

ISSN 0201-8489

Физиологический журнал

ТОМ 36 № 5 1990

5'90

Физиологический журнал

Научно-теоретический

Выходит 1 раз в

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Ф. Н. СЕРКОВ
(главный редактор)
Н. В. БРАТУСЬ
Г. М. БУТЕНКО
М. Я. ВОЛОШИН
С. Д. ГРОЙСМАН
А. Г. ЗАДОРОВНИЙ
(ответственный секретарь)
Н. Н. ЗАЙКО
П. Г. КОСТЮК
В. Ф. САГАЧ
(зам. главного редактора)
М. М. СЕРЕДЕНКО
Н. Д. ТРОНЬКО
М. Ф. ШУБА

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Ф. Н. СЕРКОВ
В. А. БЕРЕЗОВСКИЙ
Ф. П. ВЕДЯЕВ
М. И. ГУРЕВИЧ
Б. Е. ЕСИПЕНКО
Н. В. ИЛЬЧЕВИЧ
В. Н. КАЗАКОВ
А. В. КВАСНИЦКИЙ
К. В. КОВАНОВ
А. О. НАВАКАТИКЯН
В. Н. НИКИТИН
В. С. РАЙЦЕС
Г. И. ФЕДОРОВИЧ
В. В. ФРОЛЬКИС
Г. А. ХАСАБОВ
А. И. ХОМАЗЮК

Научный редактор Ф. Н. СЕРКОВ

Ответственный секретарь редакции Г. С. СОКИРКО

Адрес редакции: 252024 Киев-24, ул. Богомольца, 4
Телефон 293-29-54

Редактор И. М. Акимова

Художественный редактор А. Н. Буртовой

Технические редакторы О. В. Дивуля, Ю. К. Бахуринская

Корректоры Л. П. Захарченко, М. Н. Кацун

Сдано в набор 28.06.90. Подп. в печ. 07.09.90. Формат 70×108/16. Бум. тип. № 1.
Выс. печ. Усл. печ. л. 11,2. Усл. кр.-отт. 11,7. Уч.-изд. л. 12,80. Тираж 925 экз.
Заказ 0-451. Цена 1 р. 40 к.

Киевская книжная типография научной книги. 252004, Киев, ул. Репина, 4.

СОДЕРЖАНИЕ

Статьи

ФРОЛЬКИС В. В. Генераторная патология

НИКИТИН В. Н. Подходы

ХОРАКОВА М., ДЕПЛ З., ...
... на увеличение продолжительности жизни

ХИРОКАВА К. Механизм инициации (пектов)

БУТЕНКО Г. М., ХАРАЗИ ...
... на эффект трансплантации

АНДРИАНОВА Л. Ф. Пролонгация кровяных клеток

КОНЕВ С. В., АКСЕНЦЕВ ...
... реорганизация синаптической функцииСАТРУСТЕГИ Д., БОГОН ...
... СЕРРАНО А. Изменения кальция и их возможное участие вАРМЕНЯН А. Р., АРАКЕЛ ...
... высвобождение ³H-норадреналина при старении. Роль N-ацетил

ФИНЧ К. Е. Перспективы исследования мозга

МАНЬКОВСКИЙ Н. Б., К ...
... механизмы развития двигательной активности

МЕЙТЕС Д. Роль нейротрофических факторов

ВЕРХРАТСКИЙ Н. С., Д ...
... кортиколиберина и кортико

РОТ Дж. Изменения деятельности

ВЕРМЮЛЕН А. Биологическое

© Институт физиологии им. А. М. Кошарова

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР

ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ им. А.А.БОГОМОЛЬЦА

Физиологический журнал

ТОМ 36 № 5 1990
СЕНТЯБРЬ-ОКТАБРЬ

Научно-теоретический журнал • Основан в январе 1955 г.

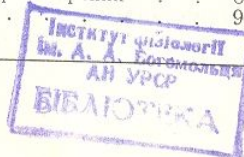
Выходит 1 раз в 2 месяца • Киев Наукова думка

СОДЕРЖАНИЕ

Статьи

- ФРОЛЬКИС В. В. Генераторные механизмы старения — основа развития возрастной патологии 3
- НИКИТИН В. Н. Подходы к экспериментальному продлению жизни 11
- ХОРАКОВА М., ДЕИЛ З., ХАУСМАН Дж., МАЦЕК К. Влияние диеты, обогащенной углеводами, и последующего ограничения количества потребляемой пищи на увеличение продолжительности жизни самцов крыс линии Фишер 344 16
- ХИРОКАВА К. Механизм инволюции тимуса (анализ внутренних и внешних аспектов) 21
- БУТЕНКО Г. М., ХАРАЗИ А. И., ПИШЕЛЬ И. Н. Влияние возраста реципиента на эффект трансплантации лимфоидных органов новорожденных доноров 27
- АНДРИАНОВА Л. Ф. Проллиферативные и дифференцировочные свойства стволовых кроветворных клеток костного мозга у мышей линии СВА различного возраста 31
- КОНЕВ С. В., АКСЕНЦЕВ С. Л., ОКУНЬ И. М., МИЛЮТИН А. А. Структурная реорганизация синаптических мембран мозга и старение 36
- САТРУСТЕГИ Д., БОГОНЕЗ Е., ВИТОРИКА Ж., БЛАНКО П., MARTINEZ-SERRANO A. Изменения кальцийтранспортных систем в синапсах мозга крыс и их возможное участие в патофизиологии старения 42
- АРМЕНЯН А. Р., АРАКЕЛЯН Л. Н., АПРИКЯН Г. В. Захват и K^+ -вызванное высвобождение 3H -норадреналина в мезодиацетальных синапсах белых крыс при старении. Роль N -ацетил- L -аспарагиновой кислоты 50
- ФИНЧ К. Е. Перспективы исследований модуляции активности генов при старении мозга 55
- МАНЬКОВСКИЙ Н. Б., КАРАБАНЬ И. Н., МЯЛОВИЦКАЯ Е. А. Центральные механизмы развития двигательных нарушений при старении человека 62
- МЕЙТЕС Д. Роль нейроэндокринной системы в старении 70
- ВЕРХРАТСКИЙ Н. С., ДИДЕНКО С. О., ХАРАЗИ Л. И. Регуляция инкреции кортиколиберина и кортикотропина в старости 76
- РОТ Дж. Изменения действия гормонов и нейромедиаторов при старении 82
- ВЕРМЮЛЕН А. Биологические проявления андропавы 90

© Институт физиологии им. А. А. Богомольца АН УССР, 1990



УДК 577.1:612.67:616—053.9

В. В. Фролькис

Генорегуляторные механизмы старения — основа развития возрастной патологии

Наиболее сложным и неблагодарным в научном творчестве является определение каких-либо понятий, ибо оно требует понимания сути предмета или явления, умения найти его существенные признаки. Есть много спорного и в определении понятия «старение». Однако большинство исследователей согласны с тем, что старение — неминуемый разрушительный процесс, ограничивающий адаптационные возможности живой системы, ее надежность, повышающий вероятность смерти. Именно такое определение раскрывает важнейшую его особенность: неизбежность развития определенных болезней, возрастной патологии. Действительно, основные неинфекционные болезни — атеросклероз, ишемическая болезнь сердца и мозга, артериальная гипертензия, рак, диабет, паркинсонизм, болезнь Альцгеймера и другие бурно прогрессируют во второй половине жизни человека, являясь главными причинами его смерти. В СССР от заболеваний сердечно-сосудистой системы в 200 раз чаще умирают мужчины в возрасте 60 лет и старше, чем в возрасте 20—30 лет, от рака — почти в 100 раз чаще. Пожилые люди в 8—10 раз чаще страдают диабетом, в 3—4 раза артериальной гипертензией. Атеросклероз, к примеру, буквально эпидемически поражает пожилых и старых людей. Так, у людей старше 50 лет фиброзные бляшки в аорте встречаются в 90—95 % случаев [3]. Все это доказывает, что существует неразрывная связь старения с болезнью, не означающая их тождества.

К старости болезни чаще возникают, накапливаются, приобретают количественные и качественные отличия и в результате снижения адаптационных возможностей организма становятся причиной его гибели. Существуют различные типы связи старения с той или иной болезнью: старение может перерасти, трансформироваться в болезнь; проявления болезни могут суммироваться с проявлениями старения; старение может создавать предпосылки для развития болезней. Вот почему ортодоксальная формула «старение — есть болезнь» упрощает, лишает смысла сложные связи между этими процессами. Ведь само старение является переплетением физиологического и патологического. Все это уже само по себе предполагает, что причины развития возрастной патологии следует искать в фундаментальных механизмах старения, формирующихся во многом под влиянием окружающей среды, образа жизни.

В соответствии с адаптационно-регуляторной теорией возрастного развития [10, 12, 19], первичные механизмы старения связаны с изменением регуляции генома, что приводит к сокращению потенциальных возможностей белоксинтезирующей системы, изменению соотношения синтеза разных белков, экспрессии ранее не функционировавших генов и появлению новых белков. Этот комплекс регуляторных изменений и приводит к возникновению возрастной патологии. Развитие этих изме-

© В. В. ФРОЛЬКИС, 1990.

нений в нервных и эндокринных клетках вызывает сдвиги нейрогуморальной регуляции, снижение надежности гомеостаза.

Сейчас существует множество подтверждений связи возрастных изменений биосинтеза белка со сдвигами регуляции генома. Общая направленность таких изменений, изученная в нашей лаборатории Мурадян, представлена на рис. 1. Обращают на себя внимание различия направленности и выраженности возрастных изменений биосинтеза белка в разных органах. Кроме того, наиболее выраженные возрастные сдвиги наступают в первую половину жизни животных (в наших опытах с 4 до 8—12 мес) и связаны с динамикой их роста. Важно, что за этими суммарными показателями валового обновления РНК и белков скрываются сложные, порой разнонаправленные сдвиги синтеза отдельных фракций РНК, индивидуальных белков, определяемые возрастными особенностями регуляции генома. Как видно на рис. 2, с

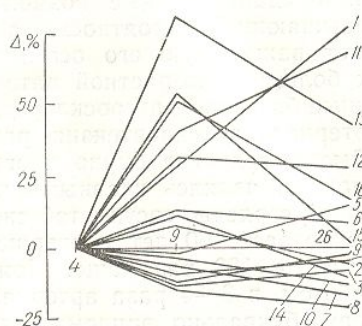
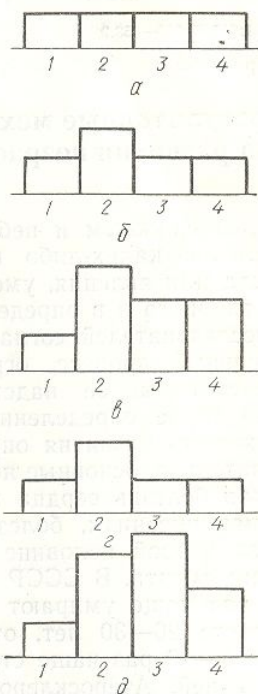


Рис. 1. Возрастные изменения интенсивности биосинтеза белка в разных органах самцов крыс линии Вистар:

1 — лобная кора, 2 — кора мозжечка, 3 — спинной мозг, 4 — продолговатый мозг, 5 — хвостатое ядро, 6 — гиппокамп, 7 — гипоталамус, 8 — гипофиз, 9 — скелетная мышца, 10 — левый желудочек миокарда, 11 — костный мозг, 12 — тестикулы, 13 — эпителий кишечника, 14 — надпочечники, 15 — почки, 16 — печень.

Рис. 2. Соотношение удельной радиоактивности прерибосомальной (1), смеси прерибосомальной и преинформационной (2), преинформационной (3) и гетерогенной ядерной (4) РНК в печени новорожденных (а), 1-месячных (б), 8-10-месячных (в), 24-28-месячных (г) и 38-месячных (д) самцов крыс линии Вистар. За условную единицу принята удельная радиоактивность прерибосомальной РНК в каждой возрастной группе.



возрастом изменяется синтез различных классов РНК — прерибосомальной, смеси прерибосомальной и преинформационной РНК, преинформационной РНК и гетерогенной ядерной. С возрастом изменяется также соотношение специфических форм РНК внутри одного класса, например транспортных РНК. Уменьшается число разновидностей вновь синтезированной РНК. Показано неравномерное изменение синтеза различных мРНК, кодирующих различные индивидуальные белки [18, 27].

В результате генорегуляторных сдвигов возникают неравномерные изменения синтеза отдельных ферментов, изоформ ферментов, рецепторов, сократительных белков. Так, например, в миокарде при старении изменяется соотношение Н- и М-типов субъединиц лактатдегидрогеназы, кодируемых различными генами [2]. Содержание Н-типа субъединиц увеличивается от $61,6\% \pm 1,6\%$ до $70,3\% \pm 1,7\%$. М-типа — уменьшается от $38,4\% \pm 1,6\%$ до $29,7\% \pm 1,6\%$. В миокарде старых животных изменяется соотношение изоформ миозина — увеличивается V_3 -форма и уменьшается V_1 [20]. Это приводит к тому, что в сердце

старых крыс снижается Ca^{2+} -ная она составляет $1,2 \pm 0,01$, белка $\pm 0,02$ мкмоль $P_n \cdot \text{мин}^{-1}$ ная активность. При старении синтеза различных классов а форм цитохрома P-450 и дру происходит переключение синтеза гена I типа. В исследованиях, что при их старении изменяются одни белки (молекулярной массы ранее не синтезировавшиеся).

Генорегуляторные сдвиги разных типов и они неоднородные: одни направлены на изменение витальности и направлены на изменение витальности клеток; другие, нарушая процесс старения в болезни, определяется полигенными процессами, связь эта в большей степени активности, в других — с

Заслуживает особого внимания распространенных массовых заболеваний атеросклероза важнейшее изменение соотношения различных (липопротеиды низкой и очень низкой плотности) и антиатеросклеротической — ЛПВП). Последние удаляются из кровотока захватом ЛПНП клеткой, старением. Соотношение различных классов липидов белковой их части — сдвиг синтеза различных апопротеидов, атеросклероз — это увеличение соотношения СЛП к содержанию аполипопротеидов, активация экспрессии генов, активация соотношения белков в исследованиях, в ЛПВП₂ соотношению к общему количеству апопротеинов АIV — $8,0\% \pm 0,2\%$. В ЛПВП₂ крови взрослых белков составляет $36,4\% \pm 4,1\%$ и $15,1\% \pm 1,3\%$ лютаторных сдвигов в старости связи с этим изменяются процессы, может вызывать генетическую патологию. С возрастом из-за генорегуляции изменяется, очевидно, не только витальность атеросклероза имеет значение и дисаполипопротеинемия — теидов.

О связи развития дислипидемии, кодирующих различные белки, нами совместно с Б. Г. Влияния оливомицина — блокатора транскрипции генной информации — на развитие атеросклероза. Продолжительность жизни (0,25 г/кг) при сдвиге в крови (рис. 3). О с 20-суточным перерывом).

Нами показано, что уровень холестерина в аорте, мозгу, печени

старых крыс снижается Ca^{2+} -АТФазная активность миозина (у взрослых она составляет $1,2 \pm 0,01$, а у старых — $0,68$ мкмоль $\text{P}_n \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ белка $\pm 0,02$ мкмоль $\text{P}_n \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ белка) и не изменяется K^{+} -АТФазная активность. При старении изменяется соотношение интенсивности синтеза различных классов альбуминов и глобулинов, различных изоформ цитохрома Р-450 и других белков. В коже и аорте с возрастом происходит переключение синтеза коллагена III типа на синтез коллагена I типа. В исследованиях, проведенных на фибробластах, показано, что при их старении изменяется профиль белков, исчезают из клетки одни белки (молекулярной массой до 80—87 кД) и появляются другие, ранее не синтезировавшиеся (молекулярной массой 57 кД) [17].

Генорегуляторные сдвиги происходят с возрастом в клетках самых разных типов и они неоднозначны для клетки. Одни из них — проявление витаукта и направлены на сохранение адаптационных возможностей клеток; другие, нарушая функцию клеток, способствуют перерастанию старения в болезни. Чаще всего связь старения и болезней определяется полигенными регуляторными изменениями, но, в одних случаях, связь эта в большей мере обусловлена стимуляцией генетической активности, в других — ее подавлением.

Заслуживает особого внимания связь старения с одной из наиболее распространенных массовых патологий — атеросклерозом. В развитии атеросклероза важнейшее значение имеют дислиппротеидемии — изменение соотношения различных классов липопротеидов: атерогенных (липопротеиды низкой и очень низкой плотности — ЛПНП и ЛПОНП соответственно) и антиатерогенных (липопротеиды высокой плотности — ЛПВП). Последние удаляют холестерин из клетки, влияют на захват ЛПНП клеткой, стабилизируют частицы ЛПНП и т. д. [1]. Соотношение различных классов липопротеидов обуславливается синтезом белковой их части — апопротеинов. Наступающий с возрастом сдвиг синтеза различных апопротеинов способствует развитию дислиппротеидемии, атеросклероза. Действительно, показано, что с возрастом увеличивается отношение содержания в крови аполиппротеинов СII к содержанию аполиппротеинов СИ [25]. Это перераспределение экспрессии генов, активация одних из них, приводит в итоге к изменению соотношения белков в субфракциях. Так, по результатам наших исследований, в ЛПВП₂ крови взрослых крыс апопротеины AI по отношению к общему количеству белка составляют $58,0 \% \pm 3,0 \%$, а апопротеины AIV — $8,0 \% \pm 0,6 \%$, в ЛПВП₂ крови старых крыс апопротеины AI составляют $20,0 \% \pm 2,2 \%$, апопротеины AIV — $30,0 \% \pm 2,2 \%$. В ЛПВП₃ крови взрослых крыс относительное количество этих белков составляет $36,4 \% \pm 4,9 \%$ и $14,0 \% \pm 1,2 \%$, а в ЛПВП₃ старых — $14,1 \% \pm 1,2 \%$ и $15,1 \% \pm 1,3 \%$. Таким образом, в результате генорегуляторных сдвигов в старости изменяется белковый спектр ЛПВП и в связи с этим изменяются их антиатерогенные свойства. Холестерин может вызывать генетическую индукцию синтеза апопротеинов [9, 14]. С возрастом из-за генорегуляторных сдвигов этот индуктивный ответ изменяется, очевидно, не только количественно, но и качественно. В развитии атеросклероза имеет значение не только дислиппротеидемия, но и дисаполиппротеинемия — изменение белковой структуры липопротеидов.

О связи развития дислиппротеидемии с изменением регуляции генов, кодирующих различные апопротеины, свидетельствуют полученные нами совместно с Богацкой и Новиковой результаты изучения влияния оливомицина — блокатора транскрипции, первого этапа реализации генной информации в клетке, — на развитие экспериментального атеросклероза. Продолжительное (4 мес) скармливание кроликам холестерина ($0,25$ г/кг) приводит к дислиппротеидемии, атерогенным сдвигам в крови (рис. 3). Оливомицин (введение $50,0$ мкг/кг по 10 сут с 20-суточным перерывом) предупреждает развитие этих сдвигов.

Нами показано, что оливомицин предупреждает накопление холестерина в аорте, мозгу, печени. Подобный эффект (рис. 4) вызывает

и другой блокатор транскрипции — адриабластин (0,4 мг/кг по 5 сут с 3-суточными перерывами). Известно, что при однократной нагрузке холестерином в крови возникают сдвиги соотношения различных классов липопротеидов, более выраженные, как это было нами показано, у старых кроликов. Предварительное введение стрептомицина, блокирующего активность РНК-полимераз в кишечнике и печени, снимает эту пищевую гиперхолестеринемию. Итак, воздействуя на регуляцию синтеза апопротеинов, можно повлиять на развитие гиперхолестеринемии, дислипидотемий.

Сокращение надежности, адаптационных возможностей сердечно-сосудистой системы при старении способствует тому, что у пожилых

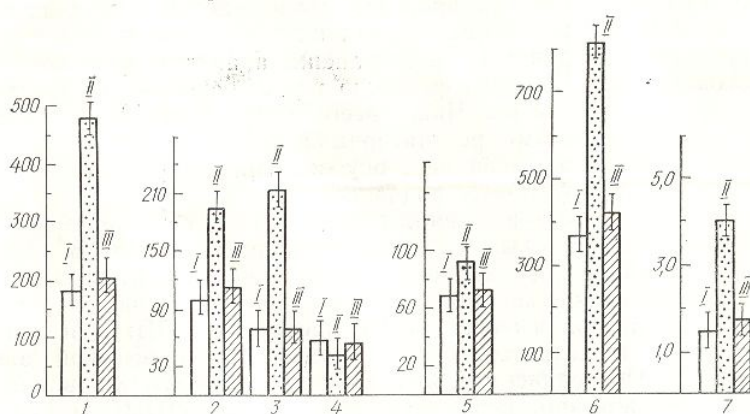


Рис. 3. Влияние оливомицина на содержание липидов в крови кроликов с экспериментальным атеросклерозом:

I — контроль, II — нагрузка холестерином, III — нагрузка холестерином на фоне введения оливомицина (I — общий холестерин, мг/дл; 2 — холестерин липопротеидов низкой плотности, мг/дл; 3 — холестерин липопротеидов очень низкой плотности, мг/дл; 4 — холестерин липопротеидов высокой плотности, мг/дл; 5 — триглицериды, мг/дл; 6 — неэтерифицированные жирные кислоты, ммоль/л; 7 — апо-В-содержащие липопротеиды, г/л).

и старых людей различные патологические процессы часто приводят к развитию сердечной недостаточности. Экспериментально показано, что коарктация аорты, приводящая у взрослых животных к гиперфункции миокарда, у старых (в 40 % случаев) заканчивается сердечной недостаточностью и гибелью животных [13]. У старых крыс развивается и остается нестойкой стадия компенсаторной гиперфункции. К подобному нарушению функции миокарда у старых крыс самое непосредственное отношение имеют сдвиги энергетических процессов [13]. Однако основой всей цепи изменений являются нарушения регуляции генома, потенциальных возможностей биосинтеза белка. Известно, что возникающие при гиперфункции миокарда сдвиги энергетики клеток, в частности, потенциала фосфорилирования в ней, появление продуктов распада клеточных структур, в частности лизосом, активируют биогенез митохондрий, биосинтез белка, способствуя лучшему пластическому обеспечению функции миокарда [7]. При коарктации аорты у старых животных возникают такие же сдвиги, однако регуляторные изменения в ней не сопровождаются адекватными активацией биогенеза митохондрий и усилением биосинтеза белка, что ограничивает возможность пластического обеспечения функции аорты [8, 13].

К возрастной патологии, связанной с экспрессией определенных генов, относится рак. От рака в возрасте 20—29 лет умирает 12 мужчин на 100 тыс, а в возрасте 60 лет — 963. Казалось бы, многие проявления старения и рака противоположны друг другу: при старении снижаются митотическая активность клеток, интенсивность биосинтеза белка, активность ряда его ключевых ферментов; при злокачественном перерождении клеток они приобретают способность к неограниченному делению, росту, резко активизируется синтез многих белков и т. д.

И вместе с тем, эти два торными изменениями, на ствуют активации генов, ки белки, и латентных он быть возрастными изменениями иммунной системы [4]. Сний ДНК, нарушение ее развитии рака.

За последние несколько подтверждение [28]

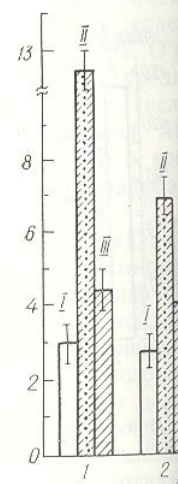


Рис. 4. Влияние адриабластина на содержание холестерина в аорте (3) кроликов при экспериментальном атеросклерозе: I — контроль, II — нагрузка холестерином, III — нагрузка холестерином на фоне введения адриабластина (а — общий холестерин, мг).

который был клонирован, кодирует белок молекулярной массы 100 кДа. Этот белок выполняет функции контроля и регуляции действия генов-супрессоров, действия онкогенов, их активности. Этот белок может изменяться под действием регуляторов активности онкогенов.

В формировании онкогенности плазматической мембраны участвуют низкий мембранный потенциал, низкая биосинтеза белка и поляризация мембраны при активации цитоплазматической обратной связи мембраны. Мембрана во многом определяет факторы, которые определяют мембранно-геномные связи клетки.

С генорегуляторной точки зрения развитие болезни связано с активацией гена, кодирующего белок. Регуляторная экспрессия гена способствует возникновению сенсорики. Сенсорное значение имеют митохондрии, ядра Мейнберга, хроматин, медиаторные системы.

И вместе с тем, эти два процесса связаны между собой генорегуляторными изменениями, наступающими при старении, которые способствуют активации генов, кодирующих специфические для раковой клетки белки, и латентных онковирусов. Промоторами этих сдвигов могут быть возрастные изменения нейрогормональной регуляции, нарушения иммунной системы [4]. Следует учесть и роль структурных повреждений ДНК, нарушение ее репаративной способности при старении и развитии рака.

За последние несколько лет при изучении ретинобластом получило подтверждение [28] положение о существовании гена-супрессора,

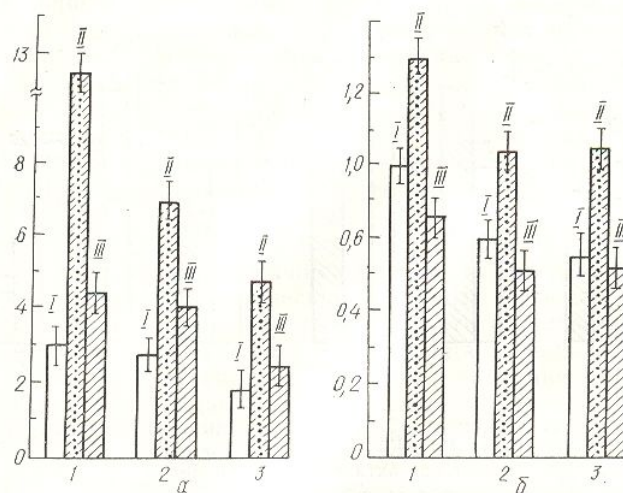


Рис. 4. Влияние адрекластинна на содержание липидов в печени (1), сердце (2) и аорте (3) кроликов при экспериментальном атеросклерозе:

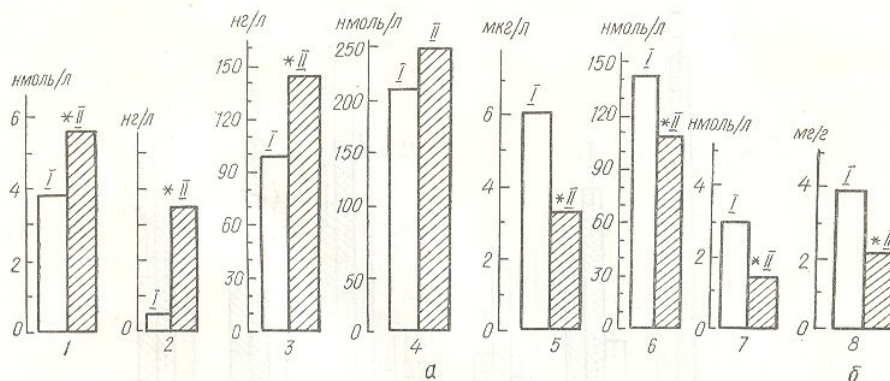
I — контроль, II — нагрузка холестерином, III — нагрузка холестерином на фоне введения адрекластинна (а — общий холестерин, мг/г; б — апо-В-содержащие липопротеиды, мг/г).

который был клонирован и картирован на хромосоме 13 д 14. Он кодирует белок молекулярной массой 105 кД, выполняющий регуляторные функции контроля клеточной пролиферации. Поскольку механизм действия генов-супрессоров диаметрально противоположен механизму действия онкогенов, их называют антионкогенами. При старении может изменяться этот регуляторный механизм, способствуя проявлению активности онкогенов.

В формировании опухоли большое значение придается изменению состояния плазматической мембраны. Опухолевые клетки характеризуются низким мембранным потенциалом на фоне высокой интенсивности биосинтеза белка. Существует связь между активацией биосинтеза белка и поляризацией клеточной мембраны. Показано, что развивающаяся при активации биосинтеза белка гиперполяризация по принципу обратной связи может подавить биосинтез белка [9, 12]. Эта связь во многом определяется синтезом специального гиперполяризующего фактора, который изменяется при старении. Нарушение этих мембрано-геномных связей играет роль в злокачественном перерождении клетки.

С генорегуляторной активацией синтеза β -амилоидного белка связано развитие болезни Альцгеймера в старости [16, 22]. Доказана локализация гена, кодирующего синтез этого белка, в 21-й хромосоме. Регуляторная экспрессия этого гена в конечном итоге способствует возникновению сенильных бляшек, скоплению амилоида и пр. Существенное значение имеют нарушения холинергических нейронов в базальных ядрах Мейнерта, хотя в патологический процесс вовлекаются и другие медиаторные системы в других отделах мозга. Как и в случае неко-

С подавлением активности определенных генетических локусов связано развитие диабета, паркинсонизма. Если диабет возникает у 7—9 % пожилых людей, то снижение толерантности к глюкозе наблюдается у 50—85 %. При старении уменьшается не только число β -клеток, но и снижается способность к синтезу инсулина каждой из них [26]. Известно, что ингибиторы биосинтеза белка (стрептозотозин) вызывают развитие экспериментального диабета. Вместе с тем, при старении у крыс и у людей с пониженной толерантностью к глюкозе содержание инсулина в крови может не уменьшаться, а увеличиваться [6], однако



Звездочкой обозначена достоверность различий.

Известна связь возраста с паркинсонизмом. Распространенность паркинсонизма среди людей старше 60 лет составляет 50 человек на 1 тыс. Основным фактором, способствующим развитию паркинсонизма, считают глубокую деструкцию дофаминергических нейронов черной субстанции, проецирующихся в стриатум, и, соответственно, резкое снижение содержания дофамина в стриатуме. Полагают, что последнее лежит в основе функционального рассогласования структур экстрапирамидной системы, результатом которого является гипокинезия, тремор, ригидность. Важно, что признаки экстрапирамидной недостаточности имеются у пожилых и старых людей, не страдающих паркинсонизмом. Более того, как показано в нашей лаборатории Рушкевичем, они регистрируются у старых крыс, у которых легче воспроизводится и резерпиновая модель паркинсонизма. При старении в результате изменений регулирования генома снижается синтез ключевых ферментов обмена дофамина — тирозингидроксилазы, дофаминдекарбоксилазы, D₁- и D₂-рецепторов, ослабляется обратный захват дофамина [23, 24]. Дофаминовая недостаточность усугубляется еще и тем, что активируется моноаминоксидаза В [15]. Возрастные изменения регуляции синтеза этих ферментов, рецепторов приводят в последующем к целой цепи нейрохимических нарушений структур экстрапирамидной системы. Использование ингибиторов биосинтеза белка совместно с резерпином усугубляет течение экспериментального паркинсонизма.

8

Для пожилого и старческого возраста характерна патология, которая развивается под влиянием возрастных сдвигов; в частности, в клетках различных уровней патологии, о том, что атеросклероз, гипертония, паркинсонизм, диабетическая болезнь сердца, механизмы старения с необходимостью поиска средств их профилактики.

ровающих генов, в четвертых, — полигенные изменения определяют генорегуляторные механизмы развития патологии. Возникая в нервных эндокринных, иммунокомпетентных клетках генорегуляторные изменения приводят к нарушению их функций, вызывающему сдвиги нейрогуморальной регуляции, иммунитета, что создает предпосылки для развития возрастной патологии.

Некоторые исследователи [4, 5] подчеркивают сходство проявлений старения и стресса. Комплекс изменений нейрогуморальной регуляции на определенном этапе старения сходен с нарушениями, возникающими обычно при стрессе. Он был нами определен как стресс-возраст-синдром. На рис. 5 видно, что при этом в крови старых животных увеличивается концентрация АКТГ, кортикостерона, адреналина, вазопрессина; снижаются содержание ТТГ, тироксина, тестостерона и инсулиновая активность. О развитии при старении стресс-возраст-синдрома свидетельствует увеличение в 1,5—2 раза предложенного нами коэффициента стресса, числитель которого представлен концентрацией в крови катехоламинов, АКТГ, кортизола, вазопрессина, а знаменатель — концентрацией в крови антистрессовых нейропептидов (β -эндорфина, мет-, лей-энкефалинов), ТТГ, тироксина, половых стероидных гормонов.

Стресс-возраст-синдром проявляется не только в эндокринных нарушениях, но и некоторых изменениях органов и клеток (иммунодепрессии, атрофии тимико-лимфатической системы, свободно-радикальном повреждении тканей, снижении толерантности к углеводам, некрозах, изменении реактивности и др.). Одни нейрогормональные нарушения при стресс-возраст-синдроме имеют адаптивное значение, другие — способствуют дезадаптации, развитию возрастной патологии.

Развитие стресс-возраст-синдрома во многом определяется разнонаправленными изменениями функции отдельных структур лимбической системы и гипоталамуса, в основе которых лежат неодинаковые сдвиги биосинтеза белка в них [21]. В этом проявляется взаимозависимость двух основных механизмов старения — генорегуляторного и нейрогуморального. Изменения генорегуляторного механизма приводят к нейрогуморальным нарушениям, изменения нейрогуморального механизма — к генорегуляторным нарушениям в клетках-мишенях.

При анализе связи старения и болезней всегда возникал вопрос о причинах, определяющих появление той или иной возрастной патологии. Почему одни пожилые люди страдают диабетом, другие раком, третьи паркинсонизмом и т. д.? Старение — процесс гетерохронный, гетеротропный, гетерокатефтный, поэтому наряду с общностью фундаментальных механизмов старения существуют популяционные и индивидуальные отличия, существуют синдромы старения [10, 19]. Эти синдромы могут отличаться темпом развития процесса (синдром ускоренного, преждевременного и замедленного старения), выраженностью изменений со стороны той или иной системы — нервной, сердечно-сосудистой и др. Существует связь между характером синдрома старения и возможностью последующего развития возрастной патологии. Развитие этих синдромов во многом определяется индивидуальным почерком генорегуляторных изменений.

Для пожилого и старческого возрастов характерна полиморбидность патологии, которая определяется, во-первых, полигенными регуляторными сдвигами; во-вторых, возможностью одновременных изменений, в клетках различного типа; в-третьих, неизбежной связью различных уровней патологических процессов друг с другом. Речь идет о том, что атеросклероз способствует развитию артериальной гипертензии, паркинсонизма, диабета, а диабет — развитию атеросклероза, ишемической болезни сердца и др. Признание связи генорегуляторных механизмов старения с механизмами развития болезней обосновывает необходимость поиска средств, замедляющих темп старения и тем са-

мым предупреждающих, отодвигающих сроки развития возрастной патологии.

Перспективно направление, которое мы определили как генорегуляторную терапию,— разработка средств, избирательно активирующих или подавляющих определенные группы генов. Представленные в статье результаты о профилактическом влиянии ингибиторов биосинтеза белка при экспериментальном атеросклерозе являются примером генорегуляторной терапии. Для ее развития необходимо, во-первых, знать «топографию» генорегуляторных сдвигов при старении и возрастной патологии; во-вторых, обладать арсеналом веществ, действующих по точному генетическому «адресу». Отличие генной терапии от генорегуляторной состоит в том, что при первой речь идет об имплантации генов и в связи с этим синтезе определенных белков, при второй изменение синтеза белков достигается в результате действия на регуляторные механизмы кодирующих их генов.

V. V. Frolkis

GENE REGULATORY MECHANISMS OF AGING AS THE BASIS OF THE AGE PATHOLOGY DEVELOPMENT

The development of age pathology has been studied in relation to changes occurring in the activity of various genes and in the synthesis of various proteins as well as in relation to the topography of those changes. The relationship between age-related changes in the activity of various genes and the onset of atherosclerosis, cancer, diabetes, Parkinson's disease and Alzheimer's disease has been studied. The appearance of gene regulatory age-related changes in cells of the nervous, endocrine and immune systems determines their involvement in the age pathology development. The prospects of gene regulatory therapy aimed at selective activation and suppression of various gene groups are outlined.

Institute of Gerontology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алберс Д., Ченг М. С. Распределение липопротеидных частиц высокой плотности // Липопротеиды высокой плотности и атеросклероз / Под ред. А. Климова и Р. Леви.— М.: Медицина.— С. 37—51.
2. Бозацкая Л. Н., Литошенко А. Я. Активность и изоферментный спектр лактатдегидрогеназы в тканях крыс разного возраста // Вопр. мед. химии.— 1975.— 21, № 4—С. 390—396.
3. Вихерт А. М. Атеросклероз // Руководство по кардиологии.— М.: Медицина, 1982.— Т. 1.— С. 417.
4. Дильман В. М. Эндокринологическая онкология.— Л.: Медицина, 1983.— 408 с.
5. Згурский А. А. Эндогенная стрессовая реакция как возможный механизм старения // Докл. АН СССР.— 1981.— 261.— С. 233—235.
6. Кульчицкий О. К., Орлов П. А. Толерантность к углеводам и функциональная активность инсулярного аппарата при старении.— Инсулиновая обеспеченность организма в старости.— Киев: Ин-т. геронтол. АМН СССР, 1977.— С. 34—45.
7. Меерсон Ф. З. Гиперфункция, гипертрофия и недостаточность сердца.— М.: Медицина, 1968.— 388 с.
8. Меерсон Ф. З., Явич М. П., Лерман М. М. Метаболизм РНК и белка в миокарде при старении и длительной гиперфункции // Вопр. мед. химии.— 1976.— 22, № 6.— С. 753—758.
9. Репин В. С. Современные молекулярно-клеточные основы липопротеидной теории атеросклероза.— М.: Наука, 1987.— 67 с.
10. Фролькис В. В. Регулирование, приспособление и старение.— Л.: Наука, 1970.— 415 с.
11. Фролькис В. В. Об образовании гиперполяризующего фактора в процессе биосинтеза белка // Физиол. журн.— 1980.— 26, № 4.— С. 38—42.
12. Фролькис В. В. Старение. Нейрогуморальные механизмы.— Киев: Наук. думка, 1981.— 320 с.
13. Фролькис В. В., Безруков В. В., Шевчук В. Г. Кровообращение и старение.— Л.: Наука, 1984.— 210 с.
14. Экспериментальный атеросклероз и возраст / Под ред. Н. Н. Горева.— М.: Медицина, 1972.— 204 с.

15. Arai J., Kinemuchi H. Difference in tumor and forebrain of aged rats // P. 99—105.
16. Barnes D. Defect in Alz N 4791.— P. 846—847.
17. Ching G., Wang E. Absence of irreversible arrest of cell growth // P. 151—155.
18. Crew M., Spindler S., Walfo mone and prolactin gene et pr 121, N 4.— P. 1251—1255.
19. Frolkis V. V. Aging and lif Verlag, 1982.— 380 p.
20. Frolkis V. V., Frolkis R. A., A sport system of myocardium in
21. Gyuffrida S., Lajtha A. Macr ology.— 1987.— 33.— P. 136—1
22. Heggins G., Lewis D., Bahm mRNA expression within hip se // Proc. Nat. Acad. Sci. US
23. Hyttel J. Parallel decrease in of rats from 3 to 25 mo P. 55—57.
24. Morgan D., Marcusson J., I neostriatum during aging: N 9.— P. 683.
25. Richter V., Rasson F., Klein VOM Lebensalter // Z. ges. in
26. Tanaka R., Matsujama T., Sa in rat // Abstracts of the Cong
27. Sghachfer P., Shani J. Vaso to aging rats // Neuroendocrin
28. Weinberg R. Finding the ant

Ин-т геронтологии АМН СССР
Киев

УДК 591.1.15

В. Н. Никитин

Подходы к эксперимен

Продление жизни человек и физических сил — глав же представляется особен биологической теории про

1. Достижение современной такого уровня развития «прочности» экспериментал в виду, что, несмотря н многие процессы, происхо жулярном уровнях, пока сомнению, что наука долж нов лет «пригнанные» и т жестве поколений отноше обходимость найти адекват веческий организм требуе биологической науки.

2. Создание «возраст ческих, биохимических и с ных не только для постро рения познаний в клиниче

© В. Н. НИКИТИН, 1990

Физиол. журн., 1990, т. 36, № 5

15. Arai J., Kinemuchi H. Differences between monoamine oxidase concentration in striatum and forebrain of aged and young rats // J. Neurol. Transm.—1988.— 72.— P. 99—105.
16. Barnes D. Defect in Alzheimer's on chromosome 21 // Science.— 1987.— 235, N 4791.— P. 846—847.
17. Ching G., Wang E. Absence of three secreted proteins of a 57 kDa protein related to irreversible arrest of cell growth // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1988.— 85, N 1.— P. 151—155.
18. Crew M., Spindler S., Walford R., Koizumi A. Age-related decrease of growth hormone and prolactin gene expression in the mouse pituitary // Endocrinology.— 1987.— 121, N 4.— P. 1251—1255.
19. Frolkis V. V. Aging and life-prolonging processes.— Wien—New York: Springer—Verlag, 1982.— 380 p.
20. Frolkis V. V., Frolkis R. A., Mkhitarian L. S. et al. Contractile function of Ca^{++} transport system of myocardium in aging // Gerontology.— 1988.— 34, N 1—2.— P. 64—74.
21. Gyuffrida S., Lajtha A. Macromolecular turnover in brain during aging // Gerontology.— 1987.— 33.— P. 136—148.
22. Heggins G., Lewis D., Bahmangar S. Differential regulation of amyloid-beta-protein mRNA expression within hippocampal neuronal subpopulation in Alzheimer's disease // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1988.— 85, N 4.— P. 1297—1301.
23. Hyttel J. Parallel decrease in the density of dopamine D_2 receptors in corpus striatum of rats from 3 to 25 months of age // Pharmacol. and Toxicol.— 1989.— 64.— P. 55—57.
24. Morgan D., Marcusson J., Winblad B. Dopaminergic binding sites in the human neostriatum during aging: D_2 sites decrease // Amer. Geriatr. Soc.— 1986.— 34, N 9.— P. 683.
25. Richter V., Rasson F., Klein C., Rotzsch W. Lipoprotein stoffwechsel in Althangigkeit vom Lebensalter // Z. ges. inn. Med.— 1986.— 41.— 36 S.
26. Tanaka R., Matsujama T., Sawazaki B. Influence of pancreatic A and B cells function in rat // Abstracts of the Congr. of Gerontology.— Japan, 1978.— P. 11.
27. Sghachjer P., Shani J. Vasoactive intestinal peptide gene expression from embryos to aging rats // Neuroendocrinology.— 1987.— 47, N 1.— P. 27—31.
28. Weinberg R. Finding the anti-oncogene // Sci. Amer.— 1988.— 259, N 3.— P. 34—41.

Ин-т геронтологии АМН СССР
Киев

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

УДК 591.1.15

В. Н. НИКИТИН

Подходы к экспериментальному продлению жизни

Продление жизни человека, максимальное сохранение его умственных и физических сил — главная задача современной геронтологии. Что же представляется особенно важным для создания действенной медико-биологической теории продления жизни?

1. Достижение современными физиологией, биохимией и биофизикой такого уровня развития, который обеспечил бы надежным «запасом прочности» экспериментальную геронтологию. При этом следует иметь в виду, что, несмотря на успехи современных биологических наук, многие процессы, происходящие на организменном, клеточном и молекулярном уровнях, пока еще изучены недостаточно. Не подлежит сомнению, что наука должна вмешаться в природные, за сотни миллионов лет «пригнанные» и тщательно выверенные на бесчисленном множестве поколений отношения, сложившиеся в системе организма. Необходимость найти адекватные природе методы воздействия на человеческий организм требует повышения мощности и «чувствительности» биологической науки.

2. Создание «возрастных стандартов» физиологических, биофизических, биохимических и функциональных показателей организма, важных не только для построения фундамента онтогенеза, но и для расширения познаний в клинической медицине. Необходимо значительно обо-

© В. Н. НИКИТИН, 1990

раст-
и ме-
неза-
орий
убе-
ных
бую.

рабо-
на
кого,
Они
живот-
нода
о их
дное
ова-
дер-
мо-

тоит
зни-
при-
мах,
сках
и
оно-
пря-
тод-
зает

обы-
за-
ед-
ни-
ния,
ния
про-
ра,
ок-
не»
та-
ук-
был

нь-
по-
зни-
ре,
ис-
ний
а у
ых
со-
сти
ва-
ри-
ро-
ых
нь-

и 5

Физиол. журн., 1990, т. 36, № 5

13

щие размеры органов у первых определялись специфическим межтка-
невым сдерживанием деления клеток.

Больше всего изменялась эндокринная система организма. В ней происходили сдвиги, характерные для «мягкого» продолжительного стресса, со своеобразными отклонениями. Для эндокринной формулы организма с пролонгированной жизнью характерно значительное повышение активности гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, в меньшей мере — инсулярного аппарата поджелудочной железы. Установлено резкое снижение инкреции щитовидной железы и синтеза ТТГ в аденогипофизе и Т-либерина в гипоталамусе в первые месяцы опыта. В поздний период онтогенеза у подопытных животных активность щитовидной железы и регулирующих ее активность тропных гормонов постепенно восстанавливается. В целом, изменения организма подопытных животных происходят в направлениях собственно «сдерживания» возрастных изменений и специфической адаптации. Исследование (возможно, более полное) всех изменений, происходящих в нейроэндокринной системе организма, и изучение нарушений метаболизма подопытных животных могут стать основой для разработки «мягкого» метода продления жизни, сводящегося к периодическим дням «разгрузки» в режиме питания человека и нейроэндокринным воздействиям.

Остановимся на других методах продления жизни лабораторных животных. Среди них прежде всего следует упомянуть метод предохранения геномного аппарата клетки и всех ее молекул от повреждающего действия свободных радикалов [13, 17]. Как известно, последние играют огромную роль при поражающем действии радиации, сопровождаются обменными реакциями организма, особенно при неполноценном окислении жиров. Одним из естественных веществ-антиоксидантов, нейтрализующих повреждающее влияние свободных радикалов, является витамин Е. В СССР [12, 13], США [17] в этом направлении проводились и проводятся интенсивные исследования. Они неоднозначны по результатам. Так, Harman [17] установил, что с возрастом не увеличивается накопление свободных радикалов в тканях (аналогичные данные получены в лабораториях Эмануэля). Продлить жизнь удалось только тем животным, у которых она была заведомо укорочена неблагоприятными условиями содержания. Существенно продлить жизнь некоторыми геропротекторами при вполне хороших условиях содержания подопытных мышей Harman [17] не удалось. В опытах Эмануэля [13] при использовании «щадящих» геропротекторов жизнь подопытных мышей (самцов) продлевалась от 12,8 (при использовании вещества, препятствующего образованию свободных радикалов, — 2-меркаптоэтиламина) до 44,6 % (при использовании 2,6-дигербутил-4-метилфенола — ионола). На 34 % продолжительность жизни подопытных мышей увеличивал водорастворимый малотоксичный антиоксидант 2-этил-6-метил-3-оксипиридин [9, 12]. Введение в рацион антиоксиданта этоксихина (саптохина) также продлевало жизнь мышей [15]. Антиоксиданты α -токоферол и α -токоферилхинон увеличивали продолжительность жизни микроскопических многоклеточных червей — нематод [16]. Результаты этих исследований пока нельзя переносить в практику геронтологии человека, их следует всесторонне проверить, уделив особое внимание возможным патологическим нарушениям, возникающим при длительном применении антиоксидантов.

Группа исследователей Института геронтологии АМН СССР под руководством Фролькиса применяла систематическое введение в организм подопытных животных (белых крыс) ингибитора синтеза белков — оливомицина [11]. Такие инъекции, по предположению авторов, должны были предохранять от преждевременного «снашивания» геном и белоксинтезирующий аппарат клеток. В период поздней зрелости (у 20-месячных крыс) препарат увеличивал среднюю продолжительность жизни на 42,8 %, а максимальную — на 47,8 %. По утверждению Фролькиса [11], «чрезвычайно важно, что оливомицин влиял на темп возрастных изменений». Об этом свидетельствует тот факт, что

«типичные признаки метаболических и структурных проявлений старения возникали у подопытных крыс на 5—6 мес позже, а выраженность их была значительно слабее, чем у интактных животных того же возраста» [11]. Общее заключение из исследований Фролькиса и его исследовательской группы представлено в следующем его высказывании: «Таким образом, ингибиторы биосинтеза белка замедляют темп старения многих метаболических и структурных изменений, увеличивают продолжительность жизни, предупреждают грубые нарушения метаболизма липидов при экспериментальном атеросклерозе. Очевидно, действие оливомидина во многом опосредовано через подавление активности генетического аппарата, сдвиги в метаболических путях обмена липидов» [11].

Бердышев [1] для восстановления репарационной способности генома клетки предлагает с помощью липосом вводить в организм ферменты, стимулирующие репарацию, или гены, кодирующие эти ферменты. К таким специфическим стимуляторам активности репарации он относит этидиумбромид, хлористый магний, интерферон и другие вещества. Исходя из установленного Бердышевым и Ванюшиным [3] снижения метилированности ДНК в старости, особое внимание сотрудники лаборатории Бердышева обращают на поиски веществ, нормализующих метилирование ДНК в геноме клеток [1]. Пока что это предположение экспериментального подтверждения не имеет.

Bjorksten [14] выдвинул положение об увеличивающемся с возрастом «дублении» («сшивании», сцеплении) молекул белков организма с помощью микромолекул из некоторых веществ, присущих тканям и возникающих в процессе метаболизма. Особенно активные «сшиватели», по мнению Bjorksten, — хиноны, дикарбоновые кислоты цикла Кребса, ненасыщенные жирные кислоты и продукты их распада, а также ионы тяжелых металлов. Возможными путями борьбы за долголетие он считал введение в организм веществ, рвущих перекрестные связи белков, в частности, обогащение пищи белками, дающими свободные аминокислоты, которые, в свою очередь, парализуют действие «дубящих» веществ. Роль ионов тяжелых металлов в «сшивании» нуклеиновых и белковых молекул подчеркивают в своей теории старения Дубина и Леонов [5]. Экспериментальных подтверждений всех этих подходов к продлению жизни лабораторных животных, а тем более человека, пока нет.

Один из основателей современной геронтологии Мечников [19] выдвинул концепцию, по которой интоксикации, нарастающие в стареющем организме, особенно сильно поражают паренхиматозные «благородные» ткани и стимулируют разрастание соединительной ткани. На основе этого возникает «настоящая битва в самой глубине нашего организма». Придавая большое значение токсинам, возникающим при гниении белков в толстой кишке, Мечников предложил нейтрализовать гниение в пищеварительном тракте массивным потреблением продуктов брожения молока, содержащих молочную кислоту, — простоквашу и ацидофильного молока.

Богомолец [2], усматривая причину старения в борьбе тканей, исходил из противоположной Мечникову концепции о первичной дегенерации в организме физиологической системы соединительной ткани. «Я считаю, что старение организма начинается именно с соединительной ткани. Организм имеет возраст своей соединительной ткани». Учитывая это, Богомолец предложил применять для продления жизни специфическую антиретиккулярную цитотоксическую сыворотку (АЦС). Если в предложении Мечникова имеется определенная обоснованность (в пределах некоторого улучшения пищеварения и метаболизма веществ, почему применение продуктов молочнокислого брожения следует поддержать), то применение АЦС в гериатрии пока не получило достаточного подтверждения.

Борьба тканей может иметь, однако, и другое основание — нарастающее «неузнавание» тканями друг друга. Одной из причин этого

может быть искажение иммунной предпосылки (и частично экологической) организма данного вида на присущие виду белки. Старение, сопровождается депрессией образования антител на своей теории, с возрастом происходит в популяциях делящихся клеток. Это позволяет отличать присущие виду в возникновении аутоиммунного

Нарушения гормонального (морального) как ведущие факторы на уровне организации организма. Никитин [7] показал, что с выраженной гетерохронностью реагировать на гормоны, а в эндокринных железах могут не действовать половых и кортикоидов оптимальный для молодого организма. В онтогенезе изменяется ферментными тканями. В некоторых тканях восприимчивость даже повышается. Наряду с пилорической дисгармонией инкреции в пилорической железе Дильман [4] выдвинул повышения порога возбудимости в результате этого в гипоталамуса, тропных гормонов гипоталамической железы. Эта теория имеет подтверждения. В частности установить существенных возрастных порога восприятия к периферическим высшим позвоночным животным также встречается достаточно веско.

Все теории нарушений не старения имеют то рациональное, что нервной и гуморальной системных импульсов, несомненно, на онтогенез в целом. Однако развитие в своих решающих без исключения тканям животным целом: имеющим высокоразвитые не имеющим их вовсе. Поэтому иметь, хотя и очень важное, но развитию организмов, имеющим теорию геронтологии будущего теории онтогенеза. Будущая теория уровня организации протоплазматического развития организма высших

V. N. Nikitin

APPROACHES TO EXPERIMENTAL

Modern approaches to lifespan prolongation: protein-deficient diet increasing lifespan, the activity of genome, protein biosynthesis and lifespan.

A. M. Gorky State University, Ministry of Education and Secondary Special Education of the

может быть искажение иммунной реактивности организма [21]. Было предположено (и частично экспериментально доказано), что в генофонде организма данного вида репрессирован синтез иммунных тел на присущие виду белки. Старение, по одной из иммунных теорий старения, сопровождается депрессией этих локусов ДНК, что приводит к образованию антител на собственные белки. По модификации этой теории, с возрастом происходит иммуногенетическое расхождение в популяциях делящихся клеток. Это ведет к утрате антителами способности отличать присущие виду белки от чуждых ему, что проявляется в возникновении аутоиммуноподобных реакций.

Нарушения гормонального состояния организма (точнее, нейрогуморального) как ведущие факторы старения на целостно-физиологическом уровне организации протоплазмы выдвигались многими учеными. Никитин [7] показал, что в период раннего онтогенеза в тканях с выраженной гетерохронностью развивается способность адекватно реагировать на гормоны, а в период позднего онтогенеза в отдельных эндокринных железах могут наступать гипертрофия и даже инверсия действия половых и кортикостероидных гормонов. Спектр инкреции, оптимальный для молодого организма, к старости существенно угнетается. В онтогенезе изменяется и рецепция многих гормонов периферическими тканями. В частности, Фролькис [10] установил, что в некоторых тканях восприимчивость к малым дозам ряда гормонов даже повышается. Наряду с постулированием старческого ослабления или дисгармонии инкреции в подавляющем большинстве эндокринных желез Дильман [4] выдвинул концепцию о старости как синдроме повышения порога возбудимости гипоталамуса и резко увеличивающейся в результате этого в пожилом возрасте инкреции либеринов гипоталамуса, тропных гормонов гипофиза, СТГ гипофиза и инсулина поджелудочной железы. Эта теория требует существенного экспериментального подтверждения. В частности, Lasarus и Restman [18] не смогли установить существенных возрастных изменений обратной связи и порога восприятия к периферическим гормонам гипоталамуса человека у высших позвоночных животных. Теоретически концепция Дильмана также встречает достаточно веские возражения.

Все теории нарушений нейрогуморальной регуляции как основы старения имеют то рациональное зерно, что гетерохронное изменение нервной и гуморальной систем и характера восприятия нейроэндокринных импульсов, несомненно, накладывает существенный отпечаток на онтогенез в целом. Однако они не учитывают того, что возрастное развитие в своих решающих чертах и направленности присуще всем без исключения тканям животных, а также животным организмам в целом: имеющим высокоразвитые нервную и эндокринную системы и не имеющим их вовсе. Поэтому нейроэндокринные факторы могут иметь, хотя и очень важное, но лишь вторичное значение в возрастном развитии организмов, имеющих эти системы. Успехи экспериментальной геронтологии будущего требуют создания целостной, полноценной теории онтогенеза. Будущая теория онтогенеза должна учитывать все уровни организации протоплазмы и охватывать все богатство возрастного развития организма высших животных и человека.

V. N. Nikitin

APPROACHES TO EXPERIMENTAL PROLONGATION OF LIFE

Modern approaches to lifespan prolongation of laboratory animals are considered. Calorie-deficient diet increasing lifespan, leads to essential hormonal shifts, to changes in the activity of genome, protein biosynthesis. These mechanisms determine lifespan prolongation.

A. M. Gorky State University, Ministry of Higher
and Secondary Special Education of the Ukrainian SSR, Kharkov

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бердышев Г. Д. О возможности коррекции возрастных изменений генетического аппарата клеток в связи с проблемой увеличения продолжительности жизни // Геронтология и гериатрия. Продление жизни: прогнозы, механизмы, контроль.— Киев, 1979.— С. 148—156.
2. Богомолец А. А. Продление жизни.— Киев : Изд-во АН УССР, 1940.— 140 с.
3. Ванюшин Б. Ф., Бердышев Г. Д. Молекулярно-генетические механизмы старения.— М. : Медицина, 1977.— 295 с.
4. Дильман В. М. Старение, климакс и рак.— Ленинград : Медицина, 1968.— 379 с.
5. Дубина Т. Л., Леонов В. А. Металлы в организме и их роль в процессах старения // Успехи соврем. биологии.— 1968.— 66, № 3.— С. 453—459.
6. Нагорный А. В., Никитин В. Н., Буланкин И. Н. Проблема старения и долголетия.— М. : Медгиз, 1963.— 755 с.
7. Никитин В. Н. Возрастные аспекты эндокринной ситуации организма // Успехи соврем. биологии.— 1977.— 84, № 2/5.— С. 257—271.
8. Никитин В. Н., Клименко А. И., Маковоз Р. К. Биохимические и эндокринные изменения при экспериментальном продлении жизни // Там же.— 1984.— 98, № 3/6.— С. 464—479.
9. Обухова Л. К. Химические геропротекторы и проблемы увеличения продолжительности жизни // Успехи химии.— 1975.— 44, № 10.— С. 1914—1929.
10. Фролькис В. В. Анализ изменений деятельности организма при старении с позиций саморегуляции // Механизмы старения.— Киев : Госмедиздат УССР, 1963.— С. 131—150.
11. Фролькис В. В., Богацкая Л. Н., Ступина А. С. и др. Ингибиторы синтеза белка как средство увеличения продолжительности жизни в эксперименте // Геронтология и гериатрия. Продление жизни: прогнозы, механизмы, контроль.— Киев, 1979.— С. 156—163.
12. Эмануэль Н. М., Обухова Л. К., Смирнов Л. Д. и др. Эффект увеличения продолжительности жизни в эксперименте при воздействии хлоргидрата 2-этил-6-метил-3-оксипиридина // Докл. АН СССР.— 1976.— 226.— С. 961—963.
13. Эмануэль Н. М. Ингибиторы радикальных процессов (антиоксиданты) и возможности продления жизни // Геронтология и гериатрия. Продление жизни: прогнозы, механизмы, контроль.— Киев, 1979.— С. 118—127.
14. Bjorksten J. Aging present status of our chemical knowledge // Ibid.— 1962.— 10, N 2.— P. 125—139.
15. Comfort A., Yorchofary-Gore J., Pathmanathan I. Effect of ethoxyguin on the longevity of S3H mice // Nature.— 1971.— 229.— P. 254—255.
16. Epstein J., Hommelhoch S., Gershon D. Studies on aging in nematodes. // Mech. Ageing and Develop.— 1972.— 1.— P. 245—255.
17. Harman D. Free radical theory of aging: effect of free radical reaction inhibitors on the mortality rate of male LAF mice // J. Gerontol.— 1968.— 23.— P. 476—481.
18. Lasarus K., Restman C. J. Assessment of hypotalamo-pituitary function in the old age // Hypotalamus, pituitary and aging / Ed. A. V. Everitt and J. A. Burges.— Springfield : Thomas, 1976.— P. 97—102.
19. Mechnikoff I. I. Etudes sur la nature humaine.— Paris, 1903.— 405 p.
20. McCay C. M., Maynard L. A., Sperling J. et al. Retarded growth lifespan, ultimate body size and age changes in the Albino rat after diets restrictid in calories // J. Nutrit.— 1939.— 18, N 1.— P. 1—27.
21. Walford R. L. The immunological theory of aging // Gerontologia.— 1964.— 4.— P. 195—197.

Харьков. ун-т им. А. М. Горького
М-ва высш. и сред. спец. образования УССР

Материал поступил
в редакцию 17.05.90

УДК 612.396:612.394:612.68

М. Хоракова, З. Дейл, Дж. Хаусман, К. Мацек

Влияние диеты, обогащенной углеводами, и последующего ограничения количества потребляемой пищи на увеличение продолжительности жизни самцов крыс линии Фишер 344

Использование еще в тридцатых годах McCay и сотр. [15] содержания животных на калорийно недостаточных пищевых рационах до настоящего времени остается наиболее эффективным путем увеличения

© М. ХОРАКОВА, З. ДЕЙЛ, ДЖ. ХАУСМАН, К. МАЦЕК, 1990.

продолжительности жизни при ограниченном режиме питания 6 мес [14], 12 мес [20] или при потреблении пищи на 1/3 от нормы, так как исследователи разных линий. Однако в опытах Киото и Фишер 344. Поэтом при ограничении количества пищи с возраста одного года. Содержание роста на семи раз не только не оказало влияния, даже сократило ее [1].

В литературе имеется много работ по увеличению продолжительности жизни на калорийно недостаточном питании замедляет старение организма из расчета на грамм пищи. Данные Masoro и Yu [14]. Другие авторы считают, что находясь на калорийно недостаточном питании, продолжительность жизни увеличивается. Однако далеко не все [11, 20].

Остается без ответа вопрос о влиянии на продолжительность жизни. Работы на то, что можно получить увеличение медианы и десятой части жизни, если их, начиная с диеты, в составе которой содержится калоража.

Цель нашего исследования — изучить влияние на продолжительность жизни при недостаточной диете и на калорийно или различными путями

Методика

Опыты были поставлены на крысах в безпатогенных условиях в пла- (одной крысе в клетке). Условия содержания [22]. Животные получали разную диету. Состав витаминно-минеральной смеси 96 % сахарозы. При кормлении витаминно-минеральной смеси у крыс снижалась до 39,65 %. Эти изменения наблюдались на ограниченном питании, на калорийно недостаточном питании, на калорийно избыточном питании. Крысы, потребляющие пищу, были разделены на пять групп (контрольной). Получали диету А с 1,5-месячного возраста, получали диету Б в сравнении с контрольной группой. Крысы, получавшие диету Б, до 6-месячного возраста получали диету Б, а после 6 мес — диету А. В сравнении с контрольной группой. Количество пищи, потребляемой в течение недели и принимали его

Физиол. журн., 1990, т. 36,

продолжительности жизни лабораторных грызунов [21]. Перевод на ограничительный режим питания начинали с возраста 1,5 мес [23], 6 мес [14], 12 мес [20] или 18 мес [9]. Результаты влияния ограничения потребляемой пищи на продолжительность жизни трудно сопоставимы, так как исследователи при постановке опыта использовали крыс разных линий. Однако в основном в опыт брали крыс линии Вистар Киото и Фишер 344. Поэтому все же можно сделать вывод, что для получения ощутимого увеличения продолжительности жизни перевод на ограничительный пищевой режим следует начинать по крайней мере с возраста одного года. Содержание животных после прекращения периода роста на семи различных калорийно недостаточных режимах не только не оказало влияния на продолжительность жизни [7], но даже сократило ее [1].

В литературе имеется ряд предположений относительно механизмов увеличения продолжительности жизни при содержании животных на калорийно недостаточной диете: Sacher [19] полагает, что ограниченное питание замедляет старение, уменьшая интенсивность метаболизма из расчета на грамм массы тела. Правда, данные, опубликованные Masogo и Yu [14], не согласуются с этим предположением. Другие авторы считают, что удлинение периода роста у животных, находящихся на калорийно недостаточной диете, обуславливает увеличение продолжительности жизни [3], связанное с уменьшением массы жира, так как традиционно полагают, что старение сопровождается ее увеличением. Однако далеко не все авторы разделяют эту точку зрения [11, 20].

Остается без ответа также вопрос, в какой мере состав диеты оказывает влияние на продолжительность жизни. Единственная, насколько нам известно, работа Maeda и соавт. [13] обращает внимание на то, что можно получить умеренное, но вполне достоверное увеличение медианы и десятой процентиля выживаемости крыс линии Фишер 344, если их, начиная с 1,5-месячного возраста, содержать на диете, в составе которой полисахариды составляют значительную часть ее калоража.

Цель нашего исследования — выяснить, достигается ли увеличение продолжительности жизни при содержании животных на калорийно недостаточной диете и на рационе, обогащенном углеводами, одинаковыми или различными путями.

Методика

Опыты были поставлены на крысах-самцах линии Фишер 344. Животных содержали в безпатогенных условиях в пластиковых клетках с сетчатым металлическим полом (по одной крысе в клетке). Условия содержания были идентичны описанным Yu и соавт. [22]. Животные получали различные типы диет, состав которых приведен в табл. 1. Состав витаминно-минеральной смеси описан Bertrand и соавт. [3]. Она содержит более 96 % сахарозы. При кормлении животных ограниченным количеством диеты А доля витаминно-минеральной смеси увеличивалась до 11 %, при этом доля декстрина уменьшалась до 39,65 %. Эти изменения вносили с целью обеспечения животных, находящихся на ограниченном питании, таким же суточным поступлением кальция, фосфора и натрия, как и крыс, потребляющих неограниченное количество диеты А. Все крысы были подразделены на пять групп по 60 животных в каждой. Животные 1-й группы (контрольной) получали диету А без ограничений; животные 2-й группы, начиная с 1,5-месячного возраста, получали диету А с ограничением количества пищи до 60 % по сравнению с контрольной группой; животные 3-й группы, начиная с 1,5-месячного возраста, получали диету Б без ограничений; животные 4-й группы, начиная с 1,5-месячного и до 6-месячного возраста, получали диету Б, а после 6 мес — диету А без ограничений; животные 5-й группы, начиная с 1,5-месячного и до 6-месячного возраста, получали диету Б, а после 6 мес — диету А с ограничением количества пищи до 60 % по сравнению с контрольной группой.

Количество пищи, потребляемой животными контрольной группы, определяли каждую неделю и принимали его за 100 %. Ограниченный рацион давали за 1 ч до наступ-

Таблица 1. Состав диет, %

Компонент диеты	Диета А	Диета Б
Казеин	21	12,6
D,L-метионин	0,15	0,09
Сахароза	15	15
Декстрин	43,65	52,11
Растительное масло	10	10
Витаминно-минеральная смесь (Ральсон Пурина)	7	7
Холинхлорид	0,2	0,2
Солка Флок	3	3

Примечание. Объяснения, касающиеся хода эксперимента, см. в тексте после ссылки на табл. 1.

Таблица 2. Продолжительность жизни самцов крыс линии Фишер 344 (в каждой группе по 60 животных)

Группа	Медиана, сут	Десятая процентиль, сут	Максимальная продолжительность жизни, сут
1-я (контроль, диета А без ограничений)	715 (680—742)	834 (785—931)	965
2-я (ограничение диеты, начиная с 1,5 мес)	1092 (1030—1141)	1278 (1210—1241)	1301
3-я (диета Б, начиная с 1,5 мес)	835 (755—868)	875 (871—907)	983
4-я (диета Б, начиная с 1,5 до 6 мес, затем диета А без ограничений)	811 (750—864)	863 (830—896)	980
5-я (диета Б, начиная с 1,5 до 6 мес, затем диета А с ограничением)	1043 (996—1110)	1230 (1198—1267)	1324

ления периода темноты, который продолжался 12 ч. Массу тела животных регистрировали 1 раз в 2 нед.

Кривые выживания сравнивали, используя тест Вилкоксона [10]. Значения медианы и десятой процентиля продолжительности жизни сравнивали, используя квантильный тест [5].

Результаты

Результаты, приведенные в табл. 2, полностью согласуются с данными, представленными Yu и соавт. [23], по выживанию самцов крыс линии Фишер 344, содержащихся на ограниченном до 60 %, по сравнению с контрольной группой, пищевом рационе и незначительном увеличении продолжительности жизни животных, содержащихся на диете с низким количеством белка и высоким количеством декстрина. Из этих результатов следует, что увеличение выживаемости при содержании животных на этой диете происходит, если на ней содержать животных в период от 1,5 до 6 мес их жизни. Содержание на этой диете после 6 мес не приводит к дополнительному увеличению продолжительности жизни (при сравнении групп 3 и 4). Выживаемость животных, содержащихся на низкобелковой высокодекстриновой диете от 1,5 мес и до смерти, практически не отличается от выживаемости тех животных, которые после пребывания на этом рационе до 6-месячного возраста были переведены на неограниченное потребление диеты А. Если же после 6 мес крыс, получавших диету Б, перевести на ограниченное до 60 %, по сравнению с контрольной группой, потребление диеты А, то их выживаемость не будет отличаться от выживаемости животных,

Таблица 3. Прирост продолжительности пищевых режимов, по сравнению с группой (медиана 715 сут, десятая

Группа
2-я (ограничение диеты А, нач
3-я (диета Б, начиная с 1,5 ме
4-я (диета Б, начиная с 1,5 ме
5-я (диета Б, начиная с
6-я (перевод на ограниченн

всю жизнь находившихся в диете А (группы 2 и 5). Медианы и десятой процентиля продолжительности жизни, которая у этих животных, значений показателей выживаемости приведены в табл. 3, к которым Yu и соавт. [23], получен на ограниченный пищевой рацион, привлекает на себя внимание. Показатели выживаемости животных, содержащихся на диете с 1,5- до 6-меснего ограничения, суммируются парциально при сравнении с белковообогатенной (разность между группами 2 и 5) и с неограниченной (различия взяты из работы Yu и соавт. [23]).

Обсуждение

Учитывая накопленные данные о влиянии ограничения пищи на продолжительность жизни при ограничении любой из ограничительных диет, приводил к увеличению продолжительности жизни, на которой существенную роль в их формировании играют такие компоненты, как белок и декстрин. Гигиенические данные о том, что в исторических диетах, одна из которых (диета Б) увеличивала продолжительность жизни животных на диете, обогащенной белком [23]. Однако в данной работе эффект пролонгирования жизни при ограничении диеты проявляется в период от 1,5- до 6-меснего ограничения, в котором оценка периода, в котором осуществляются попытки установить механизмы, лежащие в основе ограничения роста не увеличивает продолжительность жизни животных, что существуют механизмы, на которые можно влиять.

Таблица 3. Прирост продолжительности жизни животных, содержащихся на разных пищевых режимах, по сравнению с продолжительностью жизни животных контрольной группы (медиана 715 сут, десятая процентиль 834 сут)

Группа	Медиана, сут	Десятая процентиль, сут
2-я (ограничение диеты А, начиная с 1,5 мес)	+377	+444
3-я (диета Б, начиная с 1,5 мес)	+120	+41
4-я (диета Б, начиная с 1,5 мес до 6 мес, затем диета А без ограничений)	+96	+29
5-я (диета Б, начиная с 1,5 до 6 мес, затем диета А с ограничением)	+328	+396
6-я (перевод на ограниченный пищевой рацион с 6 мес, по [23])	+240	+355

всю жизнь находившихся на ограниченном до 60 % потреблении диеты А (группы 2 и 5). Это совпадение касается не только значений медианы и десятой процентиля, но и максимальной продолжительности жизни, которая у этих двух групп практически одинакова. Прирост значений показателей выживаемости (медианы и десятой процентиля) приведены в табл. 3, которая дополнена данными, представленными $\bar{Y}_n$ и соавт. [23], полученными на животных, которые были переведены на ограниченный пищевой рацион после 6-месячного возраста. Обращает на себя внимание тот факт, что суммарный прирост значений показателей выживаемости (медианы и десятой процентиля) в группе животных, содержащихся на диете Б (низкобелковой — высокодекстриновой) с 1,5- до 6-месячного возраста и переведенных после этого на ограниченный рацион А (группа 5), представляет собой сумму парциального прироста выживаемости, вызванного переводом животных с белковообогащенного рациона на низкобелковую диету (разность между группами 1 и 4) и переводом животных в возрасте 6 мес с неограниченного потребления пищи на ограниченный рацион (различия взяты из работы $\bar{Y}_n$ и соавт. [23]).

Обсуждение

Учитывая накопленные сведения об увеличении продолжительности жизни при ограничении потребления пищи [19], не удивительно, что любой из ограничительных режимов, использованных в настоящей работе, приводил к увеличению выживаемости по медиане и десятой процентилю. Проведенные исследования также подтвердили, что состав диеты, на которой содержатся экспериментальные животные, играет существенную роль в их выживаемости (это касается, по крайней мере, таких компонентов, как белок и сахар, в частности, декстрин). Аналогичные данные о том, что при содержании животных на двух изокалорических диетах, одна из которых имеет значительно больше сахаров (%), увеличение выживаемости происходит при содержании животных на диете, обогащенной сахарами, опубликованы $\bar{Y}_n$ и соавт. [23]. Однако в данной работе нет сведений, свидетельствующих о том, что эффект пролонгирования жизни под влиянием обогащенной сахарами диеты проявляется в случае содержания животных на ней в период от 1,5- до 6-месячного возраста. Конечно, это приблизительная оценка периода, в котором проявляется данный эффект, никаких специальных попыток установить более точно границы этого периода или механизмы, лежащие в основе этого феномена, в настоящей работе не предпринималось. Несмотря на это, четко показано, что содержание животных на обогащенной углеводами диете после 6-месячного возраста не увеличивает продолжительности их жизни. Данные о том, что существуют механизмы, регулирующие интенсивность старения, на которые можно влиять в течение первого года жизни грызунов,

были опубликованы в нашем предыдущем сообщении [20]. Насколько известно, все предшествующие эксперименты были направлены на выяснение количества потребляемой пищи [1, 2, 4, 13, 17, 23] и, за исключением работы Yu и соавт. [23], не обращалось внимания на состав потребляемой пищи.

Следует отметить, что после начального периода содержания на изокалорической высокоуглеводной низкобелковой диете дальнейшее увеличение продолжительности жизни животных может быть достигнуто при переводе их в возрасте 6 мес на режим ограниченного потребления пищи (60 % количества, потребляемого животными контрольной группы). При этом прирост продолжительности жизни получается практически такой же, как и при содержании животных всю жизнь на ограниченном рационе (60 % контроля). Влияние двух режимов питания (т. е. высокоуглеводного низкобелкового и ограниченного потребления пищи) при этом суммируется. Такая аддитивность наряду с ограниченным периодом онтогенеза, в котором эффективна высокоуглеводная низкобелковая диета, указывает на существование двух разных путей старения, на которые могут оказывать влияние режимы питания. Таким образом, результаты, полученные в настоящей работе, дают положительный ответ на вопрос, поставленный в статье Yu и соавт. [23], существует ли два различных механизма увеличения продолжительности жизни, достигаемого режимом питания.

M. Horáková, Z. Deyl, J. Hausmann, K. Macek

THE EFFECT OF CARBOHYDRATE-ENRICHED DIET AND SUBSEQUENT FOOD RESTRICTION UPON LIFE PROLONGATION IN FISCHER 344 MALE RATS

Increased proportion of carbohydrates (dextrin) in the diet has a life prolonging effect upon male Fischer 344 rats; however, the effect of this diet appears only when the rats aged from 6 weeks to 6 months are on diet, after this treatment median survival of experimental animals increases by 96 days and the 10th percentile increases on the average by 10 days (n=60). Further sustainment of animals on the same diet has minimum effect: animals being on this diet throughout the whole life exhibit a median lifespan increase by 120 days and an increase in the 10th percentile by 41 days. However, if such animals aged 6 months are transferred to a restricted (60 %) food intake regimen (control diet, not enriched with carbohydrate) a further increase in median and 10th percentile lifespan prolongation can be observed reaching 328 and 396 days, respectively as compared to controls. The effects of this early feeding (from 6 weeks to 6 months) with a carbohydrate-enriched diet available ad libitum and food restricted (60 % controls) regimen fed from the age of 6 months onwards are additive, the final results being identical as if the animals are kept on the 60 % food restricted intake throughout the whole life.

Institute of Physiology, Czechoslovakian Academy of Sciences, Prague (Czechoslovakia)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Barrows C. H., Roeder L. M. The effect of reducing dietary intakes on enzymatic activities and lifespan of rats // J. Gerontol.—1965.—20.—P. 69—71.
2. Beauchenne R. E., Bales C. W., Bragy C. S. et al. Effect of age on initiation of feed restriction and growth, body composition and longevity of rats // Ibid.—1986.—41.—P. 657—670.
3. Bertrand H. A., Lynd F. T., Masoro E. J., Yu B. P. Changes in adipose mass and cellularity through life of rats fed ad libitum or a life-prolonging restricted diet // Ibid.—1980.—35.—P. 827—835.
4. Brody S. Bioenergetics and growth.—New York: Hafner Publ. Co., 1964.—630 p.
5. Conover W. J. Practical nonparametric statistics.—New York: Wiley, 1971.—271 p.
6. Davis T. A., Bales C. W., Beauchenne R. E. Differential effect of dietary caloric and protein restriction in the aging rat // Exp. Gerontol.—1983.—18.—P. 427—435.
7. Everitt A. V., Seedsman N. J., Jones F. The effects of hypoplysectomy and continuous food restriction begun at 70 and 400 days on collagen ageing, proteinuria, incidence of pathology and longevity in the male rat // Mech. Ageing and Develop.—1980.—12.—P. 161—172.

8. Goodrick C. L. Body weight incultation and dietary protein // J. Gerontol.—1983.—38.—P. 36—45.
9. Goodrick C. L., Ingram D. K., R. feeding and voluntary exercise control.—1983.—38.—P. 36—45.
10. Gross A. J., Clark V. A. Survival science.—New York: Wiley, 1971.—271 p.
11. Lester G. T., Deutsch S., Marked studies of body composition in female mice // J. Gerontol.—1971.—26.—P. 101—104.
12. Leto S., Kokkonen G., Barrows in female mice // J. Gerontol.—1971.—26.—P. 101—104.
13. Maeda H., Gleiser C. A., Maso scher — 344 rats. II. Pathology of life span and upon ultimate life span // Ibid.—1971.—101.—P. 615—620.
14. Masoro E., Yu B. P., Bertrand process // Proc. Natl Acad. Sci. 1980.—35.—P. 827—835.
15. McCay C. M., Crowell M. F., effect of life span and upon ultimate life span // Ibid.—1971.—101.—P. 615—620.
16. Nakagawa I., Masana Y. Effect of life span and upon ultimate life span // Ibid.—1971.—101.—P. 615—620.
17. Nolen G. A. Effect of various longevity in albino rats // Ibid.—1971.—101.—P. 615—620.
18. Ross M., Brass G. Influence of tumor prevalence in the rat // J. Natl Acad. Sci.—1971.—68.—P. 615—620.
19. Sacher G. A. Life table modification // Ed. by C. Finch, L. Hayflick.—1977.—P. 615—620.
20. Stuchlikova E., Juricova-Horakova life prolongation in rodents. V. tol.—1975.—10.—P. 141—144.
21. Weindrich R., Walford R. L., mice by dietary restriction: long J. Nutr.—1986.—116.—P. 641—644.
22. Yu B. P., Masoro E. J., Murale rats fed ad libitum or restricted se // J. Gerontol.—1982.—37.—P. 657—670.
23. Yu B. P., Masoro E. J., McMahon rats. I. Physical, metabolic P. 657—670.

Ин-т физиологии Чехословац. АН Прага

УДК 612.67—017.1:612.438

К. Хирокава

Механизм инволюции тимуса (анализ внутренних и внешних факторов)

Тимус играет важную роль в иммунной системе и поэтому является объектом пристального внимания исследователей. В течение жизни тимус проходит через несколько фаз: неонатальный период, период активного роста, период регресса. В период регресса тимус подвергается атрофии, что сопровождается снижением его функциональной активности. Этот процесс называется инволюцией тимуса. В настоящее время существует несколько теорий, объясняющих механизм инволюции тимуса. Одной из них является теория, согласно которой инволюция тимуса обусловлена снижением уровня гормонов, стимулирующих его рост. Другой теорией является теория, согласно которой инволюция тимуса обусловлена увеличением уровня гормонов, подавляющих его рост. В настоящей работе мы исследовали механизм инволюции тимуса на примере крыс-альбинов. Мы обнаружили, что инволюция тимуса сопровождается снижением уровня гормонов, стимулирующих его рост, и увеличением уровня гормонов, подавляющих его рост.

© К. ХИРОКАВА, 1990.

8. Goodrick C. L. Body weight increment and length of life: the effect of genetic constitution and dietary protein // J. Gerontol.—1978.—33.—P. 184—190.
9. Goodrick C. L., Ingram D. K., Reynolds M. A. et al. Differential effects of intermittent feeding and voluntary exercise on body weight and life span in adult rats // J. Gerontol.—1983.—38.—P. 36—45.
10. Gross A. J., Clark V. A. Survival distributions, reliability applications in the biomedical science.—New York: Wiley, 1975.—P. 226—239.
11. Lester G. T., Deutsch S., Markofsky J. Ageing in the rat: longitudinal and cross-sectional studies of body composition // Amer. J. Physiol.—1973.—22.—P. 1472—1478.
12. Leto S., Kokkonen G., Barrows C. Dietary proteins, life spans biochemical variables in female mice // J. Gerontol.—1976.—31.—P. 144—148.
13. Maeda H., Gleiser C. A., Masoro E. J. et al. Nutritional influences on aging of Fischer—344 rats. II. Pathology // Ibid.—1985.—40.—P. 671—688.
14. Masoro E., Yu B. P., Bertrand H. A. Action of food restriction in delaying the aging process // Proc. Natl Acad. Sci. USA.—1982.—79.—P. 4239—4241.
15. McCay C. M., Crowell M. F., Maynard L. A. Effect of retarded growth upon length of life span and upon ultimate body size // J. Nutr.—1935.—10.—P. 657—670.
16. Nakagawa I., Masana Y. Effect of protein nutrition on growth and life span in the rat // Ibid.—1971.—101.—P. 613—620.
17. Nolen G. A. Effect of various restricted dietary regimens on growth, health and longevity in albino rats // Ibid.—1972.—102.—P. 1477—1493.
18. Ross M., Brass G. Influence of protein under- and over-nutrition on spontaneous tumor prevalence in the rat // Ibid.—1973.—103.—P. 944—963.
19. Sacher G. A. Life table modification and life prolongation // Handbook of biology of aging / Ed. by C. Finch, L. Hayflick.—New York: Van Nostrand Reinhold, 1977.—P. 615—620.
20. Stuchlikova E., Juricova-Horakova M., Deyl Z. New aspects of the dietary effects of life prolongation in rodents. What is the role of obesity in aging? // Exp. Gerontol.—1975.—10.—P. 141—144.
21. Weindruch R., Walford R. L., Fligiel S., Guthrie D. The retardation of ageing in mice by dietary restriction: longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake // J. Nutr.—1986.—116.—P. 641—654.
22. Yu B. P., Masoro E. J., Murata H. A. et al. Lifespan study of SPF Fischer-344 male rats fed ad libitum or restricted diets: longevity, growth, lean body mass and disease // J. Gerontol.—1982.—37.—P. 130—141.
23. Yu B. P., Masoro E. J., McMahan C. A. Nutritional influences on aging of Fischer-344 rats. I. Physical, metabolic and longevity characteristics // Ibid.—1985.—40.—P. 657—670.

Ин-т физиологии Чехословац. АН,
Прага

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

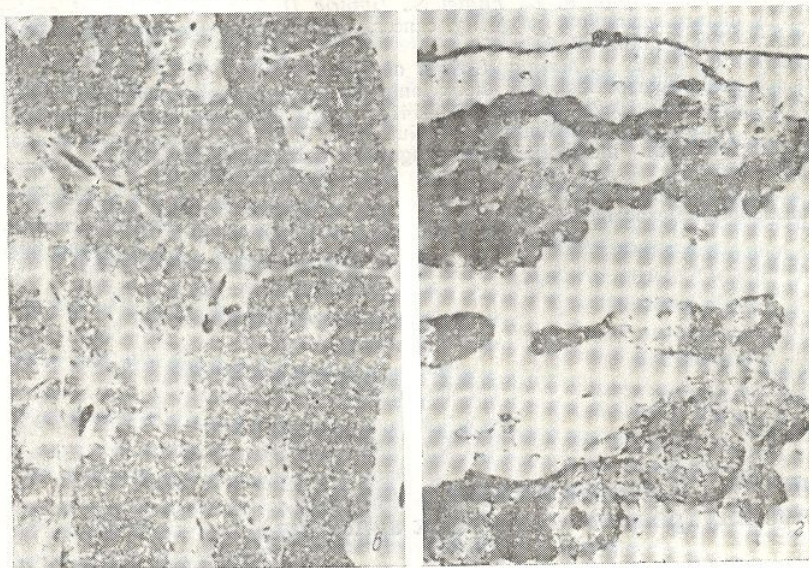
УДК 612.67—017.1:612.438

К. Хирокава

Механизм инволюции тимуса (анализ внутренних и внешних аспектов)

Тимус играет важную роль в пролиферации и дифференцировке Т-клеток и поэтому является незаменимым органом для развития и поддержания системы иммунитета в онтогенезе. Несмотря на столь существенное значение тимуса, его инволюция начинается примерно в пубертатный период, а способность тимуса обеспечивать зрелыми Т-клетками периферические лимфоидные органы достигает максимума в неонатальный период и резко снижается в дальнейшем. Такое раннее начало морфологической и функциональной инволюции тимуса обуславливает возрастное снижение функций иммунной системы [1, 7], которое у мышей может быть ускорено тимэктомией, произведенной в возрасте четырех недель [4], и замедлено множественной последовательной пересадкой тимуса новорожденных доноров [4, 6]. Эти наблюдения послужили для нас стимулом к началу исследований по анализу механизма инволюции тимуса. С одной стороны, при исследовании мно-

© К. ХИРОКАВА, 1990.



а — тимус 4-недельной мыши-самца линии C57BL/6 с хорошо выраженным делением на корковое и мозговое вещества; б — атрофический тимус 26-месячной мыши-самца линии C57BL/6 с плохо различимыми корковым и мозговым веществами; в — тимус 2-летнего мальчика с хорошо развитой корой и рассеянными бledными участками мозгового вещества; г — тимус 28-летнего мужчины с выраженной жировой инфильтрацией и дезинтегрированной тканью тимуса.

На рисунке представлены результаты, свидетельствующие о различии гистологической структуры тимуса у мышей (а, б) и людей (в, г). Максимальная масса тимуса у мышей наблюдается, примерно, в возрасте 4 нед. В этот период ясно различаются кора (темная периферическая зона) и мозговое вещество (бледная центральная зона). Масса старого атрофического тимуса мышей 26-месячного возраста

Гораздо сложнее получить нормальную массу тимуса chez новорожденных животных. Уже в раннем возрасте появляются начальные признаки инфильтрации, обнаруживаются в тимусе признаки жировой инфильтрации лимфоидной ткани. Жировая инфильтрация тимуса развивается в возрасте 20 лет по сравнению с возрастом 10 лет. В возрасте 30 лет тимус атрофичен, в основном состоит из жировых клеток и лимфоцитов.

Число про-Т-клеток в рении может быть объяснено в костном мозгу. Сушони связаны с использованием C57BL/6; Thy-1,2 и B10; Т-клетки в тимусе клеток костномозгового метода не обТ-клеток костного мозга метод связан с использованием вводили клетки костного облученным молодым живпуляции тимуса и селезенки

Орган
Тимус Селезенка

Как свидетельствуют костного мозга старых мюмуса и селезенки, обуславляющей, обусловленной к [5]. Однако эти различия уменьшением числа лимфоцитов в крови, если возрастное снижение определенных значений в решающей роли.

Физиол. журн., 1990, т. 36,

уменьшена примерно десятикратно. Кора и мозговое вещество слабо различимы. Значительное уменьшение массы тимуса обусловлено возрастным снижением числа клеток (примерно, в 50 раз).

Гораздо сложнее получить информацию о тимусе человека. Максимальной массы тимус человека достигает в ранний период детства, но начальные признаки инволюции тимуса, такие, как жировая инфильтрация, обнаруживаются в биоптатах тимуса у детей до 5-летнего возраста. Жировая инфильтрация и постепенное замещение тимической лимфоидной ткани жировой — являются наиболее характерными признаками атрофии тимуса человека. Этот феномен хорошо выражен в возрасте 20 лет по сравнению с тимусом новорожденных. При этом инволюция тимуса, в основном, обусловлена снижением числа лимфоцитов.

Предшественники тимоцитов (про-Т-клетки) костного мозга мигрируют в тимус, интенсивно пролиферируют в тимическом микроокружении и дают начало большому числу тимических лимфоцитов. В связи с указанной последовательностью превращений, возрастное снижение числа тимоцитов может быть обусловлено следующими четырьмя причинами: снижением числа про-Т-клеток в костном мозгу, снижением эмиграции про-Т-клеток в тимус, снижением пролиферации тимоцитов, ослаблением действия экстралимфических факторов, способствующих пролиферации тимоцитов. Все эти возможные причины были нами исследованы.

Число про-Т-клеток в костном мозгу. Инволюция тимуса при старении может быть объяснена возрастным снижением числа про-Т-клеток в костном мозгу. Существует два метода оценки их числа. Оба они связаны с использованием Thy-1 конгенных мышей (линии C57BL/6; Thy-1,2 и B10; Thy-1,1). Один из методов заключается в инъекции в тимус клеток костного мозга. Katsura и соавт. [6] при использовании этого метода не обнаружили достоверных различий числа про-Т-клеток костного мозга у взрослых и старых мышей. Другой метод связан с использованием радиационных химер костного мозга. Мы вводили клетки костного мозга молодых и старых интактных мышей облученным молодым животным и сравнивали их способность к репопуляции тимуса и селезенки.

Таблица 1. Способность клеток костного мозга репопулировать клетки тимуса и селезенки радиационных химер (число клеток донорского типа, $\times 10^7$)

Орган	Направление введения донорских клеток	
	Молодые $\rightarrow$ молодые	Старые $\rightarrow$ молодые
Тимус	19,80	14,30
Селезенка	2,82	1,71

Примечание. Клетки костного мозга ($5 \cdot 10^7$) молодых или старых мышей линии C57BL/6 (Thy-1,2) вводили летально облученным молодым мышам линии B10 (Thy-1,1) и спустя 56 сут определяли число Т-клеток донорского типа в тимусе и селезенке.

Как свидетельствуют представленные в табл. 1 результаты, клетки костного мозга старых мышей менее эффективны в репопуляции клеток тимуса и селезенки, обеспечивали (соответственно) 72 и 60 % репопуляции, обусловленной клетками костного мозга молодых животных [5]. Однако эти различия довольно малы по сравнению с 50-кратным уменьшением числа лимфоцитов в тимусе при старении. Следовательно, если возрастное снижение числа про-Т-клеток костного мозга и имеет определенное значение в возрастной инволюции тимуса, оно не играет решающей роли.

Эмиграция про-Т-клеток в тимус. Следующей возможной причиной, объясняющей инволюцию тимуса, могло бы быть снижение способности про-Т-клеток попадать в тимус, хотя в костном мозгу на протяжении всей жизни их содержится достаточно много. Известно, что внутривенное введение клеток костного мозга мышам, облученным летальными дозами радиации, способно вызвать быструю репопуляцию клеток тимуса [2]. Далее мы исследовали, в какой мере введенные таким же способом клетки костного мозга способны вызвать репопуляцию клеток тимуса интактных мышей. Клетки костного мозга ($2 \cdot 10^7$) мышей линии B10 (Thy-1,1) были введены интактным мышам линии C57BL/6 (Thy-1,2) различного возраста (от новорожденных до 24-месячных). Как показано в табл. 2, репопуляция тимуса донорскими лимфоцитами костного мозга очень низка у интактных животных. При введении клеток костного мозга новорожденным мышам в тимусе было обнаружено значительное число донорских лимфоцитов ($42 \cdot 10^5$), составившее около 2,5 % общего числа лимфоцитов тимуса. У новорожденных мышей репопуляция клеток максимальна, а далее, по мере увеличения возраста реципиента, она снижается, составляя у 12-месячных животных менее 10 % репопуляции клеток у новорожденных. Эти результаты показывают, что эмиграция про-Т-клеток в тимус у взрослых мышей происходит нечасто и находится на низком уровне даже у новорожденных животных, хотя вышеприведенный метод позволяет выявить снижение с возрастом скорости эмиграции.

Таблица 2. Репопуляция лимфоцитов донорского типа в тимусе интактных мышей разного возраста при внутривенном введении клеток костного мозга

Показатель репопуляции	Возраст животных					
	1 сут	1 мес	3 мес	12 мес	18 мес	24 мес
Относительное число репопулирующих клеток, %	$2,5 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,3$	$2,1 \pm 1,9$	$0,6 \pm 0,4$	$1,2 \pm 0,4$
Абсолютное число репопулирующих клеток, $\times 10^5$	41,5	6,1	5,1	3,8	1,2	2,9

Хорошо известно, что в субкапсулярном слое коры тимуса взрослого животного происходит интенсивная пролиферация лимфоцитов. Возникает вопрос, какие клетки дают начало этим интенсивно пролиферирующим лимфоцитам тимуса, если про-Т-клетки костного мозга не являются главным источником этих пролиферирующих лимфоцитов.

Пролиферация тимических лимфоцитов в тимусе. Во-первых. Мерой пролиферации тимических лимфоцитов *in situ* может быть число лимфоцитов донорского типа в тимусе после прямой инъекции в тимус клеток костного мозга, экспрессирующих другой Thy-1-фенотип. Оцененная таким способом пролиферация тимических лимфоцитов максимальна у новорожденных мышей и, в дальнейшем, с возрастом понижается. После интратимической инъекции клеток костного мозга новорожденным мышам пролиферация донорских лимфоцитов в тимусе достигала максимума в 4-недельном возрасте, когда они составляли 20 % всех тимических лимфоцитов, и постепенно снижалась в дальнейшем [3]. В то же время, важно подчеркнуть, что фокальная (точечная) пролиферация лимфоцитов донорского типа наблюдается в тимусе даже спустя 1 г. после инъекции, охватывая около 3 % всех тимических лимфоцитов [5]. Поскольку в костном мозгу этих мышей нет про-Т-клеток донорского типа, то такие долгоживущие тимоциты донорского типа могут происходить из клеток костного мозга, инъецированных в период новорожденности. Отсюда можно предположить, что про-Т-клетки костного мозга дают начало интратимическим стволовым клеткам, которые реплицируются и дают начало большому чис-

лу тимических лимфоцитов. Словами, большинство интимусе взрослых животных тимических стволовых клеток начало из про-Т-клеток, эм. Большинство же интратим. Т-клеток, мигрирующих в

Во-вторых. Пролиферация в тимусе может быть опр. клеток. Последние могут помощью моноклональных менту ДНК-полимеразе, се в табл. 3, доля делящихся в период новорожденности возрасте и сохраняется на. Так как большинство про тимических стволовых кле клеток в тимусе отражает ловых клеток давать нач ленное число клеток кост инъецируется в тимус ст. пролиферация донорских. микроокружения даже с про-Т-клеток и интратими

Таблица 3. Относительное количество пролиферирующих клеток тимуса разного возраста

Показатель пролиферации
Общее число клеток, $\times 10^7$
Доля Th-10 ⁺ -клеток, %

Все эти результаты, тимическая инволюция и пролиферативных способ ний миграцией про-Т отражают внутренние асп смотрим ее внешние аспе дующим образом.

Тимическая инволюция как у самцов, так и у сам у молодых мышей, но и у уровень половых гормонов крыс, которые были пре.

Тимус крыс линии В свой рост по мере старе ческой лимфоидной ткан полости позволяет тимус изменений в системе им плазия тимуса не отмеча мированы в 4-недельном

Оба эти феномена — спонтанная тимическая г гормонов или факторов, предполагают, что тим половой зрелости, контр таламо-гипофизарной оси

причиной, способно-протяже-го внутри-и леталь-но клеток таким же-но клеток вышей ли-С57BL/6-есячных). фцитами ении кле-наружено-ее около-ышей ре-возраста-ых менее-показы-шей про-рожденных-снижение

ых мышей

24 мес

1,2±0,4

2,9

а взрос-

роцитов.

о проли-

о мозга

роцитов.

и. Мерой

ло лим-

в тимус

п. Оче-

ов мак-

зрасом

о мозга

тимусе

тавляли

в даль-

ная (то-

ается в

% всех

мышей

моциты

инъекци-

ложить,

им ство-

му чис-

лу тимических лимфоцитов довольно продолжительное время. Иными словами, большинство интенсивно пролиферирующих лимфоцитов в тимусе взрослых животных происходит, преимущественно, из интра-тимических стволовых клеток, и только небольшая их часть берет свое начало из про-Т-клеток, эмигрирующих в тимус во взрослом состоянии. Большинство же интратимических стволовых клеток происходит из про-Т-клеток, мигрирующих в тимус перед рождением.

Во-вторых. Пролиферативная способность тимических лимфоцитов в тимусе может быть определена числом или долей (%) делящихся клеток. Последние могут быть иммуногистологически определены с помощью моноклональных антител Th-10, которые специфичны к ферменту ДНК-полимеразе, связанному с репликацией ДНК. Как показано в табл. 3, доля делящихся клеток в тимусе составляет, примерно, 50 % в период новорожденности, резко снижается до 25 % в 4-недельном возрасте и сохраняется на уровне 17—18 % в возрасте 1 г. и старше. Так как большинство пролиферирующих клеток происходит из интра-тимических стволовых клеток, то возрастное снижение доли делящихся клеток в тимусе отражает снижение способности интратимических стволовых клеток давать начало тимическим лимфоцитам. Когда определенное число клеток костного мозга, содержащее про-Т-клетки, прямо инъецируется в тимус старых мышей, в нем отмечается интенсивная пролиферация донорских лимфоцитов. Это указывает на способность микроокружения даже старого тимуса поддерживать пролиферацию про-Т-клеток и интратимических стволовых клеток.

Таблица 3. Относительное число делящихся клеток (Th-10⁺) в тимусе мышей разного возраста

Показатель пролиферации	Возраст животных			
	2 сут	4 нед	1 г.	2 г.
Общее число клеток, ×10 ⁷	1,49	19,4	8,13	2,55
Доля Th-10 ⁺ -клеток, %	51,6±2,2	27,4±2,5	15,7±3,0	17,5±2,0

Все эти результаты, в целом, свидетельствуют в пользу того, что тимическая инволюция может быть частично объяснена снижением пролиферативных способностей тимических стволовых клеток и ограничений миграцией про-Т-клеток во взрослый тимус. Все эти феномены отражают внутренние аспекты тимической инволюции. Далее мы рассмотрим ее внешние аспекты, которые могут быть представлены следующим образом.

Тимическая инволюция не является необратимой. Гонадэктомия, как у самцов, так и у самок, приводит к гипертрофии тимуса не только у молодых мышей, но и у старых (20-месячных), имеющих уже низкий уровень половых гормонов. Подобный эффект не наблюдался у тех крыс, которые были предварительно гипофизэктомированы [8].

Тимус крыс линии Buffalo rats не инволюционирует, а продолжает свой рост по мере старения, приводя к гиперплазии Т-звена периферической лимфоидной ткани. Поэтому до тех пор, пока место в грудной полости позволяет тимусу расти, не наблюдается никаких возрастных изменений в системе иммунитета у крыс данной линии. Однако гиперплазия тимуса не отмечается у тех крыс, которые были гипофизэктомированы в 4-недельном возрасте.

Оба эти феномена — тимическая гиперплазия при гонадэктомии и спонтанная тимическая гиперплазия у крыс — находятся под контролем гормонов или факторов, секретируемых гипоталамусом и гипофизом, и предполагают, что тимическая инволюция, начинающаяся в возрасте половой зрелости, контролируется также внешними факторами гипоталамо-гипофизарной оси.

Тимическая инволюция обусловлена частично внутренними факторами, частично внешними по отношению к тимусу. Манипулирование внутренними факторами довольно трудная задача (имеется в виду усиление пролиферативных способностей интратимических стволовых клеток и повышение способности про-Т-клеток костного мозга эмигрировать в тимус).

Значительно более легкий путь — восстановление инволюционирующего тимуса с помощью манипулирования внешними факторами. Он является более перспективным, поскольку дает возможность предотвратить возрастное снижение функций системы иммунитета или восстановить нарушенные иммунные функции у стариков. Поэтому мы должны больше знать о том, как функции системы иммунитета контролируются нейроэндокринной системой.

K. Hirokawa

MECHANISM OF THYMIC INVOLUTION — ANALYSIS OF INTRINSIC AND EXTRINSIC ASPECTS

The mechanisms of thymic involution with age are analyzed in terms of both intrinsic and extrinsic aspects. The intrinsic factors include: decrease in the number of thymocyte-precursors (pro-T cells) in the bone marrow, in emigration of pro-T cells into the thymus, in proliferation of thymic lymphocytes and decrease in extrathymic factors promoting proliferation of thymic lymphocytes. The extrinsic factors capable to exert modulating effects on the thymic function are humoral factors of the hypothalamic-pituitary origin. It seems much easier to manipulate the extrinsic factors by controlling neuro-endocrine stimulation, and to restore the thymic involution. This is quite encouraging, because it permits restoring the impaired immune functions of the aged people.

Department of Pathology, Metropolitan Institute of Gerontology, Tokyo, Japan

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hirokawa K. Autoimmunity and aging // Concepts Immunopathology. — Basel: Karger, 1985. — Vol. 1. — P. 251—288.
2. Hirokawa K., Sado T., Kubo S. et al. Intrathymic T cell differentiation in radiation bone marrow chimeras and its emigration to the spleen. An immunohistochemical study // J. Immunol. — 1985. — 134, N 6. — P. 3615—3624.
3. Hirokawa K., Utsuyama M., Katsura Y., Sado T. Influence of age on the proliferation and peripheralization of thymic T cells // Arch. Pathol. Lab. Med. — 1988. — 112, N 1. — P. 13—21.
4. Hirokawa K., Utsuyama M. Combined grafting of bone marrow and thymus, and sequential multiple thymus graftings in various strains of mice. The effect on immune functions and life span // Mech. Ageing Dev. — 1989. — 49, N 1. — P. 49—60.
5. Hirokawa K. Role of the thymus in aging of the immune system // Biomedical Advances in Aging. Ed. A. Goldstein. Plenum Press. — 1989.
6. Katsura Y., Kina T., Amagai T. et al. Limiting dilution analysis of the stem cells for T cell lineage // J. Immunol. — 1986. — 137, N 8. — P. 2434—2439.
7. Makinodan T., Kay M. M. B. Age influence on the immune system // Adv. Immunol. — 1980. — 29. — P. 287—330.
8. Utsuyama M., Hirokawa K. Hypertrophy in the thymus and restoration of immune function in mice and rats by gonadectomy // Mech. Ageing Dev. — 1989. — 47, N 3. — P. 175—186.

Ин-т геронтологии, Токио

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

Г. М. Бутенко, А. И. Харази, И. П.

Влияние возраста реципиента на эффект трансплантата новорожденных доноров

Известно, что при создании состоящих из элементов ра признали, характерные для доминирования наблюдаются [5]. Нами показано, что о генеза. Так, в гетерохронности [1], соединительная т и яичники [4] молодого па характерные для старого ж влияние молодого организм вообще нет. Создается впечатлением источник сильных и свое действие на широкий и

С этой точки зрения на как источника супрессорных или пересадок различных о новское облучение. Показано, что старому партнеру по парцее влияние на молодой ор лимфоидных органов неоди вообще способны ревертирс аженной старой селезенка [3]. Пожалуй, в наибольш при пересадке старого тим рабатывают какие-то пода в системе in vitro [10]. 3 проявления этой супрессо наших исследований, в тирасту, близкому к 20 мес [8]

Цель нашей работы — взаимодействия с организм особенностей взаимодействия риферических органов, для модель одновременной пер капсулу почки.

Методика

Мыши линии СВА получены из происходило в условиях питомн тимус (одну долю) из организм под капсулу почки реципиентам после операции, производили гис лезенки, а также определяли чис мых антителообразующих клеток Эрне и Нордина.

Результаты

Гистологическое исследование показало их регенерацию, в

© Г. М. БУТЕНКО, А. И. ХАРАЗИ,

Физиол. журн., 1990, т. 36, № 5

Влияние возраста реципиента на эффект трансплантации лимфоидных органов новорожденных доноров

Известно, что при создании гетерохронных химер, т. е. живых систем, состоящих из элементов разного возраста, доминирующими являются признаки, характерные для более поздних этапов онтогенеза. Такое доминирование наблюдалось при изучении эмбрионального развития [5]. Нами показано, что оно сохраняется и на поздних этапах онтогенеза. Так, в гетерохронной парабиотической паре система иммунитета [1], соединительная ткань [9], кроветворение [11], печень [13] и яичники [4] молодого партнера проявляют выраженные изменения, характерные для старого животного, в то время как «омолаживающее» влияние молодого организма на старый весьма незначительно или его вообще нет. Создается впечатление, что старый организм представляет собой источник сильных подавляющих влияний, распространяющих свое действие на широкий круг функциональных систем и органов.

С этой точки зрения нами изучается система иммунитета. В поисках источника супрессорных влияний были применены методы удаления или пересадок различных органов, парциальное или тотальное рентгеновское облучение. Показано, что тотальное общее облучение организма старого партнера по парабиозу значительно снижает его подавляющее влияние на молодой организм [2]. В то же время вклад различных лимфоидных органов неодинаков. Кроветворные клетки костного мозга вообще способны ревертировать свои возрастные изменения [7], пересаженная старая селезенка дает значительно более выраженный эффект [3]. Пожалуй, в наибольшей мере супрессорное действие проявляется при пересадке старого тимуса [8], стромальные клетки которого вырабатывают какие-то подавляющие иммунный ответ вещества даже в системе *in vitro* [10]. Заслуживает внимания время наибольшего проявления этой супрессорной активности, которое, по результатам наших исследований, в тимусе мышей линии СВА соответствует возрасту, близкому к 20 мес [8].

Цель нашей работы — дальнейшее изучение роли тимуса и его взаимодействия с организмом в нарушениях иммунитета при старении, особенностей взаимодействия тимуса с лимфоидными популяциями периферических органов, для чего предложена новая экспериментальная модель одновременной пересадки вилочковой железы и селезенки под капсулу почки.

Методика

Мыши линии СВА получены из питомника АМН СССР «Столбовая». Старение мышей происходило в условиях питомника Института геронтологии АМН СССР. Селезенку и тимус (одну долю) из организма мышат через 24–48 ч после рождения пересаживали под капсулу почки реципиентам 4–5-, 12–14- и 21–22-месячного возраста. Через 3 мес после операции производили гистологическое исследование пересаженных тимуса и селезенки, а также определяли число ядросодержащих клеток и относительное число прямых антителообразующих клеток (ПАОК) в селезенке донора и реципиента по методу Эрне и Нордина.

Результаты

Гистологическое исследование трансплантатов тимуса и селезенки показало их регенерацию, в частности восстановление их типичной струк-

© Г. М. БУТЕНКО, А. И. ХАРАЗИ, И. Н. ПИШЕЛЬ, 1990.

A black and white micrograph showing a histological section. On the left side, there is a large, dark, and somewhat amorphous mass, possibly representing a tumor or a large area of necrosis. This mass is labeled with a small 'B'. To the right of this mass, the tissue appears more structured, with numerous small, circular or oval cells arranged in a somewhat regular pattern, possibly representing a glandular or epithelial tissue. The overall texture is grainy, typical of a photomicrograph.

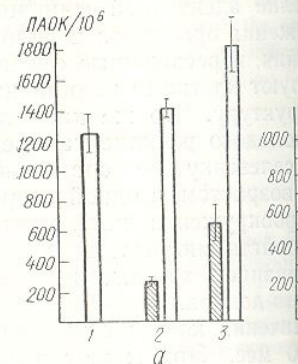
трансплантированного органа) или системный (макроокружение организма).

Число ядросодержащих клеток в селезенке мышей линии СВА в норме и через 3 мес после трансплантации им тимуса и селезенки 2-суточных доноров на 4-е сутки после иммунизации эритроцитами барана, $\times 5 \cdot 10^6$

Вариант опыта	Возраст		
	8 мес	15 мес	23 мес
Интактные животные	34,8±2,3	48,2±2,5	42,9±3,3
После трансплантации селезенки			
в собственной	47,5±8,4	50,3±15,8	35,4±7,9
в пересаженной	7,0±0,7	5,7±0,7	12,8±2,4
После трансплантации тимуса и селезенки			
в собственной	34,8±4,2	35,7±1,5	40,8±6,8
в пересаженной	5,2±1,7	4,0±0	12,7±1,7

28

При изучении взаимоотношений селезенки и тимуса в опытах по пересадке тимуса отрицательная корреляция, (от $r = -0,89$ у 4—5-месячных мышей). Этот факт может указывать на то, что тимус (хонинг) клетками молодого тимуса по сравнению с пересаженными



1 — интактные животные; 2 — живые; 3 — животные с пересаженными *столками* — иммунный ответ в соответствие в пересаженной селезенке. По ядерным клеткам селезенки (ПАОК/10⁶) барана. В каждой экспериментальной серии.

Иммунный ответ (число 4—5-месячным мышам, по-
значительно уступает числу
быть связано с гетеротопни
преимущественным заселе
трансплантация тимуса при
му иммунный ответ эффек
чем донорской — в несколь

В 16-месячном возрасте лезенке донора через 3 месяца не отличается от такового, однако обращает на себя внимание ответа селезенки донора пересадкой тимуса, которая достоверной в случае пересадки тимуса (рис. 2, б). Следует отметить, что в опытах без донора у животных значительно

Одним из ключевых вопросов является выбор адекватной модели, вносящих вклад в результат. В случае особенно важно, изолированно, а во взаимодействии с другими факторами.

Физиол. журн., 1990, т. 36, №

При изучении взаимозависимости ЧЯСК донорской и хозяйской селезенки в опытах по пересадке селезенки без тимуса доказана их отрицательная корреляция, значение которой уменьшается с возрастом (от $r = -0,89$ у 4—5-месячных животных до $r = -0,027$ у 22-месячных). Этот факт может указывать на некоторое предпочтительное заселение (хоминг) клетками молодого реципиента его собственной селезенки по сравнению с пересаженной селезенкой новорожденных. При допол-

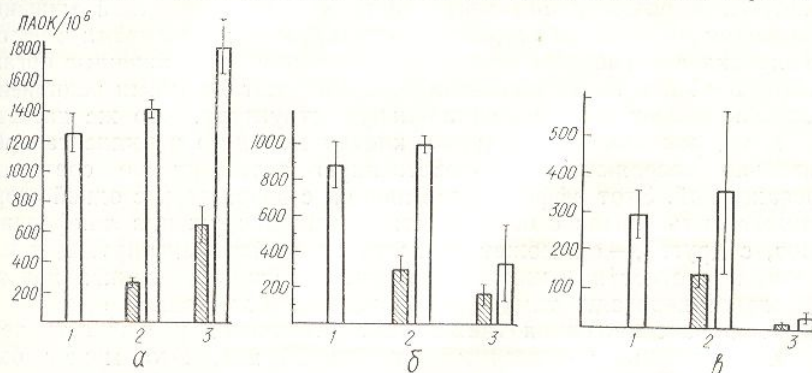


Рис. 2. Иммунный ответ 8- (а), 15- (б) и 25- (в) месячных мышей линии СВА в норме и при трансплантации им лимфоидных органов 2-суточных доноров через 3 мес после операции:

1 — интактные животные; 2 — животные с пересаженной селезенкой 2-суточных доноров; 3 — животные с пересаженными тимусом и селезенкой 2-суточных доноров. Светлые столбики — иммунный ответ в собственной селезенке реципиента, заштрихованные — иммунный ответ в пересаженной селезенке. По вертикали — число прямых антителлообразующих клеток в 10^6 ядерных клеток селезенки (ПАОК/10⁶) на 4-е сутки после иммунизации животных 10^8 эритроцитами барана. В каждой экспериментальной группе от 5 до 7 животных; вертикальные черточки — ошибки средних.

нительной пересадке тимуса не обнаружено зависимости заселения селезенки реципиента от возраста реципиента. В связи с этим можно предположить, что пересаженный тимус нивелирует это предпочтительное заселение путем образования клеток, пассируемых через пересаженный тимус новорожденных.

Иммунный ответ (число ПАОК) в селезенке при ее пересадке 4—5-месячным мышам показан на рис. 2, а. Как видно из рисунка, он значительно уступает числу ПАОК в селезенке реципиента, что может быть связано с гетеротопным положением органа и с указанным выше преимущественным заселением хозяйской селезенки. Дополнительная трансплантация тимуса приводит к явно выраженному стимулирующему иммунный ответ эффекту и донорской, и хозяйской селезенки, причем донорской — в несколько большей мере.

В 16-месячном возрасте реципиента (рис. 2, б) число ПАОК в селезенке донора через 3 мес после трансплантации практически ничем не отличается от такового при пересадке 5-месячным животным. Однако обращает на себя внимание тенденция к угнетению иммунного ответа селезенки донора и реципиента в опытах с дополнительной пересадкой тимуса, которая становится еще более выраженной и достоверной в случае пересадки тимуса и селезенки 22-месячным мышам (рис. 2, в). Следует отметить, что иммунный ответ донорской селезенки в опытах без дополнительной трансплантации тимуса старым животным значительно больше, чем в опытах с пересадкой тимуса.

Обсуждение

Одним из ключевых вопросов современной иммуногеронтологии является выбор адекватной модели для анализа влияния различных факторов, вносящих вклад в изменения иммунитета при старении. В этом случае особенно важно добиться, чтобы эти факторы изучали не изолированно, а во взаимодействии, максимально приближенном к естественному взаимодействию в организме стареющего животного.

В приведенной работе мы попытались использовать для этой цели модель гетеротопной трансплантации лимфоидных органов новорожденных животных. Этот выбор был сделан на основании двух соображений. Во-первых, органы новорожденного животного обладают максимальными потенциальными возможностями роста, что позволяет оценить автономный компонент развития (и старения) системы иммунитета (если таковой имеется). Во-вторых, этим органам еще предстоит развиваться и поэтому они могут быть вполне адекватной мишенью для изучения влияний со стороны макроокружения организма в целом.

Как показали гистологические исследования, пересаженные органы в течение 3—4 нед после операции репопулируют клетками реципиента и восстанавливают свою первоначальную структуру. Что же касается хоминга, то, довольно неожиданно, клетки молодого реципиента предпочтительно заселяют свою собственную селезенку по сравнению с пересаженной. Этот эффект, исчезающий с возрастом, с одной стороны, может быть связан с особенностями микроокружения лимфоидных органов, с другой, — он может зависеть от свойств мигрирующих клеток, что, в частности, доказывается выравниванием хоминга при дополнительной пересадке тимуса новорожденного донора.

Заслуживает внимания также факт увеличения клеточности пересаженной селезенки у животных старше 20 мес. Это может быть связано, с одной стороны, со снижением хоминга в собственную селезенку реципиента, а с другой, — нарушением контроля роста и развития органов в старом организме. Вряд ли стоит здесь говорить об иммунном конфликте (по типу реакции трансплантации против хозяина), ибо нет никакого увеличения клеточности в селезенке реципиента.

Главный вывод из полученных результатов состоит в том, что созревание иммунных потенциалов в пересаженной селезенке новорожденного животного в основном зависит от возраста организма-хозяина. Именно в период между 18 и 20 мес обнаруживается резкое (после относительного «плато») угнетение численности ПАОК в селезенке донора. Следует, однако, заметить, что это снижение (в 2 раза) не так драматично, как снижение иммунного ответа с возрастом в селезенке реципиента (в 4 раза), что позволяет предположить некоторый положительный эффект «молодого» микроокружения.

При попытке восстановить иммунный ответ в пересаженной в старый организм селезенке с помощью дополнительной трансплантации тимуса получено, наоборот, угнетение иммунных потенциалов и донорской, и хозяйской селезенки. В то же время при пересадке тимуса и селезенки в молодой организм получена стимуляция иммунного ответа в обеих селезенках. Отсюда можно прийти к заключению, что создаваемые таким образом химерные сочетания лимфоидных органов функционируют как одно целое (одна система), находясь под влиянием макроокружения организма хозяина и подчиняясь при этом тем регуляторным сигналам (стимулирующим или ингибирующим), которые от него исходят.

Это положение важно по следующей причине. Согласно так называемой иммунологической теории старения, старческие изменения в организме являются следствием первичных нарушений в системе иммунитета [14]. В связи с этим возникает большой соблазн путем восстановления пострадавшей иммунной системы воспрепятствовать старению организма. Из нашей работы следует, что в пожилом возрасте эта задача представляется сомнительной. Если полагать, что изменения иммунной системы и макроокружения в онтогенезе взаимосвязаны, то «иммунологический путь» замедления темпов старения нужно начинать с довольно молодого возраста. Аналогичный результат был получен Хирокава [6] на модели множественной пересадки тимуса. Однако следует подчеркнуть, что значительные возможности манипуляций на системе иммунитета оставляют шанс на результативные попытки восстановления иммунитета в старческом возрасте.

G. M. Butenko, A. I. Kharazi, I.

EFFECT OF THE RECIPIENT OF LYMPHOID ORGANS IN NE

The development of immunology under the kidney capsule of different animals appear to depend strongly upon development occurs. Thereat the gradually decreasing with the recipient is obtained. These data indicate factors both in maturation of the

Institute of Gerontology,
Academy of Medical Sciences of

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бутенко Г. М., Губрий И. В. Возраст // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1985.
2. Бутенко Г. М., Губрий И. В. Парабиоз животных разного возраста // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1985.
3. Губрий И. В. Первичный иммунный ответ при различных донорах и реципиентах // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1985.
4. Губрий И. В., Резников А. В. Ритмичность циклической активности лимфоидных органов // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1985.
5. Дюкар Э. Клеточные взаимодействия // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1985.
6. Хирокава К. Тимус и старение (ежегодник «Геронтология»). — 1985.
7. Butenko G. M., Andrianova L. F. Ageing // Arch. Biol. — 1985.
8. Butenko G. M., Kharazi A. Immunologic system formation in ageing // Arch. Biol. — 1985.
9. Hlavachkova J. V., Hruza Z. Ring ageing and parabiosis // Arch. Biol. — 1985.
10. Sato K., Chang M.-P., Makino S. T. Parent cells to produce factor Xa // Cell. Immunol. — 1984.
11. Sidorenko A. V., Gubrii I. V. Lymphohemopoietic system in ageing // Arch. Biol. — 1985.
12. Stutman O. Intrathymic and extrathymic factors in ageing // Mech. Ageing Dev. — 1984.
13. Tauchi H., Sato T. Change in old and young rats // Mech. Ageing Dev. — 1984.
14. Walford R. L. The immunological system in ageing // Mech. Ageing Dev. — 1984.

Ин-т геронтологии АМН СССР
Киев

УДК 612.119.017.11:576.5

Л. Ф. Андрианова

Пролиферативные и деструктивные процессы в стволовых клетках крови у мышей линии СВА

Основные признаки, характерные для стволовых клеток (СКК) костного мозга, — поддержание, пролиферация и дифференциация.

© Л. Ф. АНДРИАНОВА, 1990.

Физиол. журн., 1990, т. 36, № 5

EFFECT OF THE RECIPIENT AGE ON THE EFFECT OF TRANSPLANTATION
OF LYMPHOID ORGANS IN NEWBORN DONORS

The development of immunological capacity of newborn thymus and spleen grafted under the kidney capsule of different-age recipients was investigated. The grafts functions appear to depend strongly upon the macroenvironment of the organism where their development occurs. Thereat the favourable influence of young environmental factors, gradually decreasing with the recipient age to become immunosuppressive in old animals is obtained. These data indicate a predominant significance of the macroenvironmental factors both in maturation of the immune system and its alteration during aging.

Institute of Gerontology,
Academy of Medical Sciences of the USSR, Kiev.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бутенко Г. М., Губрий И. Б. Первичный иммунный ответ у парабионтов разного возраста // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1980.— 89, № 4.— С. 435—437.
2. Бутенко Г. М., Губрий И. Б. Изучение механизма угнетения иммунного ответа при парабиозе животных разного возраста // Там же.— 1981.— 90, № 9.— С. 318—319.
3. Губрий И. Б. Первичный иммунный ответ в трансплантатах селезенки мышей СВА при различиях доноров и реципиентов по возрасту // Иммунология.— 1980.— № 5.— С. 48—51.
4. Губрий И. Б., Резников А. Г., Демченко В. Н., Бутенко Г. М. Прекращение овариальной цикличности молодой мыши при парабиозе ее со старой // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1987.— 103, № 2.— С. 205—208.
5. Дюкар Э. Клеточные взаимодействия в развитии животных.— М.: Мир, 1978.— 330 с.
6. Хирокава К. Тимус и ожидаемая продолжительность жизни // Иммуитет и старение (ежегодник «Геронтология и гериатрия»).— Киев, 1987.— С. 33—43.
7. Butenko G. M., Andrianova L. F. Functional properties of hemopoietic stem cells in ageing // Arch. Biol.— 1985.— 96, N 2.— P. 246—251.
8. Butenko G. M., Kharazi A. I. Effect of thymus grafts of various ages on the immunologic system formation in CBA mice // Mech. Ageing Devel.— 1985.— 30, N 2.— P. 227—237.
9. Hlavachkova J. V., Hruza Z. Differences in properties of newly formed collagen during aging and parabiosis // J. Gerontol.— 1972.— 27, N 1.— P. 178—182.
10. Sato K., Chang M.-P., Makinodan T. Influence of age on the ability of thymic adherent cells to produce factors in vitro which modulate immune responses of thymocytes // Cell. Immunol.— 1984.— 87, N 2.— P. 473—484.
11. Sidorenko A. V., Gubrii I. B., Andrianova L. F. et al. Functional rearrangement of lymphohemopoietic system in heterochronically parabiosed mice // Mech. Ageing Devel.— 1986.— 36, N 1.— P. 41—56.
12. Stutman O. Intrathymic and extrathymic T cell maturation // Immunol. Rev.— 1978.— 42, N 1.— P. 138—184.
13. Tauchi H., Sato T. Changes in hepatic cell mitochondria during parabiosis between old and young rats // Mech. Ageing Devel.— 1980.— 12, N 1.— P. 7—14.
14. Walford R. L. The immunological theory of aging. Current status // Fed. Proc.— 1974.— 33, N 11.— P. 2020—2027.

Ин-т геронтологии АМН СССР,
Киев

Материал поступил
в редакцию 30.02.90.

УДК 612.119.017.11:576.5

Л. Ф. Андрианова

**Пролиферативные и дифференцировочные свойства
стволовых кроветворных клеток костного мозга
у мышей линии СВА различного возраста**

Основные признаки, характеризующие сущность стволовой кроветворной клетки (СКК) костного мозга (КМ),— это ее способность к самоподдержанию, пролиферации и дифференцировке [6]. До настоящего

© Л. Ф. АНДРИАНОВА, 1990.

Физиол. журн., 1990, т. 36, № 5

времени многие вопросы, связанные с этой уникальной клеточной популяцией, остаются остро дискуссионными. Об этом свидетельствует появление новых гипотез, которые резко противоречат некоторым сложившимся представлениям. Так, подвергается сомнению способность СКК КМ к самоподдержанию [9]. Взамен схемы «ветвистой иерархии» гемопоеза, согласно которой дифференцировочный потенциал СКК ограничивается прогрессивно и стохастически [25], выдвигается другая — модель упорядоченного коммитирования. Она предполагает линейную детерминацию в течение гемоиммунопоеза, когда дифференцировочный потенциал реализуется последовательно, вначале для одного типа предшественников, затем для другого в таком порядке: мегакариоциты, эритроциты, нейтрофилы, моноциты, В-лимфоциты, Т-лимфоциты [12].

Ранние этапы дифференцировки СКК КМ могут быть критическим моментом для дальнейшего развития каждого из ростков кроветворения и иммунитета. Исходя из этого, при изучении возрастных изменений этих систем оценка количества и функциональных свойств СКК КМ и ранних предшественников имеет существенное значение.

Известно, что способность СКК КМ к гемо- и иммунопоезу в экспериментах с переносом клеток КМ летально облученным животным сохраняется у мышей на протяжении длительного периода времени, в 2—3 раза превышающего продолжительность их жизни [21]. Критериями оценки состояния СКК КМ в старости принято считать их число, баланс клеточных популяций, способность к восстановлению поврежденных функций. С использованием этих критериев установлены параметры СКК, резистентные к старению: общее число СКК в КМ (у мышей), способность дифференцироваться в клетки крови и системы иммунитета, способность к самообновлению [16].

Чувствительной к старению оказалась способность к репарации ДНК после радиационного повреждения [13]. Накоплены также и противоречивые результаты, касающиеся способности к клональной экспансии *in vivo* и генерации потомков *in vitro*, способность мигрировать в тимус облученного реципиента, отвечать на тимические факторы и др. [19]. Получены неоднозначные результаты и при исследовании в старости способности СКК КМ к пролиферации, нет четких данных о балансе клеточных популяций при дифференцировке. Изучение этих показателей было целью настоящего исследования.

Методика

В работе использован метод экзогенного колониеобразования в селезенке летально облученных животных, которым внутривенно вводили суспензию КМ молодых и старых сингенных доноров [24]. Метод был модифицирован применением морфологических и морфометрических методик, что позволило провести следующие исследования [14, 18].

1. Микроскопический подсчет числа колоний в селезенке. Определялось число колоний каждого вида (мегакариоцитарные, эритроидные, гранулоцитарные, смешанные), а затем их суммарное число.

2. Определение объема каждой колонии с помощью измерительной линейки и расчета по формуле. Определяли объем колонии, общий объем колоний определенного вида, общий объем всех колоний в селезенке, средний объем одной колонии. Для мегакариоцитарных колоний подсчитывали число клеток в колониях.

3. Определение отношения числа эритроидных колоний к числу гранулоцитарных (Э/Г).

Были исследованы показатели мышей-самок линии СВА в возрасте 3—5 мес (молодые) и 23, 24 мес (старые). Реципиентами клеток КМ были сингенные самцы молодого возраста. Облучение реципиентов выполняли на рентгеновском аппарате РУМ-17, мощность дозы 11 мГр/с, напряжение 180 кВ, сила тока 15 мА, фильтры 0,5 Cu+1,0 Al. Доза излучения 8,5 Гр контролировалась биологическим способом — по выживанию 80 % животных и отсутствию эндогенных колоний.

Через 3 ч после облучения животным вводили суспензию клеток КМ, которую готовили его вымыванием из бедренной кости. Клетки ресуспендировали в среде RPMI-1640. В камере Горяева определяли их концентрацию, вводили в дозе $0,75 \cdot 10^5$ в объеме

0,3 мл в хвостовую вену. КМ от ка-
ных вводили 2—3 облученным ре-
каждого животного-донора.

Селезеночные колонии исследо-
и введения им КМ. Объем селезено-
ловно принимали их форму за элип-

где V — объем, а — максимальный
лонии.

Животных забивали методом
наркоз. Выделенную селезенку фи-
товили по 3 продольных парафино-
тематоксилин-эозином. Исследован-
с измерительной линейкой, $\times 4$; об-
ценой деления 0,01 мм). Статисти-
лась с применением критерия t Стъ

Результаты и их обсуждение

При микроскопическом опре-
казано, что общее их число
же, как после введения КМ
колонии после введения КМ
введения КМ молодых ($P <$

Проводя сравнение рез-
группах по типам колоний,
различия обнаружены в э-
после введения КМ старых

Характеристика селезеночных кол-
введения им стволовых кроветвор-
и старых сингенных мышей-самок

Исследуемый показат

Число колоний каждого вида:

эритроидных (Э)
гранулоцитарных (Г)
мегакариоцитарных
смешанных

Отношение числа Э-колоний к чи-
Общее число колоний в селезенке

Общий объем колоний, мм³:

всех видов в целом
эритроидных
гранулоцитарных
смешанных

Средний объем колоний, мм³:

эритроидных
гранулоцитарных
смешанных

Средний объем одной колонии, мм³
Общее число клеток в мегакари-

ниях
Среднее число клеток в мегака-

лониях
Число колоний в селезенке

Общий объем колоний в селезенке

Клеточность костного мозга в $\times 10^5$

* Различия достоверны.

ной по-
льствует
ым сло-
обность
рархии»
К огра-
ругая —
нейную
овочный
а пред-
иоциты,
ы [12].
ическим
зетворе-
менений
КК КМ
у в экс-
ивотным
ремени,
Крите-
х число,
повреж-
ены па-
в КМ
системы
парации
акже и
нальной
мигри-
не фак-
исследо-
четких
Изуче-

0,3 мл в хвостовую вену. КМ от каждого из четырех молодых и четырех старых живот-
ных вводили 2—3 облученным реципиентам. Полученные результаты усредняли для
каждого животного-донора.

Селезеночные колонии исследовали на 8—9-е сутки после облучения реципиентов
и введения им КМ. Объем селезеночных колоний определяли на основании того, что ус-
ловно принимали их форму за эллипсоидную и использовали формулу

$$V = \frac{2}{3} \pi \cdot a \cdot b \cdot (a + b),$$

где V — объем, a — максимальный диаметр колонии, b — минимальный диаметр ко-
лонии.

Животных забивали методом цервикальной дислокации, использовали эфирный
наркоз. Выделенную селезенку фиксировали в спиртах [10]. Из каждой селезенки го-
товили по 3 продольных парафиновых среза толщиной 5—7 мкм, которые окрашивали
гемотоксилин-эозином. Исследование срезов проводили на микроскопе МБИ-15 (окуляр
с измерительной линейкой, $\times 4$; объективы, $\times 5,5$ и $\times 7$; объект-микрометр — ОМО — с
ценой деления 0,01 мм). Статистическая обработка полученных результатов выполня-
лась с применением критерия t Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

При микроскопическом определении селезеночных колоний было по-
казано, что общее их число после введения КМ старых мышей такое
же, как после введения КМ молодых. Однако средний объем одной
колонии после введения КМ старых животных был меньше, чем после
введения КМ молодых ($P < 0,05$, таблица).

Проводя сравнение результатов, полученных в разных возрастных
группах по типам колоний, можно видеть, что наиболее существенные
различия обнаружены в эритроидных колониях. Их число снижено
после введения КМ старых мышей ($P < 0,05$). Несколько меньше у них

Характеристика селезеночных колоний у летально облученных мышей-самцов после
введения им стволовых кроветворных клеток (СКК) костного мозга (КМ) молодых
и старых сингенных мышей-самок линии СВА

Исследуемый показатель	СКК КМ мышей	
	молодых (3—4 мес)	старых (24 мес)
Число колоний каждого вида:		
эритроидных (Э)	$4,7 \pm 0,7$	$2,2 \pm 0,7^*$
гранулоцитарных (Г)	$1,1 \pm 0,3$	$1,4 \pm 0,5$
мегакариоцитарных	$0,5 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,8$
смешанных	$2,5 \pm 0,4$	$3,7 \pm 0,8^*$
Отношение числа Э-колоний к числу Г-колоний	$4,0 \pm 0,5$	$1,5 \pm 0,5^*$
Общее число колоний в селезенке	$8,8 \pm 1,4$	$9,0 \pm 2,4$
Общий объем колоний, мм ³ :		
всех видов в целом	$39,2 \pm 9,4$	$24,2 \pm 7,7$
эритроидных	$16,3 \pm 5,9$	$8,2 \pm 5,3$
гранулоцитарных	$5,2 \pm 2,1$	$4,8 \pm 2,5$
смешанных	$20,3 \pm 3,7$	$11,7 \pm 1,3$
Средний объем колоний, мм ³ :		
эритроидных	$3,3 \pm 0,6$	$2,5 \pm 0,8$
гранулоцитарных	$4,4 \pm 2,0$	$2,0 \pm 1,2$
смешанных	$6,9 \pm 0,9$	$3,1 \pm 0,8^*$
Средний объем одной колонии, мм ³	$4,8 \pm 0,5$	$2,8 \pm 0,5^*$
Общее число клеток в мегакариоцитарных коло- ниях	$15,9 \pm 9,3$	$22,0 \pm 5,4$
Среднее число клеток в мегакариоцитарных ко- лониях	$10,5 \pm 4,4$	$13,2 \pm 3,3$
Число колоний в селезенке	$8,8 \pm 1,4$	$9,0 \pm 2,4$
Общий объем колоний в селезенке, мм ³	$39,2 \pm 9,4$	$24,2 \pm 7,7$
Клеточность костного мозга в расчете на бедро, $\times 10^5$	$111,2 \pm 19,7$	$183,7 \pm 53,0$

* Различия достоверны.

и общий объем всех колоний, и средний объем одной колонии. Результаты исследования параметров гранулоцитарных колоний после введения КМ старых животных мало отличаются от таковых после введения КМ молодых. В связи с этим отношение числа эритроидных колоний к гранулоцитарным колониям (Э/Г) после введения КМ старых мышей было меньше, чем после введения КМ молодых ($P < 0,02$). Число мегакариоцитарных колоний и число клеток в них с возрастом проявляли тенденцию к нарастанию. Смешанные колонии у летально облученных мышей после введения им КМ молодых и старых животных незначительно отличались своим числом, но объем их с возрастом уменьшался ($P < 0,02$).

Исследуемые нами показатели могут характеризовать такие важные свойства и функции СКК КМ мышей разного возраста, как их количественное содержание в КМ (клеточность костного мозга), пролиферативный потенциал (объем колоний), баланс отдельных разновидностей (соотношение типов колоний). Результаты свидетельствуют о том, что изменений общего содержания СКК КМ у мышей с возрастом не происходит. Наиболее значимые сдвиги, которые были выявлены у СКК КМ старых животных, касаются объема их колоний. В большей или меньшей мере снижался объем всех видов колоний, кроме мегакариоцитарных. Очевидно, это явление отражает изменения пролиферативного потенциала СКК КМ у старых животных. Оно может быть связано либо с замедлением клеточного цикла [23], либо с блокадой его [3, 15], либо с асимметричным делением клеток при дифференцировке [12]. В таком случае возможно неравномерное развитие различных типов колоний или даже конкурентные отношения между ними, как это наблюдалось в отношении эритро- и иммунопоэза [8]. Наиболее чувствительным к старению оказался эритроидный росток кроветворения — у старых мышей наблюдалось снижение всех изучаемых показателей эритропоэза. Аналогичные результаты, полученные Ibrahim и соавт. [17], позволили им рассматривать уменьшение числа эритроидных колоний как функцию возраста [17].

При анализе данных литературы с целью выявить последствия этого сдвига в кроветворении для состава периферической крови оказалось, что анемии в старости, как правило, отражают какой-либо вид патологии и не связаны с возрастом [11]. Возможно, что поддержание постоянного числа эритроцитов в крови у стариков достигается увеличением времени пребывания эритроцитов в кровяном русле, о чем может свидетельствовать пропорциональное увеличение доли эритроцитов с измененной осмотической резистентностью мембран [1].

По результатам наших исследований, с возрастом не происходит значительных изменений числа гранулоцитарных колоний, хотя их объем, как эритроидных и смешанных, несколько уменьшается. Данные, полученные другими исследователями по изучению гранулоцитопоэза в КМ, числа нейтрофильных сегментоядерных гранулоцитов в периферической крови, также свидетельствуют об относительной стабильности этих показателей в поздний период онтогенеза [20]. Но существуют данные, которые указывают на снижение этих показателей [7]. Есть свидетельства изменений с возрастом некоторых биохимических и биофизических процессов (по результатам изучения цитохимических показателей), характеризующих функциональную активность лейкоцитов и моноцитов периферической крови людей: в старости снижается активность щелочной фосфатазы лейкоцитов, уменьшается содержание полисахаридов в них [2], снижается хемилюминесценция моноцитов [22]. Наличие таких изменений, вероятно, можно предположить и в лейкоцитах, и моноцитах животных.

Мегакариоцитарные колонии, в отличие от других их типов, имеют тенденцию увеличиваться с возрастом в числе. Нарастает и число клеток, составляющих эти колонии. Известна повышенная склонность к тромбообразованию в старческом возрасте. Наряду с этим описана так называемая «сенильная пурпура», отражающая склонность организма

стариков к кровотечениям. Иммунопоэз имеет существенные патологические процессы. Число тромбоцитов с возрастом обнаруживаются «старые», изменений тромбообразования, о сниженной тромбопластической способности и реактивности к простациклину [4]. То, что в системе гемостазиса достигается накоплением к таким, которые подлежат в следствии недостаточной функции.

Таким образом, сопоставляя, характеризующие способность СКК у молодых и старых животных, некоторые из которых шестенников СКК, другие ренцировки под влиянием

L. F. Andrianova

PROLIFERATIVE AND DIFFERENTIAL MARROW HEMOPOIETIC STEM

Hemopoietic bone marrow stem cells (in 12-month-old and 24-month-old irradiated animals. The number, type and content of CFU-E erythroid colonies decreased in old colonies did not change. The mean volumes of all the colony types, reflect some age-related features

Institute of Gerontology, Academy of Sciences of the USSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Войтенко В. П. Эритроциты: генетика. — 1984. — 18, № 6.
2. Германов В. А., Сергеева Т. Лейкоциты крови // Лаб. дело. — 1973. — № 11. — 98 с.
3. Епифанова О. И., Полунов В. Ток в процессе специализации науки и техники. Общие принципы. — 1973. — 11, № 11. — 98 с.
4. Михайлова И. А., Петрищев В. А. Образование у крыс // Физиол. журн. — 1973. — № 1. — 146—150.
5. Пименов Ю. С. Возрастные изменения в крови // Лаб. дело. — 1973. — № 11. — 98 с.
6. Фриденштейн А. Я., Черток И. Л. Ранние кроветворения // Физиол. журн. — 1973. — № 1. — 146—150.
7. Хаитов Р. М., Рябова Л. В. Клетки от функционально активной. — 1973. — № 1. — 146—150.
8. Цырлова И. Г., Кашлакова С. С. Селезенки на пролиферации. — 1973. — № 1. — 146—150.
9. Черток И. Л. Ранние кроветворения // Физиол. журн. — 1973. — № 1. — 146—150.
10. Beregi E., Mayerbach H. Nephritiden // Virchows Arch. — 1973. — № 1. — 146—150.
11. Blood disorders in the elderly. — New York, 1985. — 391 p.
12. Brown G., Bunce C. M., H. Mitment during hemopoiesis

нии. Резуль-
таты после вве-
дения после вве-
дения эритроидных
и КМ старых
мышей ($P < 0,02$).
с возрастом
у летально
пораженных живот-
ных с возрастом

такие важ-
ные, как их
мозга), про-
бных разно-
сительствуют
ей с возра-
ми выявлены
В большей
кроме мега-
карио пролифе-
рация может быть
с блокадой
дифференци-
ации различ-
ежду ними,
[8]. Нанбо-
сток крове-
изучаемых
енные Ибра-
ение числа

ствия этого
ови оказа-
какой-либо
то поддер-
живается
усле, о чем
ли эритро-
[1].
происходит
их объ-
емные, по-
топоза в
перифери-
альности
ушествуют
[7]. Есть
них и био-
ических по-
ейкоцитов
ся актив-
вание по-
итов [22].
в лейко-

ов, имеют
число кле-
нность к
исана так
организма

стариков к кровотечениям. Поэтому анализ мегакариоцитарного роста гемопоэза имеет существенное значение для оценки его роли в развитии патологических процессов в старости. Нет данных об изменении числа тромбоцитов с возрастом, хотя в тромбоцитограмме старых людей обнаруживаются «старые», атипичные их формы. При возрастных изменениях тромбообразования речь идет скорее о качественных сдвигах: о сниженной тромбопластической активности [5], повышенной агрегационной способности и реакции на адреналин, сниженной чувствительности к простаглинину [4]. Эти факты являются доказательством того, что в системе гемоиммунопоэза в старческом возрасте гомеостаз достигается накоплением клеток, качественно измененных, в том числе таких, которые подлежат удалению. Это в свою очередь может быть следствием недостаточной функции иммунной системы.

Таким образом, сопоставляя полученные нами результаты, характеризующие способность СКК КМ к пролиферации и дифференцировке у молодых и старых животных, можно отметить возрастные особенности, некоторые из которых формируются уже на уровне ранних предшественников СКК, другие — возникают во время дальнейшей дифференцировки под влиянием факторов внутренней среды организма.

L. F. Andrianova

PROLIFERATIVE AND DIFFERENTIATIVE PROPERTIES OF BONE MARROW HEMOPOIETIC STEM CELLS IN CBA MICE OF DIFFERENT AGE

Hemopoietic bone marrow stem cells (CFCs) of young (3-5 months) and old (23-24 months) were studied according to their ability to form colonies in spleens of the lethally irradiated animals. The number, morphology and volume of CFCs were microscopically examined. The content of CFCs remained unchanged during aging. The number of erythroid colonies decreased in old mice, while that of granulocyte-macrophage and mixed colonies did not change. The megakaryocyte colonies showed even an increase with age. Volumes of all the colony types, except megakaryocyte, reduced. The results obtained thus reflect some age-related features of early stages of the stem-cell differentiation.

Institute of Gerontology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Войтенко В. П. Эритроцит: старение клетки и старение организма // Цитология и генетика. — 1984. — 18, № 6. — С. 442—447.
2. Германов В. А., Сергеева Т. М. Возрастные изменения цитохимических показателей лейкоцитов крови // Лаб. дело. — 1972. — № 4. — С. 214—215.
3. Епифанова О. И., Полуновский В. А., Терских В. В. Регуляция размножения клеток в процессе специализации, старения и неопластической трансформации // Итоги науки и техники. Общие проблемы физико-химической биологии. — М., 1988. — Т. 11. — 98 с.
4. Михайлова И. А., Петрищев Н. Н., Ткаченко С. Б. Возрастные особенности тромбообразования у крыс // Физиол. журн. СССР. — 1986. — № 12. — С. 1643—1645.
5. Пименов Ю. С. Возрастные показатели активности фактора 3 кровяных пластинок // Лаб. дело. — 1973. — № 5. — С. 264—265.
6. Фриденштейн А. Я., Чертков И. Л. Клеточные основы иммунитета. — М.: Медицина, 1969. — 256 с.
7. Хаитов Р. М., Рябова Л. В. Зависимость дифференцировки стволовых кроветворных клеток от функционального состояния тимуса // Онтогенез. — 1978. — 9, № 4. — С. 406—411.
8. Цырлова И. Г., Кашлакова Н. В., Козлов В. А. Влияние клеток «эритропоэтической» селезенки на пролиферацию Т- и В-лимфоцитов // Иммунология. — 1986. — № 4. — С. 27—29.
9. Чертков И. Л. Ранние кроветворные клетки-предшественницы // Терапевт. архив. — 1986. — № 4. — С. 146—150.
10. Beregi E., Mayerbach H. V. Immunohistologische Untersuchungen experimentellen Nephritiden // Virchows Arch. Abt. B. Zellpath. — 1970. — Bd 4. — S. 25.
11. Blood disorders in the elderly / Ed. by M. Denham. — Edinburg — London — Melbourne — New York, 1985. — 391 p.
12. Brown G., Bunce C. M., Howie A. J., Lord J. M. Stochastic or ordered lineage commitment during hemopoiesis? // Leukemia. — 1987. — 1, N 2. — P. 150—153.

13. Chen M. G. Impaired Elkind recovery in hemopoietic colony forming cells of aged mice // Proc. Soc. Exp. Biol. Med.—1974.—145.—P. 1181—1186.
14. Curry J. L., Trentin J. J. Hemopoietic spleen colony studies. I. Growth and differentiation // Develop. Biol.—1976.—15.—P. 395—413.
15. Gelfant S., Smith J. G. Aging: noncycling cells. An explanation // Science.—1972.—178, N 4059.—P. 357—361.
16. Harrison D. E. Do hemopoietic stem cells age? // Monogr. Devt. Biol.—Basel: Karger, 1984.—Vol. 17.—P. 21—41.
17. Ibrahim N. G., Lutton J. D., Levere R. D. Erythroid colony development as a function of age: the role of marrow cellular heme // J. Gerontol.—1983.—38, N 1.—P. 13—17.
18. Inoue T., Gonkita E. P. The influence of in vivo incubation of aged murine spleen colony-forming units on their proliferative capacity // Mech. Ageing and Develop.—1983.—23.—P. 177—190.
19. Makinodan T., Chang M.-P., Kinohara N. Influence of age on cellular differentiation: a T cell model // Exp. Gerontol.—1986.—21.—P. 241—253.
20. McKinney A. A. Effect of aging on the peripheral blood lymphocyte count // J. Gerontol.—1978.—33, N 2.—P. 213—216.
21. Potten C. S., Lajtha L. G. Stem cell versus stem lines // Ann. N. Y. Acad. Sci.—1982.—P. 49—61.
22. Takashi J., Ohmoto E., Aoyama S. et al. Monocyte chemiluminescence and macrophage precursors in the aged // Acta Med. Okayama.—1985.—39, N 6.—P. 447—451.
23. Tice R. R., Schneider E. L., Kram D., Thorne P. Cytokinetic analysis of the impaired proliferative response of peripheral lymphocytes from aged humans to PHA // J. Exp. Med.—1979.—149.—P. 1029—1041.
24. Till J. E., McCulloch E. A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells // Radiat. Res.—1961.—14.—P. 213—222.
25. Till J. E., McCulloch E. A., Siminovich L. A stochastic model of stem cell proliferation based on the growth of spleen colony-forming cells // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1964.—51.—P. 29—36.

Ин-т геронтологии АМН СССР,
Киев

Материал поступил
в редакцию 11.06.89

УДК 577.355.332

С. В. Конев, С. Л. Аксентев, И. М. Окунь, А. А. Милютин

Структурная реорганизация синаптических мембран мозга и старение

Несмотря на многочисленность гипотез старения, их можно разделить на два крупных класса: генетически детерминированные и стохастические. Первые из них предполагают, что видовая продолжительность жизни запрограммирована в геноме, и включение определенных генов на заключительных стадиях онтогенеза приводит к гибели организма. Однако надежно идентифицировать подобные «гены смерти» до сих пор не удалось. Трудно себе представить также, чтобы естественный отбор, основное назначение которого — сохранение особи лишь до завершения репродуктивного периода, «загружался» созданием специальных механизмов терминации индивидуального развития. С такой точки зрения кажутся предпочтительными гипотезы второго класса, согласно которым видовая продолжительность жизни определяется устойчивостью ключевых функциональных систем к повреждающим факторам экзогенной или эндогенной природы. В этом случае геном контролирует лишь прочность биоконструкций в реальном масштабе времени и их надежность. В рамках таких представлений относительная роль конкретной функциональной системы в старении будет зависеть от ее значимости для жизнедеятельности, уникальности и места в иерархии регуляторных контуров организма. По всем этим признакам ЦНС вообще и синаптическая сеть головного мозга в особенности занимают особое положение, играя роль высшего командного пункта в регуляторных реак-

© С. В. КОНЕВ, С. Л. АКСЕНТЕВ, И. М. ОКУНЬ, А. А. МИЛЮТИН, 1990.

циях адаптации, интеграции го статуса. И. П. Павлов, и ма, впервые продемонстрир управления висцеральными в старении. Естественно, ч системе, состоящей из мно талей, в синаптической сет быть выше, чем в более про

Природу возрастных на га долгое время исследова электрофизиологическом ур ляли внимания таким вопр тических мембран мозга, с нентов, характеристики кл рецепторов. Между тем, хо напса, а следовательно, и проводимость, передача с реализуются именно на ме что в результате кооперат способности к генерализован структурных состояний, ср состава могут сопровождать ренной организации мембр перестройками белковых свойств липидного бислоя основе адаптационно-комп ханизмов действия фарма гериатрии.

Первые исследования нальной организации мем работ Лаборатории биоф фотобиологии АН БССР и логии АН БССР (ныне Ин щей статье подводятся ит ющие подходы: энзимолог мембраносвязанных ферм мембранной подвижности гации мембран, кинетики поверхностных и скрытых (оценка сродства рецепто чувствительности рецепто белка), химико-аналитиче лотный состав).

На первом этапе раб гомогенаты мозга и грубу очистки и получения изо могли бы нивелироваться и неизбежной деструкции. тельным тестом на структ лостерические свойства м которых относится ацетил подхода была обоснована ческих [6] мембран. В к использовали новокаин и фермент через регулятор графикам Хилла дозовых синапсом мозга крыс, у со зрелыми (5—6 мес) в перативные взаимодейств эффициент Хилла снижает фициента от 0,77 до 0,5

циях адаптации, интеграции, поведенческой активности, метаболического статуса. И. П. Павлов, исходя из выдвинутого им принципа невризма, впервые продемонстрировал колоссальные возможности ЦНС в управлении висцеральными функциями и роль нейрональных факторов в старении. Естественно, что как и в любой сложно организованной системе, состоящей из множества сопряженно функционирующих деталей, в синаптической сети вероятность поломок (отказов) должна быть выше, чем в более простых биологических устройствах.

Природу возрастных нарушений функциональной активности мозга долгое время исследовали на морфологическом, нейрохимическом и электрофизиологическом уровнях [14, 18]. Однако практически не уделяли внимания таким вопросам, как структурная организация синаптических мембран мозга, состояние их белкового и липидного компонентов, характеристики ключевых мембраносвязанных ферментов и рецепторов. Между тем, хорошо известно, что важнейшие функции синапса, а следовательно, и синаптической сети в целом (возбудимость, проводимость, передача сигнала к нейронам, анализ и интеграция), реализуются именно на мембранном уровне. Здесь важно подчеркнуть, что в результате кооперативных свойств биологических мембран, способности к генерализованным переходам между набором дискретных структурных состояний, сравнительно небольшие сдвиги химического состава могут сопровождаться крупномасштабными изменениями внутренней организации мембраны, сопряженными с конформационными перестройками белковых макромолекул, и модификацией физических свойств липидного бислоя [8, 9]. Сходные нарушения могут лежать в основе адаптационно-компенсаторных механизмов старения [11] и механизмов действия фармакологических препаратов, применяемых в гериатрии.

Первые исследования возрастных аспектов структурно-функциональной организации мембран начаты в 1976 г. в рамках совместных работ Лаборатории биофизики и фотобиологии мембран Института фотобиологии АН БССР и Лаборатории физиологии сектора Геронтологии АН БССР (ныне Институт радиобиологии АН БССР). В настоящей статье подводятся итоги этих исследований. Используются следующие подходы: энзимологический (измерение аллостерических свойств мембраносвязанных ферментов), конформационный (оценка внутри-мембранной подвижности спиновых зондов, рН-индуцированной агрегации мембран, кинетики дезинтеграции мембран детергентами, числа поверхностных и скрытых сульфгидрильных групп), радиолигандный (оценка сродства рецепторов к нейромедиаторам и их антагонистам, чувствительности рецепторов к реагентам на функциональные группы белка), химико-аналитический (белковый, фосфолипидный, жирнокислотный состав).

На первом этапе работы казалось целесообразным использовать гомогенаты мозга и грубую фракцию синапсом, учитывая, что в ходе очистки и получения изолированных мембран возрастные различия могли бы нивелироваться в результате смыва отдельных компонентов и неизбежной деструкции. В подобных гетерогенных системах чувствительным тестом на структурное состояние мембраны могут служить аллостерические свойства маркерных ферментов синаптолеммы, к числу которых относится ацетилхолинэстераза (АХЭ). Правомочность такого подхода была обоснована ранее для эритроцитарных [21] и синаптических [6] мембран. В качестве аллостерических модификаторов АХЭ использовали новокаин и *d*-тубокурарин, неконкурентно ингибирующие фермент через регуляторные центры, отличные от активных. Судя по графикам Хилла дозовых кривых ингибирования АХЭ грубой фракции синапсом мозга крыс, у старых животных (24—26 мес) по сравнению со зрелыми (5—6 мес) возникают и усиливаются отрицательные кооперативные взаимодействия центров, связывающих *d*-тубокурарин (коэффициент Хилла снижается от 1,0 до 0,66) и новокаин (падение коэффициента от 0,77 до 0,5). Свойства каждого из указанных центров

также значительно модифицируются при старении: значения константы ингибирования (K_i) для тубокурарина изменяются при старении от $2,8 \cdot 10^{-5}$ до $2,8 \cdot 10^{-3}$ моль/л, а K_i для новокаина сдвигается от $1,28 \times 10^3$ до $7,6 \cdot 10^{-3}$ моль/л. В то же время, взаимодействие активных центров, а также константа Михаэлиса и удельная активность одинаковы в обеих группах животных [11, 12]. Для интерпретации этих данных существенны два момента: солбоилизация мембран зрелых крыс дезоксихолатом приближает значения K_i АХЭ новокаином к значениям, характерным для старых животных; скорость тепловой инактивации мембраносвязанной АХЭ с возрастом увеличивается. В совокупности с идентичностью кинетических, электрофоретических и иммунологических характеристик изолированной АХЭ мозга молодых и старых крыс [7], это позволяет сделать вывод о том, что изменения кооперативных свойств АХЭ отражают не постсинтетическую химическую модификацию самого фермента, а возрастную реорганизацию структуры синаптических мембран [11, 12].

...яются модификацией конформации синаптических мембран при с

няются модификацией конформации и (или) взаимоотношения белков синаптических мембран при старении [1].

Обусловлены ли структурные эффекты изменениями химического состава мембран? Как уже упоминалось, белковый набор синаптических мембран от возраста не зависит. Что касается фосфолипидного состава, то при старении достоверно не изменяется содержание сфингомиелина, фосфатидилэтаноламина и общих фосфолипидов, в то время как содержание фосфатидилхолина увеличивается примерно на 10 %, а лизофосфатидилхолина — в 2 раза [1, 5]. Эти данные хорошо согласуются с данными об угнетении синтеза фосфатидилхолина в микросомах мозга старых крыс [17] и о возрастных накоплениях лизолецитина, обнаруженных в препаратах целостного мозга [22]. Жирнокислотный состав липидов модифицируется в сторону преобладания насыщенных кислот: отношение ненасыщенных жирных кислот к насыщенным снижается, составляя 1,1 — у 6—7-месячных и 0,87 — у 24-месячных животных [5].

Для оценки вклада перекисного окисления липидов (ПОЛ) в эффект «разжижения» мембраны определены содержание ацилгидроперекисей и интенсивность хемилюминесценции, инициированной перекисью водорода или озоном. Все эти эксперименты не обнаружили каких-либо признаков возрастного усиления ПОЛ в синаптических мембранах. Более того, активация перекисных процессов и в модельных, и в природных мембранах приводит к повышению, а не к выявленному нами понижению микровязкости бислоя. Рассматривая потенциальную роль модификации состава липидов в понижении микровязкости и детергентоустойчивости синаптолеммы, отметим, что уменьшение отношения фосфатидилхолина к сфингомиелину, а также повышение насыщенности жирных кислот должны приводить к увеличению микровязкости, т. е. к прямо противоположному эффекту [20]. Остается допустить, что «разжижение» мембран обусловлено накоплением лизофосфатидилхолина, который действительно снижает микровязкость липидного бислоя [19]. Здесь следует акцентировать внимание на том важном обстоятельстве, что содержание лизолецитина в мембранах невелико по сравнению с другими фосфолипидами. Однако включения в мембрану даже одной молекулы лизоформы достаточно для изменения физического состояния ста молекул других фосфолипидов [23]. Иными словами, кооперативная природа организации мембран способствует генерализации локальных возмущений, идущих от участков встраивания лизофосфатидилхолина, на значительные зоны липидного бислоя, что в свою очередь будет сказываться на конформационном состоянии включенных в него белковых макромолекул.

Учитывая крупномасштабную природу реорганизации мембран, следовало ожидать, что она приведет к изменению конформации мембраносвязанных ферментов и рецепторов. С такой точки зрения можно рассматривать упоминавшуюся ранее модуляцию аллостерических свойств и термоустойчивости АХЭ в гомогенатах мозга. Используя очищенные мембранные препараты, мы сопоставили некоторые конформационночувствительные параметры Na^+ , K^+ -АТФазы — ключевого фермента, контролирующего ионный гомеостаз нейрона, а следовательно, и мембранный потенциал, активный транспорт нейромедиаторов и т. д. В условиях оптимума каталитической активности фермента (120 ммоль/л Na^+ , 20 ммоль/л K^+ , pH 7,5; 37 °C) значения K_m и $v_{\max}$ составляют 2,8 и 134 мкмоль $\text{P}_i \cdot \text{mg}^{-1}$ белка $\cdot \text{ч}^{-1}$ соответственно и не зависят от возраста животных [13]. Хотя каталитические характеристики фермента не затрагиваются при старении, изменения могли бы проявиться на уровне регуляции фермента через белок-липидные взаимодействия, например, при введении в мембрану пертурбантов липидного бислоя. Оказалось, что Na^+ , K^+ -АТФаза старых крыс обладает повышенной чувствительностью к ингибированию этанолом — торможение активности начинается при меньших концентрациях спирта, чем у зрелых животных. Это хорошо согласуется с возрастным «разжижением»

мембран, облегчающим направленное в ту же сторону действие спирта. Поскольку свойства и концентрация оуабайн-связывающих центров отражают конформационное состояние и регуляторные возможности олигомерной молекулы Na^+ , K^+ -АТФазы, на основании кривых Скотчарда были сопоставлены значения констант диссоциации комплекса оуабайновый рецептор — лиганд (^3H -меченный оуабайн) и концентрации рецепторов оуабайна у зрелых и старых крыс.

При старении максимальное число оуабайновых рецепторов (пропорциональное концентрации молекул Na^+ , K^+ -АТФазы) увеличивается почти на 100 % (от $0,63$ до $1,1 \cdot 10^{-7}$ моль/г белка) при неизменных значениях K_d ($4,2$ — $4,6 \cdot 10^{-7}$ моль/л). На первый взгляд, это находится в противоречии с неизменностью максимальной скорости ферментативной реакции, также отражающей концентрацию работающих молекул Na^+ , K^+ -АТФазы. Анализ возможных причин подобного несоответствия привел к выводу, что при старении в синаптических мембранах происходит экспонирование скрытых (резервных) оуабайновых рецепторов за счет возрастной реорганизации структур мембранной поверхности, не сопровождающейся, однако, изменением доступности активного центра для АТФ или эффективности фосфорилирования в молекуле Na^+ , K^+ -АТФазы. Идея о существовании скрытых оуабайновых рецепторов экспериментально обоснована Айрапетяном и соавт. [2] на ганглии виноградной улитки. Далее мы проанализировали свойства β -адренергических и m -холинергических рецепторов [5, 10], относящихся к основным участникам синаптической передачи в мозгу. Радиолигандным методом с использованием адренергического антагониста ^{125}I -гидроксibenзилпindoла (ГБП) у зрелых крыс были определены значения K_d и максимальной концентрации β -адренорецепторов в синаптических мембранах, составляющие $0,57 \cdot 10^{-10}$ моль/л и $0,165 \cdot 10^{-9}$ моль/г белка. У 24-месячных животных эти значения составляют $0,89 \cdot 10^{-10}$ моль/л и $0,26 \cdot 10^{-9}$ моль/г белка. Иными словами, на стадии позднего онтогенеза в синапсах мозга при неизменности K_d для связывания антагониста (сродства к нему) повышается плотность адренергических рецепторов, что может рассматриваться как одно из проявлений адаптационно-компенсаторного механизма старения [14]. Модифицируется ли при старении конформация рецепторов? Такие эффекты часто приводят к изменению их сродства к агонисту. Кажущееся сродство β -адренорецепторов к d , l -изопротеренолу и l -норадреналину, измеренное по вытеснению мембраносвязанного ГБП различными концентрациями этих соединений, падало у старых крыс в 3 раза к изопротеренолу и в 7 раз к норадреналину. Вывод о конформационной модификации рецепторов нашел подтверждение и в более прямых экспериментах, в которых измеряли чувствительность центра связывания антагониста к специфическому реагенту на SH-группы N-этилмалеимида (НЭМ) [1, 5]. Агента добавляли к мембранам без агониста (изопротеренола) либо одновременно с ним. После предобработки с помощью НЭМ и смесью НЭМ с изопротеренолом связывание антагониста ГБП у зрелых животных снижалось. У старых животных наблюдалась совершенно иная картина: блокада SH-групп не сказывалась на связывании ГБП, столь же неэффективен был и изопротеренол. Однако после совместного действия НЭМ и агониста связывание существенно уменьшалось. По-видимому, у старых животных, в отличие от зрелых, SH-группы рецептора, принимающие участие в стереоспецифическом связывании антагониста, не доступны для НЭМ и открываются только во время конформационного перехода в рецепторе, вызванного его комплексованием с агонистом. Это свидетельствует о возрастном изменении конформационной подвижности β -адренорецептора.

Как известно, физиологическое действие β -адренергических агонистов опосредуется аденيلاتциклазной системой и включает в себя повышение сродства рецептора к регуляторному G-белку, связывающему гуаниловые нуклеотиды. Поэтому казалось естественным предположить, что возрастная модификация адренорецептора приведет к транс-

формации ответа аденилатазы. Оказалось, что хотя при активности аденилатазы мента изопротеренолом взаимодействующий с аденилатазой активен

В том же аспекте напса — мускариновые сигнала в холинергическо-зовали радиолиганд ^3H крыс предобработка НЭМ влияет на последующее животных все эти три современных представл-ских рецепторах [16], прием расстояния между в результате чего НЭМ ста. Для того чтобы у ния возрастным сниже-гичные опыты были п крыс при наличии 50 слоя. В таких условия-рецепторов старых жи-тельно способно регул-

Подытоживая сод-старение на уровне си-ная реорганизация ме-сдвига содержания ми-страняющаяся на клю-формации этих макро-но затрагивает прежд-молекулярных машин-целом. Развиваемые э-циональные нарушени-изменением баланса

S. V. Konev, S. L. Aksentsev

STRUCTURAL REORGANIZATION OF MEMBRANES AND AGING

Results of the authors' studies confirm a notion on structural reorganization results in conformational changes of receptors underlying the aging process.

Institute of Photobiology, Academy of Sciences of the Byelorussian SSR, Minsk

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамчик Е. И. Структура мозга в условиях адаптации при старении: Автореферат диссертации. — М.: Наука, 1988. — 100 с.
2. Айрапетян С. Н., Дадашян А. А. Концентрация АТФазных молекул в мембранах. — Биохим. журн., 1988. — 1003—1006.
3. Аксентев С. Л., Окуньков В. В. Структура и функция синапса. — Путино, 1988. — 100 с.
4. Аксентев С. Л., Милославский В. В. Турного состояния синапса. — Путино, 1988. — 650—652.

формации ответа аденилатциклазы на ее специфические эффекторы. Оказалось, что хотя при старении и остается неизменной базальная активность аденилатциклазы синаптических мембран, активация фермента изопротеренолом и аденозином повышается, в то время как Na, F взаимодействующий с G-белком, значительно слабее стимулирует аденилатциклазную активность [1].

В том же аспекте изучали второй основной класс рецепторов синапса — мускариновые холинорецепторы, ответственные за передачу сигнала в холинергических нейронах. В качестве антагониста использовали радиолиганд ^3H -хиноклидинилбензилат (ХНБ) [10]. У зрелых крыс предобработка НЭМ, агонистом карбохолином или их смесью не влияет на последующее связывание антагониста рецептором. У старых животных все эти три воздействия понижают связывание. Исходя из современных представлений о топографии SH-групп в *m*-холинергических рецепторах [16], подобные результаты можно объяснить уменьшением расстояния между алкилируемым тиолом и местом «посадки» ХНБ, в результате чего НЭМ стерически препятствует связыванию антагониста. Для того чтобы установить, не обусловлены ли подобные изменения возрастным снижением вязкости липидного бислоя, аналогичные опыты были проведены на синаптических мембранах зрелых крыс при наличии 50 ммоль/л бутанола, повышающего текучесть бислоя. В таких условиях рецепторы зрелых крыс приобретают свойства рецепторов старых животных, т. е. понижение вязкости действительно способно регулировать поведение *m*-холинорецепторов.

Подытоживая содержание нашего микрообзора, подчеркнем, что старение на уровне синаптических мембран протекает как кооперативная реорганизация мембранной архитектуры, возникающая вследствие сдвига содержания минорных фосфолипидов (лизолецитина) и распространяющаяся на ключевые ферменты и рецепторы. Модификация конформации этих макромолекул не носит денатурационного характера, но затрагивает прежде всего регуляторные характеристики белковых молекулярных машин и, как следствие, синаптической сети мозга в целом. Развиваемые здесь представления объясняют возрастные функциональные нарушения не синтезом каких-либо дефектных белков, а изменением баланса межмолекулярных взаимодействий в мембране.

S. V. Konev, S. L. Aksentsev, I. M. Okun, A. A. Milyutin

STRUCTURAL REORGANIZATION OF THE BRAIN SYNAPTIC MEMBRANES AND AGING

Results of the authors' studies and data from literature underlie the development of a notion on structural rearrangement of the brain synaptic membranes in aging. Reorganization results in conformational changes of the key membrane-bound enzymes and receptors underlying the age alterations of neuronal functions.

Institute of Photobiology, Academy of Sciences of the Byelorussian SSR, Minsk.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамчик Е. И. Структурно-функциональная организация синаптических мембран мозга в условиях адаптации организма к различной степени двигательной активности при старении: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Минск, 1986. — 20 с.
2. Айрапетян С. Н., Дадалян С. С., Марилян Г. Г. и др. О наличии «резервных» Na, K-АТФазных молекул в клеточных мембранах // Докл. АН СССР. — 1981. — 258, № 4. — С. 1003—1006.
3. Аксентев С. Л., Окунь И. М., Ракович А. А. и др. Влияние анестетиков на структуру и функцию синапсом мозга // Ультраструктура нейронов и фармакологические воздействия. — Пущино: Наука, 1981. — С. 3—6.
4. Аксентев С. Л., Милютин А. А., Беляева Е. И. и др. Возрастные изменения структурного состояния синаптических мембран мозга // Биофизика. — 1982. — 27, № 4. — С. 650—652.

5. Аксентьев С. Л., Окунь И. М., Милотин А. А. и др. Сравнительное исследование β -адренорецепторов синаптических мембран мозга // Биофизика.— 1982.— 27, № 1.— С. 156—157.
6. Вологовский И. Д., Шейко Л. М., Финин В. С. и др. Влияние структурного состояния синаптосомальной мембраны на каталитические свойства ацетилхолинэстеразы // Изв. АН БССР.— Сер. биол. наук.— 1976.— № 5.— С. 60—70.
7. Канунго М. Биохимия старения.— М.: Мир, 1982.— 250 с.
8. Конев С. В., Аксентьев С. Л., Черницкий Е. А. Кооперативные переходы белков в клетках.— Минск: Наука и техника, 1970.— 202 с.
9. Конев С. В. Структурная лабильность биологических мембран и регуляторные процессы.— Минск: Наука и техника, 1987.— 239 с.
10. Лыскова Т. И., Окунь И. М., Милотин А. А. и др. Исследование мускариновых холинорецепторов синаптических мембран мозга животных разного возраста // Биофизика.— 1983.— 28, № 4.— С. 709—710.
11. Милотин А. А., Аксентьев С. Л., Окунь И. М. и др. Сравнительные исследования структурного состояния синаптосомальных мембран мозга животных с различной продолжительностью жизни при старении // Демографические, физиологические и биохимические аспекты старения.— Минск: Наука и техника.— 1976.— С. 72—79.
12. Милотин А. А., Окунь И. М., Аксентьев С. Л. и др. О возрастных изменениях аллостерических свойств ацетилхолинэстеразы мозга // Биофизика.— 1976.— 21, № 6.— С. 1120—1122.
13. Милотин А. А., Беляева Е. И., Буланова К. Я. и др. Структурно-функциональные изменения синаптических мембран мозга при старении // Там же.— 1984.— 29, № 4.— С. 640—642.
14. Фролькис В. В. Старение. Нейрогуморальные механизмы.— Киев: Наук. думка, 1981.— 320 с.
15. Armbricht H., Birnbaum L., Zenser T., Davis B. Changes in hepatic microsomal membrane fluidity with age // Exp. gerontology.— 1982.— 17, N 1.— P. 41—48.
16. Aronstam R., Abood L., Hoss W. Influence of sulfhydryl reagents and heavy metals on the functional state of the muscarinic acetylcholine receptor in rat brain // Mol. Pharmacol.— 1978.— 14, N 4.— P. 575—586.
17. De Medio G. F., Tovaralli G., Piccinin G., Porcelati G. The effect of cytidine — diphosphate choline (CDP — choline) on brain lipid change during aging // J. Neurosci. Res.— 1984.— 11, N 1.— P. 49—58.
18. Finch C. E. The regulation of physiological changes during mammalia aging // Quart. Rev. Biol.— 1976.— 51, N 1.— P. 49—83.
19. Morris D., McNeil R., Castellino F., Thomas J. Interaction of lysophosphatidylcholine with phosphatidylcholine bilayers. A photophysical and NMR study // Biochim. et biophys. acta.— 1980.— 599, N 2.— P. 380—390.
20. Shinitzky M., Henkart P. Fluidity of cell membranes-current concepts and trends // Int. Rev. Cytol.— 1979.— 60, N 2.— P. 982—999.
21. Sineriz F., Farias R., Trucco T. The convenience of the use of allosteric «probes» for the study of lipid-protein interactions in biological membranes: thermodynamic considerations // J. Theor. biol.— 1975.— 52, N 1.— P. 113—120.
22. Sun A., Sun J. Neurochemical aspects of the membrane hypothesis of aging // Interdiscipl. Topics Gerontol.— 1979.— 15, N 1.— P. 34—53.
23. Van Echteld C., De Kruijff B., Mandersloot J., De Gier J. Effects of lysophosphatidylcholines on phosphatidylcholine and phosphatidylcholine/cholesterol liposome systems as revealed by ^{31}P -NMR, electron microscopy and permeability studies // Biochim. et biophys. acta.— 1981.— 649, N 2.— P. 211—220.

Ин-т фотобиологии АН БССР,
Минск

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

УДК 612.822.1/3:546.41:612.67

Д. Сатрустеги, Е. Богонез, Ж. Виторики,
П. Бланко, А. Мартинез-Серрано

Изменения кальцийтранспортных систем в синаптосомах мозга крыс и их возможное участие в патофизиологии старения

Ионы кальция играют важную роль в нейромедиации. В области плазматической мембраны кальций запускает секрецию медиатора в нервных синапсах. Вероятно, ионы кальция вступают во взаимодействие с

© Д. САТРУСТЕГИ, Е. БОГОНЕЗ, Ж. ВИТОРИКИ, П. БЛАНКО,
А. МАРТИНЕЗ-СЕРРАНО, 1990.

кальцийсвязывающими белками цитозоля. Однако выделение р-синапсов [35]. Известно также, что ключевые ферменты активации протенинфосфатазы, фосфорилирующие регуляторы могут участвовать в энергетических соединениях, а также в мембране) и элемент мы принимают участие в к-мост и пластичность). По-ция, играют решающую ро-стемы. Раскрытие под влия-кальциевых каналов (ПЗК-низом повышения уровн-Важными механизмами, у-золя после активации нейр-ми органеллами (митохонд-и выведение через плазмат-и Na_2Ca -обменника [5, 7]

Кальциевые каналы. В висимых каналов, так назы-зация каналов на плазма-идентификация в нервных

Первые доказательства бы-быть снижен при старен-новили снижение обуслов-наптосомах 24-месячных и 3-месячных животных. Им-ные с функцией ПЗКК), $^{45}\text{Ca}^{2+}$ с возрастом. Напр-только раскрытие ПЗКК,-собствует входу кальция-ющих работах, проведен-старении было проанали-вклада Na/Ca -обменника-поддерживаемой на пост-ризации.

При определении ме-хвата кальция при раз-возраста обнаружено, чт-ся с возрастом при раз-установили каких либо-центрациях K^+ . Эти дан-ранного потенциала, вер-ция при старении. Боле-напряжения у 3- и 24-м-мального захвата каль-месячных крыс, в то вр-зации (V) не изменялос-

Исследования синап-что в синаптосомах про-тивация ПЗКК-опосредс-му, который описан в э-в связи с тем, что шк-значительно отличается-ваниях, определение си-тивации, остается спорн-ческим блокаторам кан-

В исследованиях кр-сячных крыс, проведен-

кальцийсвязывающими белками на разных этапах везикулярного экзотоза. Однако выделение рецептора кальция остается безуспешным до сих пор [35]. Известно также, что внутриклеточный кальций регулирует ключевые ферменты активности нейронов, такие как протеинкиназы, протеинфосфатазы, фосфолипазы и кальцийзависимые протеазы. Эти различные регуляторы могут действовать на различные белки (в частности, участвующие в энергетическом обмене и обмене нейронспецифических соединений, а также регулирующие возбудимость плазматической мембраны) и элементы цитоскелета. Кальцийрегулируемые системы принимают участие в кратко- и долгосрочных процессах (возбудимость и пластичность). Поэтому факторы, регулирующие уровень кальция, играют решающую роль в нормальной деятельности нервной системы. Раскрытие под влиянием деполяризации потенциалзависимых кальциевых каналов (ПЗКК), по-видимому, является основным механизмом повышения уровня кальция в цитозоле нервных окончаний. Важными механизмами, участвующими в выведении кальция из цитозоля после активации нейрона, являются его депонирование клеточными органеллами (митохондриями и эндоплазматическими мембранами) и выведение через плазматическую мембрану посредством Ca^{2+} -АТФазы и Na_2/Ca_1 -обменника [5, 7].

Кальциевые каналы. Нейроны имеют различные типы потенциалзависимых каналов, так называемые Т-, L- и N-типы [29]. Однако локализация каналов на плазматической мембране неравномерна [19], а их идентификация в нервных окончаниях по-прежнему противоречива.

Первые доказательства того, что вход кальция через ПЗКК может быть снижен при старении, получены Peterson и Gibson [30]. Они установили снижение обусловленного деполяризацией захвата $^{45}\text{Ca}^{2+}$ в синаптических терминалах 24-месячных крыс по сравнению с таковым в синаптических терминалах 3-месячных животных. Имеются некоторые другие факторы (не связанные с функцией ПЗКК), которые могли бы вызывать снижение захвата $^{45}\text{Ca}^{2+}$ с возрастом. Например, деполяризация синапсом вызывает не только раскрытие ПЗКК, но и обратимость Na/Ca -обменника, что способствует входу кальция в клетку (Na_1/Ca_0 -режим) [9, 21]. В последующих работах, проведенных в нашей лаборатории, состояние ПЗКК при старении было проанализировано в условиях сведения к минимуму вклада Na/Ca -обменника низкой концентрацией кальция (32 ммоль/л), поддерживаемой на постоянном уровне в течение периода деполяризации.

При определении мембранного потенциала синапсом ($\Delta\psi$) и захвата кальция при разных концентрациях калия у крыс различного возраста обнаружено, что количество захваченного кальция снижается с возрастом при различных условиях деполяризации [21]. Мы не установили каких-либо различий $\Delta\psi$ с возрастом при различных концентрациях K^+ . Эти данные свидетельствуют о том, что эффекты мембранного потенциала, вероятно, не вовлечены в снижение захвата кальция при старении. Более того, анализ зависимости захвата $^{45}\text{Ca}^{2+}$ от напряжения у 3- и 24-месячных крыс показал, что значения максимального захвата кальция были приблизительно на 22 % ниже у 24-месячных крыс, в то время как среднее значение напряжения активации (V) не изменялось при старении (рис. 1) [21].

Исследования синапсом с применением токов $^{45}\text{Ca}^{2+}$ показали, что в синаптических терминалах происходит потенциал- и кальцийзависимая инактивация ПЗКК-опосредованного захвата $^{45}\text{Ca}^{2+}$ [27, 36], подобного тому, который описан в электрофизиологических исследованиях. Однако в связи с тем, что шкала времени в экспериментах с токами $^{45}\text{Ca}^{2+}$ значительно отличается от таковой в электрофизиологических исследованиях, определение синапсоматальных ПЗКК, подвергающихся инактивации, остается спорным. Более того, их чувствительность к органическим блокаторам каналов кальция четко не выявляется.

В исследованиях кинетики инактивации захвата $^{45}\text{Ca}^{2+}$ у 3- и 24-месячных крыс, проведенных в условиях ограничения вхождения кальция

(«потенциалзависимой инактивации») или свободного вхождения кальция («потенциал- и кальцийзависимой инактивации»), установлено, что максимальная инактивация, наблюдаемая у 24-месячных крыс, была меньшей, чем у 3-месячных животных. Кроме того, полупериод распада был также длиннее у старых животных в обоих условиях (рис. 2) [23].

В серии параллельных исследований у 3-месячных крыс установлено, что нифедипин (1,0 мкмоль/л), добавленный в преинкубационную среду, восстанавливал на 20 % захват $^{45}\text{Ca}^{2+}$ во все периоды экспери-

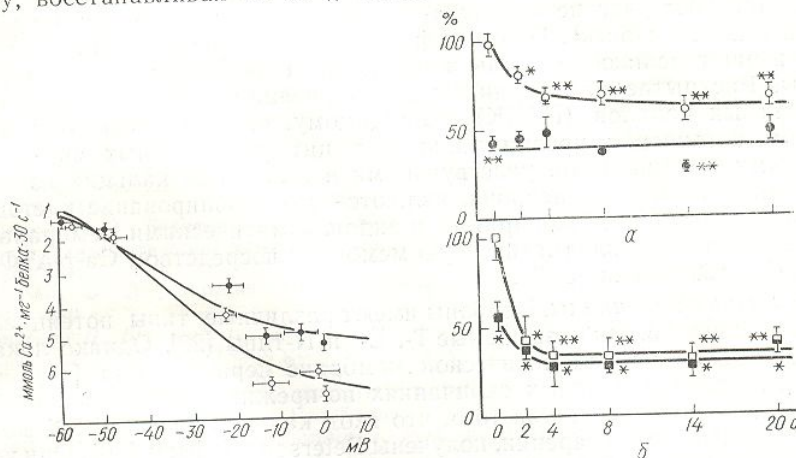


Рис. 1. Зависимость захвата $^{45}\text{Ca}^{2+}$ от мембранного потенциала (МП) в среде, содержащей холлин.

Захват кальция нормализовали по $\text{Ca}_{\text{макс}}$ (максимальный захват у 3-месячных крыс), а уравнение Больцмана $\text{Ca}_{\text{макс}}[(1 + \exp(\bar{V} - V)]K$ решали по экспериментальным данным, где $\bar{V}$ — среднее напряжение активации, K — фактор крутизны. При этом получены следующие значения: $K = (13,5 \pm 2,0) \text{ мВ}^{-1}$, $\bar{V} = (-36,24 \pm 2,6) \text{ мВ}$ у 3-месячных крыс (светлые символы) и $K = (14,66 \pm 2,4) \text{ мВ}^{-1}$, $\bar{V} = (-40,50 \pm 3,2) \text{ мВ}$ у 24-месячных животных (темные символы). Эти результаты нанесены относительно соответствующего МП, определяемого по TRP+ [21].

Рис. 2. Инактивация захвата кальция, стимулированного K^{+} , в синапсоммах 3- (светлые символы) и 24- (темные символы) месячных крыс.

Синапсомы (2 мг белка/мл) от 3- и 24-месячных крыс были преинкубированы в течение 5 мин при температуре 30°C в среде с низкой концентрацией K^{+} (5,0 ммоль/л), после чего аликваты перенесли в среды с высокой (65 ммоль/л) или низкой (5 ммоль/л) концентрацией K^{+} , не содержащие носили в среды с высокой (65 ммоль/л) или низкой (5 ммоль/л) концентрацией CaCl_2 (а) или содержащие (б) 0,5 ммоль/л CaCl_2 . В обозначенные периоды времени добавляли CaCl_2 до конечной концентрации 50 ммоль/л и радиоактивную метку (0,75 мКи $^{45}\text{Ca}^{2+}$, мл; а) или только радиоактивную метку (б). Захват кальция регистрировали через 2 с. Результаты выражали в процентах K^{+} -стимулированного (высокая концентрация минус низкая) захвата $^{45}\text{Ca}^{2+}$ в нулевое время у 3-месячных крыс — $(0,089 \pm 0,006) \text{ нмоль} \cdot \text{мл}^{-1} \text{ белка} \cdot 2 \text{ с}^{-1}$ на позиции а и $(0,747 \pm 0,09) \text{ нмоль} \cdot \text{мг}^{-1} \text{ белка}$ — на позиции б. В случае а среды преинкубации и деполяризации содержали 25 мкмоль/л ЭГТА для исключения загрязнения эндогенным кальцием. Достоверность различий со значениями, полученными в нулевое время: * $P < 0,1$; ** $P < 0,0125$ [23].

мента по изучению инактивации (рис. 3) [23]. Этот эффект нифедипина на кинетику инактивации ПЗКК-опосредованного входа $^{45}\text{Ca}^{2+}$ свидетельствует о том, что дигидропиридины блокируют какую-то часть захвата $^{45}\text{Ca}^{2+}$, которая не инактивировалась в течение эксперимента (20 с). Интересно отметить, что оставшаяся часть неинактивировавшегося посредством ПЗКК нифедипинчувствительного захвата $^{45}\text{Ca}^{2+}$ была выражено снижена у 24-месячных животных (см. рис. 3). Более того, нифедипинрезистентный, чувствительный к инактивации, захват $^{45}\text{Ca}^{2+}$ был также снижен при старении (см. рис. 3). Эти результаты в какой-то мере удивительны, так как связывание верапамила с возрастом повышается в синапсомальных мембранах мозга крысы [4], хотя, как предполагают, верапамил взаимодействует с тем самым L-типом каналов кальция, которые связывают дигидропиридины.

Митохондрии. Давно известно, что митохондрии относятся к внутриклеточным органеллам со сравнительно более высокой способностью к накоплению кальция. Транспорт кальция в митохондриях мозга крысы состоит из следующих двух отдельных систем: унипорта каль-

ция, запускаемого электромиальную мембрану, и в результате которого один из Na^{+}). При устойчивом состоянии в митохондриальной мембране скорость входа и скорости

Несмотря на высокую кальций, полагают, что их токоля незначительно, так

Рис. 3. Эффект нифедипина 18644 на потенциалзависимую и кальцийзависимую инактивацию захвата $^{45}\text{Ca}^{2+}$, стимулированного K^{+} .

Инактивацию K^{+} -стимулированного $^{45}\text{Ca}^{2+}$ у 3- (светлые символы) или 24- (темные символы) месячных крыс измеряли в среде с 1,0 мкмоль/л нифедипина (а) или 1,0 мкмоль/л ВАУ-К-8644 (трехкратные добавления в начале преинкубации этих добавлений (кружочки)). И проводили в бескальциевой среде с 0,5 ммоль/л CaCl_2 (б). До различий между показателями без нифедипина: * $P < 0,1$; ** $P < 0,0125$ [23].

порта относительно низкого уровня возник в связи с полиамины способствуют кальцию в системе унипорта

При старении способность энергии остается неизменной дыхательных субстратов [38]. Однако вход хондрии значительно снижается при старении, следовательно при старении, следовательно экстрамитохондриальном (рис. 5) [39].

Результаты, полученные о том, что установленный спортивный кальций, вероятно, в этих авторах изучали в хондриях и экстрамитохондриях методом разрыва дильного $^{45}\text{Ca}^{2+}$ уменьшаются выводам, используя другие (карбонилцианид-4,3-фторполиризованных калием) быстрого выделения кальция, митохондриальное деления соотношение КЦФМГ-выделяемый $^{45}\text{Ca}^{2+}$ митохондриально-экстрамитохондриальных животных состав старых, 24-месячных, животных распределения кальция наблюдается в изолированных результаты явно свидетеле

вхождения
установле-
нных крыс,
полупериод
условиях

установле-
базионную-
ы экспери-

xx
—
—
—

—

xx
—
—
—

20 с

среде, содер-

се), а уравнение
де V — среднее
и значения;
и $K = (14,66 \pm$
Эти результаты

сомах 3- (свет-

з течение 5 мин
аликвоты пере-
не содержащие
добавляли CaCl_2
 Ca^{2+} , мл; а) и
таты выражали
 Ca^{2+} в нулевое
а и $(0,747 \pm$
изации содер-
стоверность раз-

ект нифеди-
ода $^{45}\text{Ca}^{2+}$
ую-то часть
ксперимента
ивировавшие
вата $^{45}\text{Ca}^{2+}$
рис. 3). Бо-
гивации, за-
Эти резуль-
рапамила с
озга крысы
рем самым
ридинны.

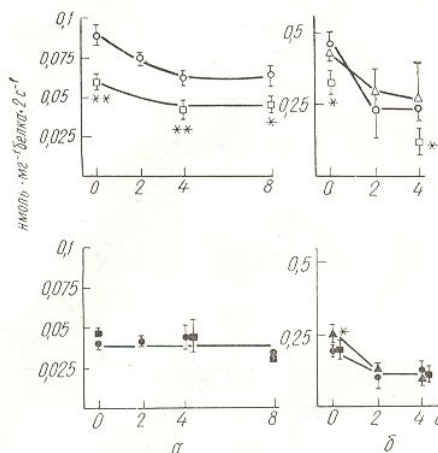
ся к внутри-
способностью
дриях мозга
порта каль-

ция, запускаемого электрохимическим его градиентом через митохондриальную мембрану, и электронейтрального антипорта кальция, в результате которого один ион (Ca^{2+}) обменивается на два иона (H^+ или Na^+). При устойчивом состоянии (steady state) распределение кальция в митохондриальной мембране отражает кинетическое равновесие, когда скорость входа и скорость выхода сбалансированы [28].

Несмотря на высокую способность митохондрий к накоплению кальция, полагают, что их реальное значение как буфера кальция цитозоля незначительно, так как аффинность к кальцию в системе уни-

Рис. 3. Эффект нифедипина и ВАУ-К-8644 на потенциалзависимую (а) и на потенциал- и кальцийзависимую (б) инактивацию захвата $^{45}\text{Ca}^{2+}$, стимулированного K^+ .

Инактивацию K^+ -стимулированного захвата $^{45}\text{Ca}^{2+}$ у 3- (светлые символы) или 24- (темные символы) месячных крыс измеряли при наличии 1,0 мкмоль/л нифедипина (квадратики) или 1,0 мкмоль/л ВАУ-К-8644 (треугольники), добавленные в начале преекспозиции, или без этих добавлений (кругочки). Инактивацию проводили в бескальциевой среде (а) или в среде с 0,5 ммоль/л CaCl_2 (б). Достоверность различий между показателями без или с нифедипином: * $P < 0,1$; ** $P < 0,0125$ [23].



порта относительно низка (около 1 мкмоль [28]). Так ли это? Этот вопрос возник в связи с полученными недавно данными о том, что полиамины способствуют значительному повышению аффинности к кальцию в системе унипорта [14].

При старении способность митохондрий мозга к преобразованию энергии остается неизменной, даже если использование определенных дыхательных субстратов (например, глутамата) может быть сниженным [38]. Однако вхождение кальция посредством унипорта в митохондрии значительно снижено (рис. 4) [18, 39]. Вследствие этого распределение кальция по обе стороны митохондриальной мембраны изменяется при старении, сдвигаясь в сторону более высоких значений распределения экстрамитохондриального кальция у старых крыс (рис. 5) [39].

Результаты, полученные Peterson и соавт. [31], свидетельствуют о том, что установленный в изолированных митохондриях дефект транспорта кальция, вероятно, имеется и в синаптосомальных митохондриях. Эти авторы изучали распределение синаптосомального $^{45}\text{Ca}^{2+}$ в митохондриях и экстрамитохондриальных фракциях, полученных с помощью метода разрыва дигитонином, и установили, что доля митохондриального $^{45}\text{Ca}^{2+}$ уменьшается при старении. Мы пришли к аналогичным выводам, используя другой подход, основанный на применении КЦФМГ (карбонилцианид-4,3-флюорометоксифенилгидразона) в опытах на деполаризованных калием синаптосомах. Этот разобщитель способствует быстрому выделению кальция, представляющего собой, как предполагают, митохондриальный кальциевый пул. В условиях данного определения соотношение КЦФМГ-выделяемый $^{45}\text{Ca}^{2+}$: (общий $^{45}\text{Ca}^{2+}$ — КЦФМГ-выделяемый $^{45}\text{Ca}^{2+}$), которое может быть представлено как митохондриально-экстрамитохондриальный коэффициент, у 3- и 12-месячных животных составляет 0,62 и 0,59 соответственно, тогда как у старых, 24-месячных, животных — лишь 0,39. Поскольку это изменение распределения кальция в синаптосомах аналогично тому, которое наблюдается в изолированных митохондриях (см. рис. 5), наши результаты явно свидетельствуют о том, что дефект транспорта каль-

ция имеется как в свободных, так и в интрасинаптических митохондриях [39].

Становится ясным, что кальций, накопленный в митохондриях, выступает в качестве регулятора митохондриальных дегидрогеназ [13, 20]. Эта роль вполне может выполняться, независимо от того, что значительная доля митохондриального кальция находится в связанной форме и поэтому является метаболически инертной, поскольку ответственной за регуляцию дегидрогеназ может быть очень небольшая доля ионизированного кальция. В результате исследования выхода кальция

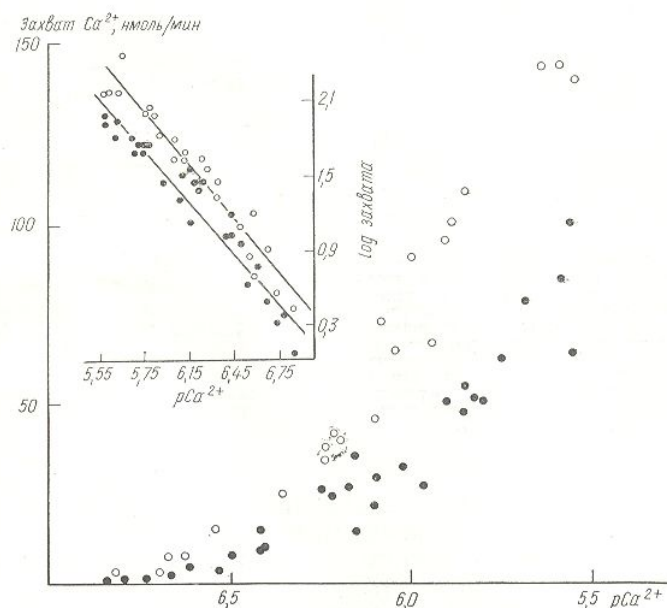


Рис. 4. Возрастные колебания захвата Ca^{2+} митохондриями мозга крыс.

Митохондрии мозга (0,6 мг белка) от 3- (светлые символы) или 24- (темные символы) месячных крыс инкубировали в среде с 0,32 моль/л маннитола, 10 нмоль/л tris-HCl , 20 ммоль/л KCl , 0,1 % бычьего сывороточного альбумина, свободного от жирных кислот (pH 7,4), 2,5 ммоль/л сукцината (калиевая соль), 0,4 мкмоль/л ротенона, 0,8 ммоль/л P_i , 0,2 ммоль/л АДФ, 0,4 ммоль/л олигомицина-мг $^{-1}$ белка, приготовленной на нитрилоацетатном Ca^{2+} -буфере и при различных кальциевых нагрузках. Изменение содержания Ca^{2+} определяли с помощью кальцийчувствительного электрода. Захват кальция определяли после добавления калибровочной дозы кальция, рассчитывая разницу концентраций, наблюдаемых после каждой добавки кальция. Вставка показывает логарифм изменения захвата Ca^{2+} относительно $p\text{Ca}$ в митохондриях мозга старых и взрослых крыс. Наклоны и пересечения этих линий были достоверно различимыми ($P < 0,0001$) [39].

из митохондрий установлено, что при эквивалентных дозах «нагрузки» кальцием выход кальция, наблюдающийся в условиях достатка или нехватки Na^+ , был меньше у 24-месячных крыс, чем у 3-месячных [40]. Этот дефект, вероятно, вызван уменьшением в матриксе митохондрий достаточного для выделения количества свободного кальция, так как этот дефект наблюдался также при стимуляции выхода кальция ионофором для кальция А 23187, т. е. в ситуации, когда опосредованные носителем эффекты исключаются [40].

Поскольку фосфат (P_i) является одним из основных компонентов кальцийбуферной системы в митохондриальной матрице [37] и его количество значительно увеличено в митохондриях старых животных [40], возможно, что увеличение количества P_i может быть ответственно за повышение буферной емкости кальциевого митохондриального матрикса у старых животных.

Если митохондрии мозга старых животных захватывают меньше кальция, чем митохондрии взрослых животных, и свободная фракция кальция в матриксе митохондрий старых животных меньше, чем у взрослых, то вследствие этого может быть существенное ухудшение активации кальцием митохондриальных ферментов у старых живот-

ных. Действительно, мы полагаем, что это может касаться пи-

Кальций цитозоля. Притом, что гомеостаз кальция при старении [12]. Кроме $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник [18, 21], мы, участвующие в выведении рану, также модифицируют свободного кальция ($[\text{Ca}^{2+}]_i$)

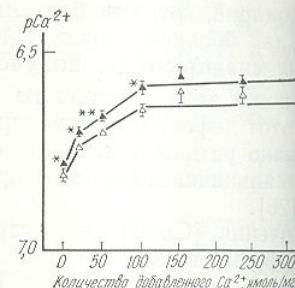


Рис. 5. Устойчивое распределение с 0,2 ммоль/л АДФ и 0,8 ммоль/л Митохондрии мозга (0,6 мг белка) в 0,8 ммоль/л P_i , 0,2 ммоль/л АДФ, 0,4 ацетатном Ca^{2+} -буфере при наличии определяли после добавления различия Достоверность различий устойчивого крыс оценивали с помощью критерия t

Рис. 6. Концентрация кальция в сечных крыс.

Средние значения $\pm$ стандартная ошибка (б, в), инкубировали метил)-этилендиамин (ТНЭД, 5 мин) пость различий: * $P < 0,01$; ** $P < 0,005$; ***

регулирующей внутриклеточной важно выяснить, как эти ф

На рис. 6 приведены данные синапсом 3- и 24-месячных использованием флуоресцентных значения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ и в покое, резко повышены у старых нала зонда Квин-2 воздействию мы преинкубировали в течение (2 пиридилметил)-этилендиамин желых металлов, перед оп влияла на различие значений рых животных (рис. 6).

Ввиду выраженного пов животных с возрастом, [Ca] собами, чтобы избежать ограниченной емкостью зонда Квин-2 модифицированного метода и соавт. [41]. Использование значений $[\text{Ca}^{2+}]_i$ с возра

Показано, что количество бластов кожи человека уменьшили также, что рост культуры более медленный, чем взятых с собственный для культуры клеток клеток кальциевым ионо

митохонд-
риях, вы-
геназ [13,
о, что зна-
связанной
ку ответст-
вляющая доля
ка кальция

ных. Действительно, мы получили данные, свидетельствующие о том, что это может касаться пируватдегидрогеназы [6, 33].

Кальций цитозоля. Представленные результаты свидетельствуют о том, что гомеостаз кальция в синапсосах мозга крыс нарушается при старении [12]. Кроме дефектов вхождения $^{45}\text{Ca}^{2+}$ через ПЗКК и Na_i/Ca_o -обменник [18, 21], имеется также сообщение о том, что системы, участвующие в выведении кальция через синапсосальную мембрану, также модифицируются при старении [25]. Концентрация свободного кальция ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) в цитозоле является основной переменной,

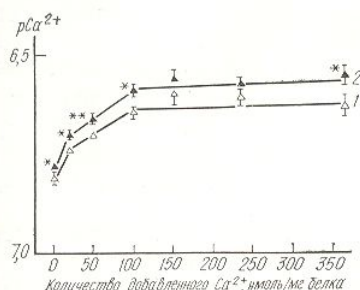


Рис. 5. Устойчивое распределение Ca^{2+} в митохондриях мозга, инкубированных в среде с 0,2 ммоль/л АДФ и 0,8 ммоль/л P_i .

Митохондрии мозга (0,6 мг белка) взрослых (1) и 27-месячных (2) крыс инкубировали в среде с 0,8 ммоль/л P_i , 0,2 ммоль/л АДФ, 0,4 ммоль/л олигомицина-мг $^{-1}$ белка, приготовленной на нитрило-ацетатном Ca^{2+} -буфере при наличии сукцината (кальевая соль). $p\text{Ca}$ устойчивого состояния определяли после добавления различных доз кальция с помощью кальцийчувствительного электрода. Достоверность различий устойчивого распределения Ca между митохондриями взрослых и старых крыс оценивали с помощью критерия t Стьюдента: * $P < 0,05$; ** $P < 0,025$ [39].

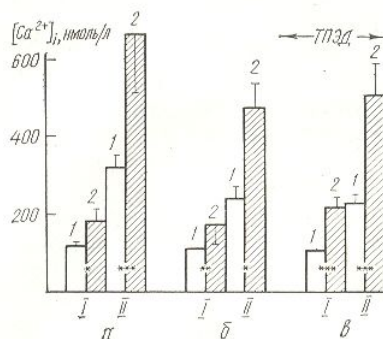


Рис. 6. Концентрация кальция в цитозоле синапсосом ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 3- (1) и 24- (2) месячных крыс.

Средние значения $\pm$ стандартная ошибка для $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в синапсосах (а) или грубых синапсосомальных фракциях (б, в), инкубированных без или с 20 мкмоль/л $\text{N}_i\text{N}_i\text{N}_i\text{N}'$ -тетракис (2 пиридил-метил)-этилендиамина (ТПЭД, 5 мин преинкубации). I—5 ммоль/л K^+ ; II—65 ммоль/л K^+ . Достоверность различий: * $P < 0,01$; ** $P < 0,005$; *** $P < 0,025$ [22].

регулирующей внутриклеточные эффекты кальция. В связи с этим было важно выяснить, как эти факторы могли бы сами влиять на $[\text{Ca}^{2+}]_i$.

На рис. 6 приведены данные о концентрации кальция в цитозоле синапсосом 3- и 24-месячных крыс, полученные в экспериментах с использованием флуоресцентного зонда Квин-2 [22]. Установлено, что значения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в покое, и после K^+ -индуцированной деполяризации резко повышены у старых животных. Чтобы избежать угнетения сигнала зонда Квин-2 воздействием тяжелыми металлами [2], синапсосомы преинкубировали в течение 5 мин с 20 мкмоль/л $\text{N}_i\text{N}_i\text{N}_i\text{N}'$ -тетракис (2 пиридилметил)-этилендиамина (ТПЭД), проникаемого хелатора тяжелых металлов, перед определением $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Эта процедура не повлияла на различие значений $[\text{Ca}^{2+}]_i$ между группами взрослых и старых животных (рис. 6).

Ввиду выраженного повышения концентрации кальция в цитозоле животных с возрастом, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ определялась двумя различными способами, чтобы избежать ограничений, обусловленных высокой буферной емкостью зонда Квин-2, а именно: с помощью фура-2-метода и модифицированного метода пулевой точки, разработанного Williamson и соавт. [41]. Использование обоих этих методов подтвердило увеличение значений $[\text{Ca}^{2+}]_i$ с возрастом [22].

Показано, что количество свободного кальция в цитозоле фибробластов кожи человека уменьшается с возрастом [32]. Авторы показали также, что рост культуры клеток, взятых от старых доноров, более медленный, чем взятых от молодых доноров, и этот феномен, свойственный для культуры клеток старых доноров, устраняется обработкой клеток кальциевым ионофором А 23187. Если возрастные изменения

30-мн) месячных
оль/л KCl , 0,1 %
оль/л сукцината
ль/л олигомици-
ных кальциевых
ного электрода,
читывая разницу
логарифм изме-
крыс. Наклоны и

«нагрузки»
остатка или
ячных [40].
митохондрий
ния, так как
кальция ионо-
средованные

компонентов
[37] и его
х животных
ответствен-
ндриального

ают меньше
ная фракция
ныше, чем у
е ухудшение
арых живот-

кальциевого равновесия общие для человека и крысы, то результаты культивирования клеток свидетельствуют о том, что изменения концентрации кальция в цитозоле являются тканеспецифическими, поскольку, во-первых, инкубация с А 23187 (от 0,5 до 5,0 мкмоль/л), значительно усиливающим захват кальция и выделение ацетилхолина в синапсосамах, не исключает возрастного снижения выделения ацетилхолина, наблюдаемого у 24-месячных крыс [24]; во-вторых, данные, полученные Landfield и Pitler [16] на нейронах гиппокампа, а также результаты наших собственных исследований, полученные на синапсосамах мозга, свидетельствуют о том, что $[Ca^{2+}]_i$ в нейронах более высокая в старости.

Молекулярные механизмы, ответственные за повышение $[Ca^{2+}]_i$ с возрастом, пока не известны. Дефект митохондрий, который был описан выше, возможно, частично ответствен за большое увеличение $[Ca^{2+}]_i$, наблюдаемое в K^+ -деполяризованных синапсосамах, полученных от старых крыс, но из-за низкой аффинности этой органеллы к кальцию [28] до сих пор не ясно, влияет ли этот дефект на концентрацию кальция в интактных синапсосамах. Однако ретикулярные насосы и насосы плазматической мембраны [25] или кальцийсвязывающие протеины могут быть вовлечены в этот процесс [26].

Независимо от возможных причин увеличения $[Ca^{2+}]_i$ при старении, вероятно, это увеличение имеет важные физио-патологические последствия для функции нейрона. В нейронах улитки и клетках GH3 дигидропиридинчувствительные ПЗКК могут инактивироваться в результате необратимой кальцийзависимой деградации или вследствие дефосфорилирования эндогенных кальцийзависимых фосфатаз [1, 10]. Представляется убедительным то, что повышенные значения $[Ca^{2+}]_i$ при старении, вероятно, вызваны прекращением функционирования дигидропиридинчувствительных ПЗКК в синапсосамах старых крыс.

В настоящее время общепризнано, что «сверхнагрузка» клеток кальцием может вызывать определенные типы гибели клеток. Так, избыточный вход Ca^{2+} , по-видимому, приводит к нескольким категориям повреждений лимфоцитов, гепатоцитов и мышечных клеток посредством мембраноактивных токсинов или нейромедиаторов [11, 15, 17, 34]. Кроме того, имеются данные, указывающие на то, что «сверхнагрузка» клеток кальцием может являться патогенетическим механизмом при возникновении гипоксически-ишемического повреждения нейрона [8]. Существует много возможных причин, почему сохраняющееся увеличение $[Ca^{2+}]_i$ является токсичным. Среди специфических событий, вызванных избытком $[Ca^{2+}]_i$, можно назвать активацию внутриклеточных протеаз и липаз, которая может привести к необратимому повреждению клетки. Даже если цепь событий, начинающаяся патологическим увеличением $[Ca^{2+}]_i$ и ведущая к гибели клетки, останется до конца неизвестной, вероятно, увеличение $[Ca^{2+}]_i$ при старении может быть возрастспецифическим фактором риска для повреждения нейрона.

J. Satrustegui, E. Bogóñez, J. Vitórica, P. Blanco,
A. Martínez-Serrano

ALTERATIONS IN THE CALCIUM-TRANSPORT SYSTEMS OF THE RAT BRAIN SYNAPTOSOMES AND THEIR POSSIBLE INVOLVEMENT IN THE PATHOPHYSIOLOGY OF AGEING

Studies were undertaken on the age-associated peculiarities of the Ca^{2+} transport systems of the rat brain synaptosomes. It has been found that $^{45}Ca^{2+}$ uptake reduced with ageing. The above reduction was not linked with the changes in the permeability of potential-dependent synaptosomal membrane Ca^{2+} depending upon the membrane potential. The distribution of calcium across the mitochondrial membrane changed with ageing, shifting towards higher extramitochondrial calcium levels in old rats, both in isolated and in synaptosomal mitochondria. While studying calcium efflux from mitochondria, it was

found that, at equivalent calcium levels in rats as compared to adult animals, after K^+ -depolarization drastically in mechanisms in neuronal injury, conditions

Center of Molecular Biology,
University of Madrid (Spain)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Armstrong D., Eckert R. Voltage related to respond to membrane potential. — P. 2518—2522.
2. Arslan P., Virgilio F. D., Bell and Yoshida carcinomas. A new model that these ascites tumor cell lines. — P. 2719—2727.
3. Ashley R. H. Buffer capacity of calcium. — P. 310—311.
4. Battaini F., Govoni S., Rius J. [H] verapamil binding to rat brain. — P. 67—71.
5. Blaustein M. P. Calcium transport in rat brain. — P. 438—443.
6. Bogóñez E., Martínez A., Blanco P. dependent dephosphorylation of calcium. — P. S92.
7. Carafoli E. Intracellular calcium. — P. 395—433.
8. Choi D. W. Calcium-mediated neuronal damage in ischemic stroke. — P. 329—34.
9. Coutinho O. P., Carvalho C. A. polarization and Na^+/Ca^{2+} exchange. — P. 261—271.
10. Eckert R., Chad J. E. Inactivation of calcium transport. — P. 215—267.
11. Farber J. L. The role of calcium in cell death. — P. 329—34.
12. Gibson G. E., Peterson C. C. Aging. — P. 329—34.
13. Hansford R. G. Relation between calcium metabolism. // Rev. Physiol.
14. Jensen J. R., Lynch G., Baudry J. sport in rat brain. // J. Neurochem.
15. Kaiser N., Edelman I. S. Calcium signaling. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.
16. Landfield P. W., Pitler T. A. hippocampal neurons of aged rats. — P. 177—183.
17. Leonard J. P., Salpeter M. M. cation is mediated by calcium. // J. Neurochem.
18. Leslie S. W., Chandler L. J., Baudry J. in mitochondria and synaptosomes. — P. 177—183.
19. Lipscombe D., Madison D. V., nels and cytosolic calcium transport. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.
20. MacCormack J. G., Denton R. Trends Biochem. Sci.—1986.—
21. Martínez A., Vitórica J., Bogóñez E. pathways of calcium influx in synaptosomes. — P. 257.
22. Martínez A., Vitórica J., Satrustegui J. in rat brain synaptosomes. // J. Neurochem.
23. Martínez-Serrano A., Bogóñez E. $^{45}Ca^{2+}$ influx in synaptosomes. — P. 1244.
24. Meyers E. M., Crews F. T., O'Connell J. rat cortical synaptosomes to calcium. — P. 1244.
25. Michaelis M. L., Johe K., Kito J. systems for Ca^{2+} regulation. — P. 225.
26. Michaelis M. L. Molecular mechanisms of calcium regulation.

результаты
нения кон-
и, посколь-
л), значи-
лина в си-
а ацетилхо-
данные, по-
а также ре-
синапосо-
более высо-

не $[Ca^{2+}]_i$
ий был опи-
увеличение
х, получен-
ганеллы к
концентра-
ные насосы
ающие про-

при старе-
ические по-
терках ГНЗ
ться в ре-
следствие
газ [1, 10].
ния $[Ca^{2+}]_i$
ования ди-
к крыс.
а» клеток
ж. Так, из-
категориям
к посредст-
[15, 17, 34].
хнагрузка»
измом при
йрона [8].
ся увеличе-
ний, вызван-
очных про-
вреждению
жим увели-
онца неиз-
быть воз-
рона.

INVOLVEMENT

port systems
with ageing.
of potential-
potential. The
ageing, shif-
isolated and
ndria, it was

т. 36, № 5

found that, at equivalent calcium loads, the calcium efflux rates were slower in old rats as compared to adult animals. As observed, both resting $[Ca^{2+}]_i$ and that obtained after K-depolarization drastically increased in old animals. The possible pathogenic mechanisms in neuronal injury, conditioned by this increase, are discussed.

Center of Molecular Biology,
University of Madrid (Spain)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Armstrong D., Eckert R. Voltage activated calcium channels that must be phosphorylated to respond to membrane depolarization // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1987.—84.—P. 2518—2522.
2. Arslan P., Virgilio F. D., Beltrame M. et al. Cytosolic Ca^{2+} homeostasis in ehrlich and yoshida carcinomas. A new membrane-permeant chelator of heavy metals reveals that these ascites tumor cell lines have normal cytosolic free Ca^{2+} // J. Biol. Chem.—1985.—260.—P. 2719—2727.
3. Ashley R. H. Buffer capacity of intracellular Ca^{2+} indicators // Biochem. J.—1986.—240.—P. 310—311.
4. Battaini F., Govoni S., Rius R. A., Trabucchi M. Age-dependent increase in $[^3H]$ verapamil binding to rat cortical membranes // Neurosci. Lett.—1985.—61.—P. 67—71.
5. Blaustein M. P. Calcium transport and buffering in neurons // Trends Neurosci.—1988.—11.—P. 438—443.
6. Bogóñez E., Martínez A., Blanco P., Satrustegui J. Effects of ageing on depolarization dependent dephosphorylation of synaptosomal proteins // Neurochem. Int.—1988.—13.—P. S92.
7. Carafoli E. Intracellular calcium homeostasis // Ann. Rev. Biochem.—1987.—56.—P. 395—433.
8. Choi D. W. Calcium-mediated neurotoxicity: relationship to specific channel types and role in ischemic damage // Trends Neurosci.—1988.—11.—P. 465—469.
9. Coutinho O. P., Carvalho C. A. M., Carvalho A. P. Calcium uptake related to K^+ -depolarization and Na^+/Ca^{2+} exchange in sheep brain synaptosomes // Brain Res.—1984.—290.—P. 261—271.
10. Eckert R., Chad J. E. Inactivation of Ca^{2+} channels // Progr. Biophys. Mol. Biol.—1984.—44.—P. 215—267.
11. Farber J. L. The role of calcium in cell death // Life Sci.—1981.—29.—P. 1289—1295.
12. Gibson G. E., Peterson C. Calcium and the aging nervous system // Neurobiol. Aging.—1987.—8.—P. 329—343.
13. Hansford R. G. Relation between mitochondrial calcium transport and control of energy metabolism // Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.—1985.—102.—P. 1—72.
14. Jensen J. R., Lynch G., Baudry M. Polyamines stimulate mitochondrial calcium transport in rat brain // J. Neurochem.—1987.—48.—P. 765—772.
15. Kaiser N., Edelman I. S. Calcium dependence of glucocorticoid-induced lymphocytolysis // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1977.—74.—P. 638—642.
16. Landfield P. W., Pittler T. A. Prolonged Ca^{2+} -dependent after hyperpolarizations in hippocampal neurons of aged rats // Science.—1984.—226.—P. 1089—1092.
17. Leonard J. P., Salpeter M. M. Agonist-induced myopathy at the neuromuscular junction is mediated by calcium // J. Cell. Biol.—1979.—82.—P. 811—819.
18. Leslie S. W., Chandler L. J., Barr C., Farrar R. P. Reduced calcium uptake by rat brain mitochondria and synaptosomes in response to aging // Brain Res.—1985.—329.—P. 177—183.
19. Lipscombe D., Madison D. V., Poenie M. et al. Spatial distribution of calcium channels and cytosolic calcium transients in growth cones and cell bodies of sympathetic neurons // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1988.—85.—P. 2398—2402.
20. McCormack J. G., Denton R. M. Ca^{2+} as a second messenger within mitochondria // Trends Biochem. Sci.—1986.—11.—P. 258—262.
21. Martínez A., Vitórica J., Bogóñez E., Satrustegui J. Differential effects of age on the pathways of calcium influx into nerve terminals // Brain Res.—1987.—435.—P. 249—257.
22. Martínez A., Vitórica J., Satrustegui J. Cytosolic free calcium levels increase with age in rat brain synaptosomes // Neurosci. Lett.—1988.—88.—P. 336—342.
23. Martínez-Serrano A., Bogóñez E., Vitórica J., Satrustegui J. Reduction of K^+ -stimulated $^{45}Ca^{2+}$ influx in synaptosomes with age involves inactivating and noninactivating calcium channels and is correlated with temporal modifications in protein dephosphorylation // J. Neurochem.—1989.—52.—P. 576—584.
24. Meyers E. M., Crews F. T., Otero D. H., Laren K. Aging decreases the sensitivity of rat cortical synaptosomes to calcium ionophore-induced acetylcholine release // J. Neurochem.—1986.—47.—P. 1244—1246.
25. Michaelis M. L., Johe K., Kitos T. E. Age-dependent alterations in synaptic membrane systems for Ca^{2+} regulation // Mech. Ageing and Develop.—1984.—25.—P. 215—225.
26. Michaelis M. L. Molecular mechanisms underlying age-dependent alterations in calcium

срезях мозга ослабляются с возрастом [16]. Сведений о судьбе НА конкретно в синапсосомах мозга в возрастном аспекте нет. Есть сообщения об ослаблении в мозговых синапсосомах при старении захвата и вызванного высвобождения нейромедиаторных аминокислот, в частности аспарагиновой (Асп), глутаминовой (Глу) кислот и гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) [1, 2, 4, 21]. Априкян и соавт. [1, 2] и Гекчян и Априкян [4] показали, что *N*-ацетил-*L*-аспарагиновая кислота (НААК) подавляет захват и одновременно стимулирует вызванное высвобождение Асп и Глу (но не ГАМК) в синапсосомах головного мозга молодых и старых крыс одинаково. На основании этих данных авторы предполагают, что НААК является природным регулятором захвата и высвобождения этих нейромедиаторных аминокислот.

НААК — первая, обнаруженная в мозгу ацетилированная аминокислота [19]. Затем были обнаружены *N*-ацетилглутаминовая кислота и соответствующий пептид — *N*-ацетиласпартилглутамат. В сером веществе мозга количество НААК в два раза больше, чем в белом. При субклеточном фракционировании НААК обнаруживается в цитозоле и синапсосомах [17]. Синапсомная локализация НААК свидетельствует об участии ее в синаптических процессах. Ионотрофическая аппликация НААК к спинномозговым нейронам неэффективна [10], а внутрицистернальное и внутривентрикулярное введение ее подавляет возбуждающий эффект аспартата и глутамата [9]. Показано, что это вещество ингибирует связывание аспартата с постсинаптическими рецепторами [7]. Имеются сведения, что НААК, как аспартат и глутамат, повышает количество ЦАМФ и ЦГМФ в коре больших полушарий [6]. Несмотря на многочисленные исследования, физиологическая функция НААК в мозгу не достаточно выяснена, что побудило нас к изучению роли *N*-ацетил-*L*-аспарагиновой кислоты в захвате и K^+ -вызванном высвобождении 3H -норадреналина в мезодиэнцефальных синапсосомах при старении.

Методика

В экспериментах использовали зрелых (4–6 мес) и старых (24 мес) крыс-самцов линии Вистар, содержащихся на одинаковом пищевом рационе и в идентичных условиях. Синапсосомы из мезодиэнцефальных областей выделяли по методу Хайоша [14], инкубировали при наличии в инкубационной среде $5 \cdot 10^{-8}$ моль/л 3H -НА. Суперфузию проводили со скоростью 1 мл/мин. Пробы брали каждые 30 с. Подробно методика исследования описана ранее [3]. Меру высвобождения 3H -НА оценивали отношением радиоактивности суперфузионной среды к оставшейся общей радиоактивности синапсосом. При изучении захвата 3H -НА инкубированную суспензию (0,14 мг/белка $\pm 0,01$ мг белка), содержащую $2,5 \cdot 10^{-8}$ моль/л 3H -НА и НААК, переносили на миллипоровые фильтры (диаметр пор 0,65 мкм, тип ДА) фирмы «Millipore» (США) и промывали. Для учета неспецифического захвата проводили параллельную инкубацию синапсосом при 0°. Радиоактивность синапсосом и среды измеряли (после добавления 0,5 мл этанола и 10 мл сцинтилляционной жидкости Брея) с помощью жидкостного сцинтилляционного счетчика «Intertechnique» SL-4221 (Франция). Использовали Krebs-бикарбонатный буфер pH 7,2–7,4 со следующим составом (ммоль/л): NaCl — 113; KCl — 4,75; KH_2PO_4 — 1,2; $MgSO_4$ — 1,2; $NaHCO_3$ — 25; $CaCl_2$ — 2,5; глюкоза — 11,5. В буфер добавляли ипразид ($6 \cdot 10^{-4}$ моль/л), аскорбиновую кислоту ($1,4 \cdot 10^{-3}$ моль/л) фирмы «Sigma» (США). В среде, обогащенной K^+ (40 ммоль/л), изотоничность достигали изомолярным замещением NaCl на KCl. Использовали 3H -НА (35 Ки·ммоль $^{-1}$ ·л $^{-1}$) фирмы «Amersham» (Англия), НААК — фирмы «Sigma». Белок определяли по методу Скопеса [18].

Результаты и их обсуждение

Известно, что прекращение действия НА происходит в результате его распада и удаления из мест контакта с рецепторами с помощью специального транспортного механизма, имеющегося в нервных окончаниях, — обратного захвата. Обратный захват НА является также важ-

нейшим источником пополнения запасов его в нервных окончаниях. Следовательно, ослабление захвата может привести к удлинению физиологического действия высвобожденного медиатора, а также снижению депонирования НА в везикулах.

В первой серии опытов мы изучали захват ^3H -НА мезодиэнцефальными синапсами у зрелых и старых крыс. Как видно из рис. 1, захват ^3H -НА у старых крыс значительно ослаблен. В течение 5, 10 и 15 мин инкубации синапсом с ^3H -НА захват его синапсами у

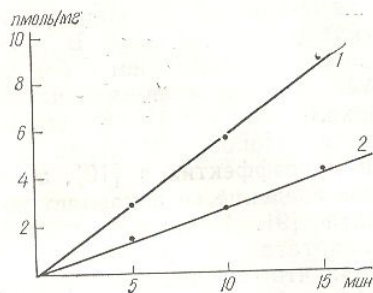
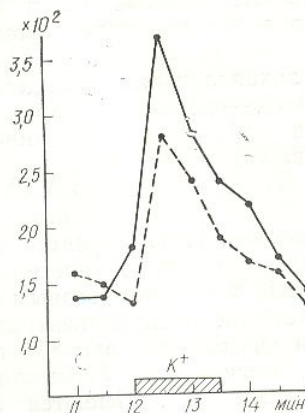


Рис. 1. Захват ^3H -норадреналина (НА) мезодиэнцефальными синапсами взрослых (1) и старых (2) крыс. По оси абсцисс — время инкубации, по оси ординат — содержание ^3H -НА в белке. Средние данные 8–9 опытов. Стандартное отклонение не более 10 %.

Рис. 2. Высвобождение ^3H -норадреналина (НА), вызванное K^+ (40 ммоль/л), из мезодиэнцефальных синапсов взрослых (1) и старых (2) крыс. По оси абсцисс — время суперфузии, по оси ординат — мера высвобождения ^3H -НА. Средние данные 5–7 опытов. Стандартное отклонение не более 10 %.



старых крыс по сравнению со взрослыми подавляется на 63, 63 и 53 % соответственно. Наши исследования по изучению влияния НААК на захват ^3H -НА показали, что ААК в концентрациях 10^{-4} – $3 \cdot 10^{-3}$ моль/л не влияет на захват ^3H -НА мезодиэнцефальными синапсами у зрелых крыс.

В следующей серии экспериментов изучали высвобождение ^3H -НА, вызванное K^+ , из мезодиэнцефальных синапсов у взрослых и старых животных. Показано, что у взрослых крыс ионы калия стимулируют высвобождение ^3H -НА из синапсом на 164 % по сравнению с его исходным содержанием, а у старых крыс — всего на 86 % (рис. 2). Это указывает на то, что в старческом возрасте вызванное высвобождение НА значительно снижается. Но, как видно из рисунка, спонтанное высвобождение ^3H -НА, наоборот, несколько усиливается.

При K^+ -стимулировании синапсом зрелых крыс в условиях содержания в инкубационной среде НААК наблюдалось подавление высвобождения из них ^3H -НА. НААК в концентрации 10^{-4} моль/л подавлял K^+ -вызванное высвобождение на 36 %, при концентрации 10^{-3} моль/л ее тормозящий эффект значительно возрастал — 64 % (рис. 3, а). Интересно отметить, что оптимальная концентрация НААК, влияющая на захват и высвобождение нейромедиаторных аминокислот, составляет 10^{-3} моль/л [2, 4].

Использованные нами концентрации НААК не вызвали достоверных изменений K^+ -вызванного высвобождения ^3H -НА из мезодиэнцефальных синапсов старых крыс. Однако НААК изменяет картину K^+ -вызванного высвобождения ^3H -НА: эффект K^+ сохраняется в синапсах долго, в течение всего периода инкубации в среде, содержащей ионы K , и после промывания синапсом нормальным буфером высвобождение ^3H -НА не доходит до исходного значения (рис. 3, б).

В пресинаптической регуляции является механизм отрицательной обратной связи с α -адренорецепторами. В пресинаптических терминалях нейронов наряду с α -адренорецепторами участвующие в механизме обратного захвата дофамина, мускариновые, норadrenergические рецепторы, которые регулируют обратную связь. На основа

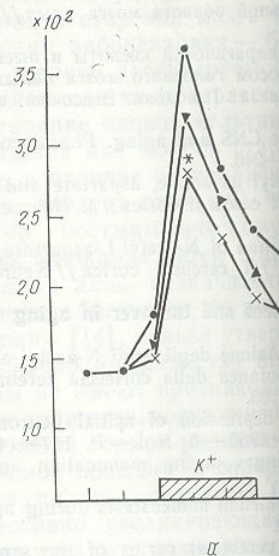


Рис. 3. Влияние N-ацетил-L-аспарата (НААК) на захват и высвобождение ^3H -норадреналина, вызванное K^+ (40 ммоль/л) (а) и старых (б) крыс: 1 — контроль, 2 — 10^{-3} моль/л НААК. Стандартное отклонение не более 10 %. Обозначена достоверность различий, по...

предположить, что НААК участвует в пресинаптической регуляции высвобождения НА синапсами и нарушается.

Таким образом, в старческом возрасте высвобождение НА синапсами и захват НА синапсами можно рассматривать как нарушенные процессы, направленные на регуляцию старения.

A. R. Armenyan, L. N. Arakelyan, C.

THE UPTAKE AND K^+ -EVOKED RELEASE OF ^3H -NOREADRENALINE IN THE RAT MESODIENEPHALIC SYNAPSES: THE ROLE OF N-ACETYL-L-ASP.

The uptake and K^+ -evoked (40 mM) release of ^3H -noreadrenaline from mesodiencephalic synaptosomes of adult and old rats was studied. The uptake of ^3H -NE by old rats is reduced. The release of ^3H -NE by old rats is significantly reduced. 10^{-3} M NAA the uptake of ^3H -NE is unchanged. In these concentration synaptosomes of adult rats, but it is

Institute of Biochemistry, Academy of Sciences of the Armenian SSR

Физиол. журн., 1990, т. 36, № 5

В пресинаптической регуляции высвобождения НА наиболее важным является механизм отрицательной обратной связи, опосредуемой α -адренорецепторами. В пресинаптической области адренергических нейронов наряду с α -адренорецепторами имеются также рецепторы, участвующие в механизме обратной отрицательной связи, чувствительные к дофамину, мускарину, ГАМК, простагландинам, а также β -адренорецепторы, которые регулируют высвобождение НА положительной обратной связью. На основании полученных нами результатов можно

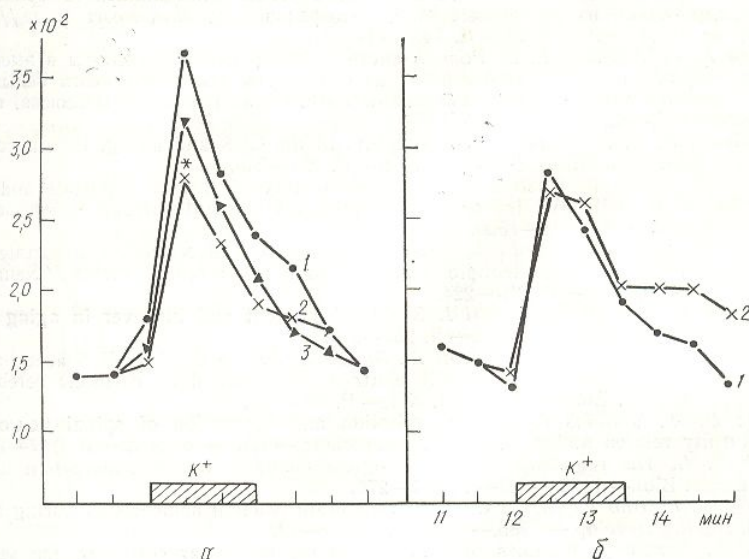


Рис. 3. Влияние N-ацетил-L-аспарагиновой кислоты (NAAK) на высвобождение ^3H -норадреналина, вызванное K^+ (40 ммоль/л), из мезодиэнцефальных синапсосом взрослых (а) и старых (б) крыс:

1 — контроль, 2 — 10^{-3} моль/л NAAK, 3 — 10^{-4} моль/л NAAK. Средние данные 3–7 опытов. Стандартное отклонение не более 10%. Остальные обозначения те же, что и на рис. 2. Звездочкой обозначена достоверность различий, по сравнению с контролем, составляющая $<0,001$.

предположить, что NAAK принимает участие в механизме пресинаптической регуляции высвобождения НА и что при старении этот механизм нарушается.

Таким образом, в старческом возрасте снижены захват и вызванное высвобождение НА в синапсосомах головного мозга. Ослабление захвата НА синапсосомами в ответ на подавление его высвобождения можно рассматривать как проявление компенсаторных способностей мозга, направленных на регулирование синаптических процессов при старении.

A. R. Armenyan, L. N. Arakelyan, G. V. Aprikyan

THE UPTAKE AND K^+ -EVOKED RELEASE OF ^3H -NOREPINEPHRINE IN THE RAT MESODIENCEPHALIC SYNAPTOSOMES IN AGING. THE ROLE OF N-ACETYL-L-ASPARTIC ACID

The uptake and K^+ -evoked (40 mM) release of ^3H -norepinephrine (^3H -NE) in mesodiencephalic synaptosomes of adult and senescent rats and the effect of N-acetylaspargic acid (NAA) on these processes have been studied. It has been shown that the uptake of ^3H -NE by old rats is reduced considerably. The K^+ -evoked release of ^3H -NE from rats synaptosomes is significantly decreased in aged rats. In the presence of 10^{-4} – $3 \cdot 10^{-3}$ M NAA the uptake of ^3H -NE by adult and senescent rats synaptosomes remains unchanged. In these concentrations NAA inhibits the K^+ -evoked release of ^3H -NE from synaptosomes of adult rats, but it exerts no effect on this process in senescent rats.

Institute of Biochemistry,
Academy of Sciences of the Armenian SSR, Yerevan

1. Априкян Г. В., Гекчян К. Г., Вартанян А. А. Ca^{2+} -зависимое высвобождение нейромедиаторных аминокислот из нервных окончаний головного мозга белых крыс при старении // *Нейрохимия*.— 1987.— 6, № 3.— С. 325—330.
2. Априкян Г. В., Князян В. А., Шагинян В. А., Ахвердян Э. С. Роль *N*-ацетил-*L*-аспарагиновой кислоты в механизме действия нейромедиаторных аминокислот // *Нейрохимия*.— 1987.— 6, № 1.— С. 71—76.
3. Армениян А. Р., Чифлякян М. Д., Бунятыан Г. Х. Влияние гамма-аминомасляной кислоты и бикукуллина на вызванное электрической стимуляцией высвобождение ^3H -норадреналина из синапсом мезодienceфальной области мозга крыс // *Вопр. биохимии мозга*.— 1980.— 14.— С. 135—142.
4. Гекчян К. Г., Априкян Г. В. Роль *N*-ацетил-*L*-аспарагиновой кислоты в высвобождении нейромедиаторных аминокислот из синапсом головного мозга белых крыс при старении // *Мол. и функц. механизмы онтогенеза*: Тез. докл. Всесоюз. симп.— Харьков, 1987.— С. 49—50.
5. Burchinsky S. G. Neurotransmitter receptors in the CNS and aging. Pharmacological aspect // *Exp. Gerontol.*— 1984.— 19, N 4.— P. 227—240.
6. Bursal M., Jorda A., Grisolia J. Effects of *N*-acetyl aspartate, aspartate and glutamate on AMP and GMP levels in developing rat cerebral cortex // *J. Neurochem.*— 1982.— 38, N 5.— P. 1498—1500.
7. Bursal M., Lizondo J., Jorda A., Grisolia S. Inhibition of *N*-acetyl-*L*-aspartate of aspartate binding to a proteolipid fraction from rat cerebral cortex // *Neurochem. Res.*— 1984.— 9, N 2.— P. 219—224.
8. Carjagna N., Trunzo F., Moretti J. Brain CA content and turnover in aging rats // *Exp. Gerontol.*— 1985.— 20, N 5.— P. 265—270.
9. Curatolo A., Marchetti M., Brancati A., Salteo A. Azione degli acidi *N*-acetyl-aspartico e *N*-acetyl-glutamico sull' attivita elettrica spontanea della corteccia cerebrale di gatto // *Arch. Sci. Biol.*— 1967.— 51, N 1.— P. 98—103.
10. Curtis D. R., Watkins J. C. The excitation and depression of spinal neurones by structurally related amino acids // *J. Neurochem.*— 1960.— 6, N 1.— P. 117—141.
11. Finch C. E. The regulation of physiological changes during mammalian aging // *Quart. Rev. Biol.*— 1976.— 51.— P. 261—276.
12. Gibson G., Perrino P., Dienel G. A. In vivo brain calcium homeostasis during aging // *Mech. Ageing Develop.*— 1986.— 37, N 1.— P. 1—12.
13. Glick R., Bondareff W. Loss of synapses in the cerebellar cortex of the senescent rat // *J. Gerontol.*— 1979.— 34, N 6.— P. 818—822.
14. Hajos F. An improved method for the preparations of synaptosomal fractions in high purity // *Brain Res.*— 1975.— 93, N 3.— P. 485—489.
15. Long-Wu Zhou, Weiss B., Freilich J. S., Greenberg Z. H. Impaired recovery of α -phaz-adrenergic receptors in brain tissue of aged rats // *J. Gerontol.*— 1980.— 39, N 5.— P. 538—546.
16. McIntosh H. H., Westfall T. C. Influence of aging on CA levels, accumulation and release in F-344 rats // *Neurobiol. aging.*— 1987.— 8, N 3.— P. 233—240.
17. Reichelt K. L., Fonnum F. Subcellular localization of *N*-acetyl-aspartyl-glutamate, *N*-acetyl-glutamate and glutathione in brain // *J. Neurochem.*— 1969.— 16, N 9.— P. 1409—1416.
18. Scopes R. K. Measurement of protein by spectrophotometry at 205 nm // *Anal. Biochem.*— 1974.— 59, N 1.— P. 277—284.
19. Tallan H. H., Moore S., Stein W. H. *N*-acetyl-*L*-aspartic acid in brain // *J. Biol. Chem.*— 1956.— 219, N 1.— P. 257—265.
20. Watanabe H. Differential decrease in the rate of dopamine synthesis in several dopaminergic neurons of aged rat brain // *Exp. Gerontol.*— 1987.— 22, N 1.— P. 17—26.
21. Wheeler D. D. Aging of membrane transport mechanisms in the CNS-high affinity glutamic acid transport in rat cortical synaptosomes // *Ibid.*— 1980.— 15, N 4.— P. 269—284.

Ин-1 биохимии АН АрмССР, Ереван

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

Перспективы исследования активности генов при с

В кратком обзоре представлены гены в старении мозга — логических заболеваниях — гласно широко дискутируемые клеточные предрасмер, старение клонов куль описывается как модель с клетки, в отличие от прол ждения, следует отметить валентно постмитотическ нейроны миокарда детей с созревания лишь незначит питающих образуется de вреждения [14], нельзя ут вает обычно большинство системы не имеют признак ней продолжительности ж низирующий гормон-рилиз длительное повышение со ле наступления менопаузы прогрессивно увеличиваю раздражителям у пожилы лиз РНК мозга крыс-сам менений содержания мРП лирибосом) или последова ло разных видов мРНК старении происходят суш но, в гиппокампе, коре п мах [10, 27], которые вкл торов, снижение количес дующие исследования м встречаются у всех индив

Мы пытаемся опред которые приводят к нару старении. В настоящее в ких механизма: ослаблен рого развивается синдро дами поражение нейроно ний в настоящей работе не разрешают одновременно

Синдром деафферен вания мозга умерших з имеющих возрастную не сморщивание ядрышек [19] например, в черной холинергических ядрах шихся нейронах субстан неожиданным, так как оставшихся нейронов у шенный синтез дофамин повышенной продукции т

Мы создали модель ронов субстанции нигра

© К. Е. Финч, 1990.

Перспективы исследований модуляции активности генов при старении мозга

В кратком обзоре представлены исследования роли модуляции экспрессии генов в старении мозга и при двух зависимых от возраста неврологических заболеваниях — болезнях Паркинсона и Альцгеймера. Согласно широко дискутируемой точке зрения, нейроны и другие постмитотические клетки предрасположены к старческой инволюции. Например, старение клонов культивируемых диплоидных фибробластов часто описывается как модель старения клетки [20]. Хотя постмитотические клетки, в отличие от пролиферирующих, находятся под угрозой повреждения, следует отметить, что старение клетки не обязательно эквивалентно постмитотическому состоянию: нельзя назвать клетки или нейроны миокарда детей старыми. Несмотря на то, что после полового созревания лишь незначительное число центральных нейронов млекопитающих образуется *de novo* или способно регенерировать после повреждения [14], нельзя утверждать, что старческая инволюция охватывает обычно большинство нейронов. Например, две нейросекреторные системы не имеют признаков общего повреждения на протяжении средней продолжительности жизни человека: нейроны, выделяющие лютеинизирующий гормон-рилизинг-фактор (ЛГ-РФ), который обуславливает длительное повышение содержания гипофизарных гонадотропинов после наступления менопаузы [35], и вазопрессинергические нейроны, прогрессивно увеличивающие свою чувствительность к осмотическим раздражителям у пожилых мужчин [33]. На молекулярном уровне анализ РНК мозга крыс-самцов на протяжении их жизни не показал изменений содержания мРНК (поли(A⁺)-мРНК, изолированной из полирибосом) или последовательности ее нуклеотидов, определяющей число разных видов мРНК [2]. Однако во многих других нейронах при старении происходят существенные дегенеративные изменения, особенно, в гиппокампе, коре головного мозга, в моноаминергических системах [10, 27], которые включают повреждение дендритов, потерю рецепторов, снижение количества РНК в клетке и гибель нейронов. Последующие исследования могут показать, в какой мере эти изменения встречаются у всех индивидуумов.

Мы пытаемся определить механизмы тех возрастных изменений, которые приводят к нарушению функции нейронов и их гибели при старении. В настоящее время можно назвать по крайней мере два таких механизма: ослабление афферентных влияний, в результате которого развивается **синдром деафферентации**, и **индуцированное стероидами поражение нейронов**. Подробности самых последних исследований в настоящей работе не приведены, поскольку некоторые журналы не разрешают одновременную публикацию данных.

Синдром деафферентации. Микроспектрофотометрические исследования мозга умерших здоровых пожилых людей, а также больных, имеющих возрастную неврологическую патологию, часто выявляют сморщивание ядрышек или отсутствие РНК в больших нейронах [3, 19] например, в черной субстанции при паркинсонизме или базальных холинергических ядрах и гиппокампе. Сморщивание ядрышек в оставшихся нейронах субстанции нигра при паркинсонизме было особенно неожиданным, так как такие нарушения вызывают гиперактивность оставшихся нейронов у молодых крыс, о чем свидетельствовали повышенный синтез дофамина и его выделение терминалями вследствие повышенной продукции тирозингидроксилазы (ТГ) [38].

Мы создали модель нарушения, демонстрирующую атрофию нейронов субстанции нигра, свойственную паркинсонизму, а также повы-

© К. Е. Финч, 1990.

шенный синтез дофамина в оставшихся терминалях [32]. Взрослым крысам-самцам унилатерально в субстанцию нигра однократно вводили 6-оксидофамин и через 9 мес их забивали. В стриатуме поврежденной стороны отмечалось резкое снижение содержания дофамина. Однако при этом повышалось отношение количества 3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты к количеству дофамина, что указывает на компенсаторное усиление выделения дофамина оставшимися терминалями стриатума. Насколько нам известно, до настоящего времени в литературе не сообщалось о поддержании подобного компенсаторного усиления выделения

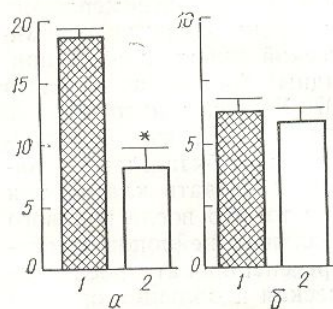


Рис. 1. Содержание мРНК тирозингидроксилазы (а) и мРНК бета-тубулина (б) в дофаминергических нейронах у интактных крыс (1) и у крыс через 9 мес после одностороннего повреждения субстанции нигры введением 6-оксидофамина (2). По вертикали: а — относительная плотность гранул тирозингидроксилазы, %; б — относительная плотность гранул тубулина, %.

дофамина на таком значительном протяжении (35 %) жизни грызунов. Клетки поврежденных нейронов были атрофированы, как это наблюдается при паркинсонизме. В этих исследованиях дофаминергические нейроны идентифицировали иммуноцитохимически с помощью антисыворотки к ТГ крысы. Размеры клеток, ядер, ядрышек ТГ-иммунореактивных нейронов были на 30 % меньше, чем нейронов на интактной (неповрежденной) стороне. Уменьшение размера ядрышек свидетельствует о сниженном синтезе рибосом, что согласуется с выраженной потерей РНК нейронами, характерной для субстанции нигры больных паркинсонизмом [18]. Мы исследовали также два типа мРНК, используя гибридизацию *in situ*: ТГ-мРНК и бета-тубулин-мРНК. Для иммуноцитохимического анализа на ТГ делали срезы мозга, гибридизировали с антисмысловой РНК, синтезированной с помощью транскрипционного вектора. Такой подход позволил исследовать специфическую мРНК в идентифицированных дофаминергических нейронах. В результате обнаружено значительное уменьшение концентрации ТГ-мРНК (около 50 %), тогда как концентрация бета-тубулин-мРНК в пересчете на клетку оставалась неизменной (рис. 1).

Эти результаты ставят несколько интересных вопросов. Что касается повышенного метаболизма дофамина, то противоположные изменения ТГ-мРНК в теле клетки и синтеза и выделения дофамина терминалями стриатума свидетельствуют о дихотомной регуляции. Повышается ли в несколько раз эффективность трансляции ТГ-мРНК для компенсации пониженного содержания мРНК в то время, когда большее количество дофамина синтезируется и выделяется в расчете на один нейрон? На основании данных о понижающей регуляции ТГ-мРНК в теле клетки возникает вопрос об эффективности влияния L-ДОФА и других препаратов, используемых для компенсации нейромедиаторной недостаточности: их влияние на ТГ-мРНК неизвестно. Будет ли L-ДОФА усиливать или еще больше снижать транскрипцию гена ТГ? Это тоже неизвестно. Можно рассмотреть новый терапевтический подход, при котором препараты будут подбираться по их способности стимулировать транскрипцию в оставшихся дофаминергических нейронах. Такую тактику можно также применить для отбора холинергических агонистов при экспериментальном лечении болезни Альцгеймера.

Однако деафферентация может вызвать компенсаторную активацию биосинтеза макромолекул в других типах нейронов. При нормальном старении и болезни Альцгеймера наблюдается рост дендритов в молекулярном слое гранулярных клеток зубчатой извилины гиппокампа [10, 11]. Эти плотно упакованные нейроны получают основные аф-

ферентные влияния от пирамгласно результатам гистохимия наблюдается у молодых коры. При болезни Альцгеймлярных клеток увеличивается к изучению генетических механизмов мРНК из гиппокампа тех клонов, в которых повышенном из этих клонов имеют реактивном синаптогенезе, мпокампа крыс после повреждения этого метода были получены лось получить высокомолекулы коры мозга умерших. Различгеймера и мозгом практически [15, 23]. Анализ более 50 взятия пробы после смерти, состояния гипоксии и нервная поли(А)-РНК из мозбыть клонирована с использованием выход двунизовой комиз 1500 оснований (500—500) нант была создана путем кних было 61 колония, которая болезни Альцгеймера. Клонможно подразделить на два те, которые поперечно гибрисокую гомологию. С учетомний о частичной последовательности последовательности вгибридизация показывает трка в гиппокампе и в тех учпри болезни Альцгеймера. Внений не выявлено [23, 28].размерный клон для кислосдержит всю кодирующуюданными ГЕНБАНКА о посбелка оказалось, что гомоло

Другой класс клонов нглии. Один клон (РАДГК-9изменения РНК. На Нозеринуклеотидной РНК, количество гиппокампе, но не в отделают при болезни Альцгеймеркора). Такие регионально сегодоказательством наличия ирами реакции отдельных тизация *in situ* указывает наных клетках и других отделные процессы [24]. Сейчасна с целью установления также его возможной связитаты свидетельствуют о реон, с помощью которых мческие изменения мозга пнормальном старении. Таковопроса об изменениях эксрени и болезни Альцгейме

Факт повышения содержания в гиппокампе и других мера согласуется с сообще

ферентные влияния от пирамидных нейронов энториальной коры. Согласно результатам гистохимических исследований, аналогичная реакция наблюдается у молодых крыс при повреждении энториальной коры. При болезни Альцгеймера размер деафферентированных гранулярных клеток увеличивается [10]. Нами разрабатываются подходы к изучению геномных механизмов этих явлений, включающие: клонирование мРНК из гиппокампа больных болезнью Альцгеймера; отбор тех клонов, в которых повышено содержание мРНК; определение, в каком из этих клонов имеются последовательности, возникающие при реактивном синаптогенезе, методом поперечного скрининга с РНК гиппокампа крыс после повреждений энториальной коры. С помощью этого метода были получены интересные результаты. Во-первых, удалось получить высокомолекулярную поли(А)-мРНК из гиппокампа и коры мозга умерших. Различия между мозгом больных болезнью Альцгеймера и мозгом практически здоровых (контроль) не обнаружено [15, 23]. Анализ более 50 пар препаратов указывает на то, что время взятия пробы после смерти не играет такой существенной роли, как состояния гипоксии и нервного истощения. Относительно недеградированная поли(А)-РНК из мозга больных болезнью Альцгеймера может быть клонирована с использованием общепринятых методов, которые дают выход двунитевой комплементарной ДНК, состоящей в среднем из 1500 оснований (500—5 000 оснований) [25]. Библиотека рекомбинант была создана путем клонирования вектора ламбда gt 10; среди них было 61 колония, которая имела в 2 раза больше изменений при болезни Альцгеймера. Клоны, соответствующие болезни Альцгеймера, можно подразделить на два класса. Значительная доля (80 %) — это те, которые поперечно гибридизируются друг с другом, т. е. имеют высокую гомологию. С учетом имеющихся в нашем распоряжении сведений о частичной последовательности оснований, они содержат кодирующие последовательности кислого фибриллярного белка гли. Блот-гибридизация показывает трехкратное увеличение мРНК для этого белка в гиппокампе и в тех участках коры мозга, которые дегенерируют при болезни Альцгеймера. В то же время в мозжечке каких-либо изменений не выявлено [23, 28]. По-видимому, нами выделен почти полно-размерный клон для кислого фибриллярного белка гли, который содержит всю кодирующую последовательность. При сопоставлении с данными ГЕНБАНКА о последовательности мышинной ДНК для этого белка оказалось, что гомология с ДНК человека составляет 83 %.

Другой класс клонов не связан с кислым фибриллярным белком гли. Один клон (pADГК-9) обнаруживает интересные региональные изменения РНК. На Нозерн-блотах этот клон гибридизируется с 2 000-нуклеотидной РНК, количество которой селективно увеличивается в гиппокампе, но не в отделах коры мозга, которые обычно дегенерируют при болезни Альцгеймера (фронтальная, височная или затылочная кора). Такие регионально селективные изменения, по-видимому, служат доказательством наличия изменений РНК, которые могут быть маркерами реакции отдельных типов клеток на нейродегенерацию. Гибридизация *in situ* указывает на локализацию этих изменений в гранулярных клетках и других отделах гиппокампа, вовлеченных в дегенеративные процессы [24]. Сейчас проводится дальнейшее изучение этого клонна с целью установления типа клеток, из которых он происходит, а также его возможной связи с реактивным синаптогенезом. Эти результаты свидетельствуют о реальности выделения из мозга человека клонов, с помощью которых можно обнаруживать региональные специфические изменения мозга при болезни Альцгеймера и, вероятно, при нормальном старении. Такой подход делает целесообразной постановку вопроса об изменениях экспрессии генов отдельных нейронов при старении и болезни Альцгеймера.

Факт повышения содержания мРНК кислого фибриллярного белка гли в гиппокампе и других отделах коры мозга при болезни Альцгеймера согласуется с сообщениями о повышении при этом заболевании

числа фиброзных астроцитов. Мы обнаружили, что при болезни Альцгеймера в мозжечке не наблюдается такого увеличения длины этой мРНК по сравнению с контролем. При сравнении индивидуальных препаратов мозга старых мышей-самцов линии C57BL/6 (28—34 мес) было неожиданно обнаружено, что выраженное увеличение длины иРНК кислого фибриллярного белка глии сильно коррелирует с проявлениями нервного истощения [12]. Макроскопическое исследование выявило наличие опухолей у некоторых мышей. Таким образом, физиологические расстройства могут вызывать увеличение количества мРНК астроцитов, а также хорошо установленный реактивный астроцитоз, обусловленный локальным повреждением или гибелью нейронов.

Изменения, индуцированные стероидами. Другим аспектом исследований, проводимых в нашей лаборатории, является хроническое воздействие стероидами на мозг, которое, по крайней мере, у грызунов, взаимосвязано с возрастными изменениями. При определенных условиях эндо- и экзогенные эстрогены и глюкокортикоиды вызывают необратимые изменения некоторых отделов мозга взрослых грызунов. В ходе широкомасштабных исследований [4, 9, 26, 39] нами показано, что овариальные стероиды вызывают необратимые изменения регуляции эстрального цикла и контроля выделения гонадотропинов. В этих исследованиях инбредных мышей овариэктомировали в различном возрасте для удаления овариальных стероидов. Затем в более позднем возрасте им вновь имплантировали яичники. Используя этот подход, мы показали, что действие эндогенных овариальных стероидов обуславливает возрастные изменения, связанные с гипоталамусом: переход от коротких (4 сут) к более продолжительным эстральным циклам [4]; снижение под влиянием эстрадиола чувствительности гипоталамуса к отрицательной и положительной обратной связи, регулирующей выделение ЛГ [26]; увеличение числа реактивных астроцитов в аркуатном ядре гипоталамуса [36]. Хотя последнее изменение подразумевает повреждение нейронов, нет четких доказательств потери нейронов в это время: например, число нейронов, секретирующих в гипоталамусе мыши, остается неизменным, по крайней мере, на протяжении средней продолжительности жизни [13], т. е. достаточно продолжительный период после значительных нейроэндокринных нарушений. Тот факт, что не происходит потери нейронов ЛГ-РФ в гипоталамусе, несмотря на существенные нарушения регуляции выделения ЛГ, согласуется с фактом сохранения секреции ЛГ у женщин в постменопаузе и показывает, что в стареющем мозгу могут происходить существенные функциональные изменения без обязательной потери нейронов, являющейся решающим фактором, в частности, для нейронов, секретирующих ЛГ-РФ. В данном случае дефект заключается в реакции нейронов, продуцирующих ЛГ-РФ, на афферентные влияния, а не в их способности продуцировать ЛГ-РФ.

Продолжаются попытки определить локализацию поврежденных нейронов, нарушение функции которых обуславливает связанные с яичниками нейроэндокринные возрастные изменения. По-видимому, эти изменения связаны с влиянием эстрадиола. При введении овариоэктомированным мышам в физиологических дозах с питьевой водой в течение 12 нед эстрадиол вызывает перманентное нарушение эстрального цикла — при имплантации яичников [16]. Практически все нейроэндокринные возрастные изменения в репродуктивной системе самок могут быть отсрочены овариоэктомией и преждевременно вызваны у молодых грызунов под влиянием хронического введения эстрадиола [9]. Попытки использовать методы молекулярного клонирования для выделения эстрогенреактивных генов обнадеживают [21], но четких данных пока не получено.

Стероиды надпочечников также влияют на старение мозга, по крайней мере, гиппокампа. Работы Landfield и соавт. [17] и Sapolsky и соавт. [34] показали, что возрастное повреждение гиппокампальных пирамидных нейронов у крыс может быть ослаблено адреналэктомией

или усилено хроническим воздействием. Для изучения этого явления гиппокампальные мРНК подвергались различным изменениям, например трансляции при двумерном электрофорезе. Точность этих РНК не доказана, так как кодирующие их гены не включаются в свой состав мРНК.

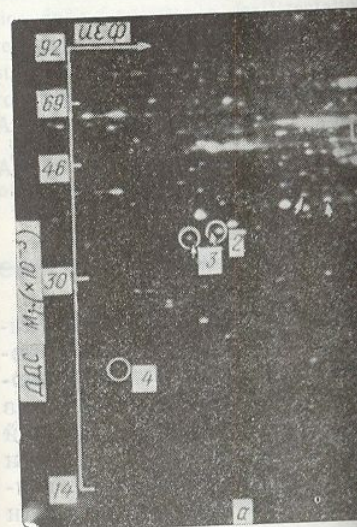


Рис. 2. Сравнение полипептидов, содержащих тотальную РНК, изолированную в течение 3 сут вводили определенное количество соответствующих полипептидов (малые стрелки) контактных отпечатках двумерных электрофорезов. Число включенной радиоактивной энергии (ИЭФ) — в системе ДДС — Na-ПААГ (1000 В, 100 мА, 10 мин).

регулируются кортикостероиды быстро изменяющихся (таблица). Интактные или подвергнуты стрессорному воздействию на встраивание кортикостерон (10 мг) или выделена из гиппокампа трансляции были разделены метри с использованием пятен (кратность их изменения) определяли радиометрически. Его концентрация увеличилась.

Для определения этих мРНК, мы сконструировали библиотеку, в которой эти мРНК, отбирались выражено увеличивается в мозге старых крыс. В настоящее время [22]. Клон pCR16 со скоростью быстро повышается (< 100-кратный) и пирамидный гиппокампальный клон, соответствующий РНК, являются хорошо из

тезис Альц-
лины этой
льных пре-
4 мес) бы-
ины иРНК
оявлениями
явило на-
мологические
К астроци-
з, обуслов-

том иссле-
ческое воз-
грызунов,
нных усло-
зывают не-
грызунов.
ми показа-
нения ре-
отропинов.
и в различ-
м в более
льзуя этот
ых стерои-
таламусом:
остральным
ьности ги-
вязи, регу-
их астроци-
изменение
льств поте-
ирующих в
е, на про-
точно про-
их наруше-
гипотала-
еления ЛГ,
постмено-
ть существ-
нейронов,
в, секрет-
акции ней-
а не в их

режденных
ные с яич-
тому, эти
варноакто-
дой в тече-
стрального
нейроэндо-
амок могут
у молодых
9]. Попыт-
выделения
нных пока

мозга, по
и Sapolsky
ампальных
алэктомией

или усилено хроническим воздействием высокими дозами кортикостерона. Для изучения этого явления мы исследовали кортикостероидреактивные гиппокампальные мРНК, в которых обнаружены быстрые и значительные изменения, например, такие, какие отмечены в продуктах трансляции при двумерном электрофорезе (рис. 2) [29]. Хотя идентичность этих РНК не доказана, похоже, что они не кодируют белков теплового шока, так как кодируемые ими белки имеют малый размер и включают в свой состав метионин. Нами показано также, что они

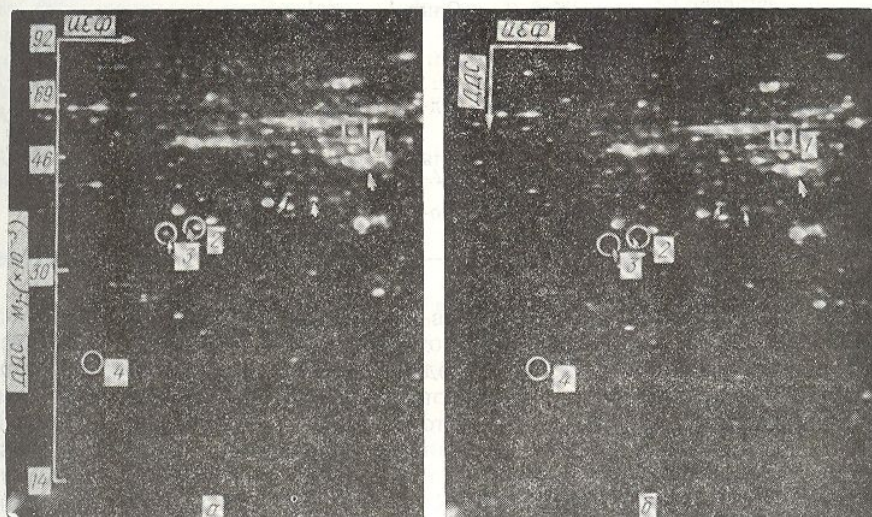


Рис. 2. Сравнение полипептидов, синтезированных в системе *in vitro* содержащей тотальную РНК, изолированную из гиппокампа адrenaлэктомированных крыс, которым в течение 3 сут вводили по 10 мг кортикостерона (а) или масла (б). Относительное расположение соответственных полипептидов (1—4), и неменяющихся реперных полипептидов (малые стрелки), а также актина (большая стрелка) показано на контактных отпечатках двумерных электрофореграмм (экспозиция — 5 сут). Равные количества включенной радиоактивности ($100\,000\text{ мин}^{-1}$) были нанесены на каждый изоэлектрофокусирующий (ИЭФ) гель. Мг оценивали по белкам-стандартам, разделенным в системе ДДС — Na-ПААГ (подробнее см. [29]).

регулируются кортикостероидным рецептором типа II [30]. Набор таких быстро изменяющихся РНК реагирует и на вибрационный стресс (таблица). Интактные или адrenaлэктомированные (АДЭ) крысы были подвергнуты стрессорному воздействию (встряхиванию в клетке, установленной на встряхивателе, в течение 2 ч). АДЭ крысам вводили кортикостерон (10 мг) или масло за 2 ч до забоя. Тотальная РНК была выделена из гиппокампов 4—6 крыс. Полученные *in vitro* продукты трансляции были разделены двумерной геле-флюорографией. Плотность пятен полипептидов определяли методом компьютерной денситометрии с использованием в качестве реперов четырех неизменяемых пятен (кратность их изменения составляет $1,1 \pm 0,1$). Кортикостерон сыворотки определяли радиоиммунологически. Под влиянием стресса его концентрация увеличивалась в 3 раза.

Для определения этих и других кортикостеронреактивных мРНК мы сконструировали библиотеку поли(А)-РНК гиппокампа и клонировали эти мРНК, отбирая гибридизацией в пятне тот клон, который выражено увеличивается на введение кортикостерона у адrenaлэктомированных крыс. В настоящее время дана характеристика трем клонам [22]. Клон pCR16 соответствует поли(А)-РНК, количество которой быстро повышается ($<24\text{ ч}$) после введения кортикостерона в гранулярный и пирамидный слои гиппокампа молодых крыс. Два других клонa, соответствующих быстрому и интенсивному увеличению РНК, являются хорошо известными кортикостеронреактивными генами:

Группа животных опыта	Молекулярная масса полипептидов, кодируемых РНК		
	35 кД	33 кД	20 кД
Опыт 1			
Интактные крысы (ИК)	3,7	1,4	2,4
ИК, подвергшиеся стрессорному воздействию	18,0	1,4	6,7
Адренэктомизированные крысы (АЭК), подвергшиеся стрессорному воздействию	2,9	Нет свед.	1,7
Опыт 2			
АЭК	1,7	Нет свед.	0,6
АЭК, подвергшиеся воздействию кортикостероном	22,5	2,3	6,0

глицерол-3-фосфатдегидрогеназа (в олигодендроцитах) и глютаминсинтетаза (в астроцитах). В отличие от этого, пятно, соответствующее молекулярной массе 50 кД, при продолжительном воздействии кортикостероидами уменьшается. На основании анализа с помощью методов гибридизации было определено, что оно представляет собой кислый фибриллярный белок глии. Реактивные изменения глии при старении столь значительны, что требуют специального рассмотрения роли глиальных астроцитов в механизмах старения, которая выходит за рамки реакции на повреждение нейронов.

Наша задача — идентифицировать физиологические механизмы, вызывающие возрастные изменения функции клетки при нормальном старении, паркинсонизме, болезни Альцгеймера и других возрастных нейродегенеративных состояниях. Вероятно, есть возможность определить последовательность клеточных изменений, возникающих вследствие повреждения нейронов вирусами, токсинами, стероидами или транссинаптическими влияниями. В итоге, исследования возрастных особенностей декодирования позволят выяснить, почему некоторые нейроны значительно повреждены, а другие — сохраняют высокую резистентность и функционируют до конца жизни, погибая из-за ишемии или механической травмы. Мы подозреваем, что многие аспекты старения клеток мозга и других органов не связаны с их постмитотическим состоянием, а являются следствием действия внешних факторов окружающей среды или других клеток организма [7, 8]. Таким образом, многие возрастные дегенеративные изменения могут стать объектом активной терапии. И, наконец, мы отметили, что эти исследования кроме проблемы старения ставят фундаментальный вопрос биологии клеток эукариот: «Какова мера сохранности тотипотентности генома при дифференциации клетки в поздние фазы ее жизненного цикла?» Сохранение способности избирательно изменять регуляцию генома и производство функционирующих белков (например, для ЛГ-РФ) соответствует точке зрения о том, что наборы соматических генов сохраняют нормальную функцию в большинстве клеток на протяжении жизни. Детальные исследования специфических последовательностей, например, с помощью полимеразной цепной реакции, могут выявить, в какой мере специфические последовательности остаются неизменными при старении.

C. E. Finch

PROSPECTS OF STUDIES IN THE OF GENE ACTIVITY DURING THE

This brief review is concerned with in the brain during aging and in two Alzheimer's diseases. Two key mechanism during aging, i. e. deafferentation influences) and steroid-induced suspects that many aspects of cell age environmental factors. The conception of Alzheimer's disease has been develop

Andrus Gerontological Centre and Department of Biology, South California University

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chaconas G., Finch C. E. The effect of C57BL/6J male mouse // J. Neurosci.
2. Coleman P. D., Kaplan B. B., Osring aging: stability of yield and 1980.—34.—P. 335—345.
3. Doeblner J. A., Marksberry W. R., A to neuronal loss and neurofibrillary disease // J. Neuropathol. and Exp.
4. Felicio L. S., Nelson J. F., Finch in aging C57BL/6J mice are different 34.—P. 849—858.
5. Finch C. E. Catecholamine metabolism. —1973.—52.—P. 261—276.
6. Finch C. E. Neural and endocrine variable in the aging processes of gist.—1985.—28.—P. 29—42.
7. Finch C. E. The regulation of Quart. Rev. Biol.—1976.—51.—P.
8. Finch C. E. Neural and endocrine, lity and reversibility of laboratory Theories of Aging.—New York: Raven
9. Finch C. E., Felicio L. S., Mobbs on neuroendocrine mechanisms in 1984.—5.—P. 467—497.
10. Flood D. G., Buell S. J., Horwitz tate gyrus granule cells in normal 402.—P. 205—216.
11. Geddes J. W., Monaghan D. T., cuitry in Alzheimer's disease // Science
12. Goss J. R., Morgan D. G., Finch ses during a wasting agonal state mRNA in Alzheimer's disease // Proc
13. Hoffman G. E., Finch C. E. LHRI ring reproductive aging: no loss P. 45—48.
14. Jacobson M. Developmental Neuro 2nd edition, 1978.—460 p.
15. Johnson S. A., Morgan D. G., Finch from rat and human brain // J. Neuro
16. Kohama S., May P., Finch C. E. acyclicity in C57BL/6J mice // Proc
17. Landfield P. W., Waymire J. C., quantitative correlations // Science
18. Mann D. M. A., Yates P. O. Role disease // Mech. Ageing and Development
19. Mann D. M. A., Yates P. O., Mementia of the Alzheimer type and ted continuum of pathological changes 10.—P. 185—207.
20. Marx J. L. Are aging and death 242.—P. 33.
21. Masters J. N., Nichols J. R., Finch to estradiol // Endocrine Soc. Abstracts

20 кД

2,4

6,7

1,7

0,6

6,0

глутаминсин-
ствующее мо-
вии кортико-
щью методов
бой кислый
при старении
ия роли гли-
дит за рамки

механизмы,
нормальном
к возрастных
ность опреде-
щих вследствие
или транс-
тных особен-
ные нейроны
ю резистент-
ишемии или
кты старения
тическим со-
оров окружа-
бразом, мно-
ектом актив-
вания кроме
логии клеток
ма при диф-
а?» Сохране-
и производ-
соответствует
раняют нор-
жизни. Де-
й, например,
в какой мере
при старении.

PROSPECTS OF STUDIES IN THE MODULATION OF GENE ACTIVITY DURING THE BRAIN AGING

This brief review is concerned with prospects of the role of modulated gene expression in the brain during aging and in two age-related neurological diseases: Parkinson's and Alzheimer's diseases. Two key mechanisms involved in the disturbance of neuronal function during aging, i. e. deafferentation syndromes (as a result of the impairment of afferent influences) and steroid-induced neuronal changes, have been studied. The author suspects that many aspects of cell aging in the brain represent the influence of the environmental factors. The conception of new therapeutic approaches to the treatment of Alzheimer's disease has been developed.

Andrus Gerontological Centre and Department
of Biology, South California University, Los-Angeles (USA).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chaconas G., Finch C. E. The effect of ageing on RNA/DNA ratios in brain regions of C57BL/6J male mouse // J. Neurochem.—1973.—21.—P. 1469—1473.
2. Coleman P. D., Kaplan B. B., Osterburg H. H., Finch C. E. Brain poly(A)RNA during aging: stability of yield and sequence complexity in two rat strains // Ibid.—1980.—34.—P. 335—345.
3. Doebler J. A., Marksbery W. R., Anthony A., Rhoads R. E. Neuronal RNA in relation to neuronal loss and neurofibrillary pathology in the hippocampus in Alzheimer's disease // J. Neuropathol. and Exp. Neurol.—1987.—46.—P. 28—39.
4. Felicio L. S., Nelson J. F., Finch C. E. Prolongation and cessation of estrous cycles in aging C57BL/6J mice are differentially regulated events // Biol. Reprod.—1986.—34.—P. 849—858.
5. Finch C. E. Catecholamine metabolism in the brains of ageing male mice // Brain Res.—1973.—52.—P. 261—276.
6. Finch C. E. Neural and endocrine approaches to the resolution of time as a dependent variable in the aging processes of mammals. Kleemeier Award Lecture // Gerontologist.—1985.—28.—P. 29—42.
7. Finch C. E. The regulation of physiological changes during mammalian aging // Quart. Rev. Biol.—1976.—51.—P. 49—83.
8. Finch C. E. Neural and endocrine determinants of senescence: investigation of causality and reversibility of laboratory and clinical interventions // Modern Biological Theories of Aging.—New York: Raven press, 1987.—P. 261—306.
9. Finch C. E., Felicio L. S., Mobbs C. V., Nelson J. F. Ovarian and steroidal influences on neuroendocrine mechanisms in rodent reproductive aging // Endocrinol. Rev.—1984.—5.—P. 467—497.
10. Flood D. G., Buell S. J., Horwitz G. J., Coleman P. D. Dendritic extent in human dentate gyrus granule cells in normal aging and senile dementia // Brain Res.—1987.—402.—P. 205—216.
11. Geddes J. W., Monaghan D. T., Cotman C. W. et al. Plasticity of hippocampal circuitry in Alzheimer's disease // Science.—1985.—230.—P. 1179—1181.
12. Goss J. R., Morgan D. G., Finch C. E. Glial fibrillary acidic protein mRNA increases during a wasting agonal state in old mice. Implications for the increased GFAP mRNA in Alzheimer's disease // Proc. Neurosci. Sci.—1987.—13.—P. 1325.
13. Hoffman G. E., Finch C. E. LHRH neurons in the female C57BL/6J mouse brain during reproductive aging: no loss to middle age // Neurobiol. Aging.—1986.—7.—P. 45—48.
14. Jacobson M. Developmental Neurobiology.—New York: Holt, Rinehart & Winston. 2nd edition, 1978.—460 p.
15. Johnson S. A., Morgan D. G., Finch C. E. Extensive postmortem stability of RNA from rat and human brain // J. Neurosci. Res.—1986.—16.—P. 267—280.
16. Kohama S., May P., Finch C. E. Oral administration of estradiol induces age-like acyclicity in C57BL/6J mice // Proc. Neurosci. Soc.—1986.—12.—P. 1466.
17. Landfield P. W., Waymire J. C., Lynch G. Hippocampal aging and adrenocorticoids: quantitative correlations // Science.—1978.—202.—P. 1098—1102.
18. Mann D. M. A., Yates P. O. Role of neuromelanin in the pathogenesis of Parkinson's disease // Mech. Ageing and Develop.—1983.—21.—P. 193—203.
19. Mann D. M. A., Yates P. O., Marcyniuk V. Alzheimer presenile dementia, senile dementia of the Alzheimer type and Down's syndrome in middle age form an age-related continuum of pathological changes // Neuropathol. and Appl. Neurobiol.—1984.—10.—P. 185—207.
20. Marx J. L. Are aging and death programmed in our genes? // Science.—1988.—242.—P. 33.
21. Masters J. N., Nichols J. R., Finch C. E. Cloning of mouse brain cDNAa responsive to estradiol // Endocrine Soc. Abstr.—1986.—P. 284.

22. Masters J. N., Nichols N. R., Finch C. E. Differences in response to vibratory stress of two glucocorticoid regulated genes in rat hippocampus // Soc. Neurosci. Abstr.—1988.—14.—P. 118.
23. May P. C., Johnson S. A., Masters J. N. et al. Cloning of poly(A)RNA sequences differentially expressed in Alzheimer's disease hippocampus.
24. May P. C., Johnson S. A., Lampert-Etchells, Finch C. E. In situ mapping of pADHC-9: a poly(A)RNA sequence overexpressed in Alzheimer's disease // Soc. Neurosci. Abstr.—1988.—14.—P. 897.
25. May P. C., Johnson S. A., Masters J. N. et al. Cloning of poly(A)RNA differentially regulated in Alzheimer's disease from a hippocampal cDNA library // Ibid.—1987.—13.—P. 1325.
26. Mobbs C. V., Cheyney D., Sinha Y. N., Finch C. E. Age-correlated and ovary-dependent changes in relationships between plasma estradiol and luteinizing hormone, prolactin, and growth hormone in female C57BL/6J mice // Endocrinology.—1985.—116.—P. 813—820.
27. Morgan D. G., May P. C., Finch C. E. Dopamine and serotonin systems in human and rodent brain: effects of age and degenerative disease // J. Amer. Geriatr. Soc.—1987.—35.—P. 334—345.
28. Morgan D. G., Johnson J. R., Finch C. E. RNA metabolism in Alzheimer's disease: selective increase in GFAP RNA.
29. Nichols N. R., Lerner S. P., Masters J. F. et al. Rapid and select increases in poly(A)-containing RNA sequences in rat hippocampus during corticosteroid treatment // Mol. Endocrinol.—1988a.—2.—P. 284—290.
30. Nichols N. R., Masters J. N., May P. C. et al. Corticosteroneinduced responses in rat brain RNA are also evoked by acute vibratory stress in hippocampus // Neuroendocrinology.—1988b.
31. Osterburg H. H., Donahue H. G., Severson J. A., Finch C. E. Catecholamine levels and turnover during aging in brain of male C57BL/6J mice // Brain Res.—1981.—224.—P. 337—352.
32. Pasinetti G. M., Lerner S. P., Johnson S. A. et al. Chronic lesions differentially decrease mRNA in dopaminergic neurons of the substantia nigra // Mol. Brain Res.—1989.
33. Robertson G. L., Rowe J. The effect of ageing on neurohypophyseal function // Peptides.—1981.—1.—P. 158—162.
34. Sapolsky R. M., Krey L. C., McEwen B. S. The neuroendocrinology of stress and aging: the glucocorticoid cascade hypothesis // Endocrine Rev.—1985.—7.—P. 284—301.
35. Scaglia H., Medina M., Pinto-Ferreira A. L. et al. Pituitary LH and FSH secretion and responsiveness in women of old age // Acta Endocrinol.—1976.—81.—P. 673—679.
36. Schipper H., Brawer J. R., Nelson J. F. et al. Role of the gonads in the histologic aging of the hypothalamic arcuate nucleus // Biol. Reprod.—1981.—25.—P. 413—419.
37. Shaskan E. G. Brain regional spermidine and spermine levels in relation to RNA and DNA in aging rat brain // J. Neurochem.—1977.—28.—P. 509—516.
38. Stachowiak M. K., Keller R. W., Striker E. M., Zigmond M. J. Increased dopamine efflux from slices during development and after nigrostriatal bundle damage // J. Neurosci.—1987.—7.—P. 1648—1654.
39. Telford N., Mobbs C. V., Sinha Y. N., Finch C. E. The increase of anterior pituitary dopamine in aging C57BL/6J female mice is caused ovarian steroids, not intrinsic pituitary aging // Neuroendocrinology.—1986.—43.—P. 135—142.

Геронтологич. центр им. Андрус
Отдела биологии ун-та Южной Калифорнии,
Лос Анджелес (США)

Материал поступил
в редакцию 30.02.90.

УДК 612.678:2:616.858—008.6—07

Н. Б. Маньковский, И. Н. Карабань, Е. А. Мяловицкая

Центральные механизмы развития двигательных нарушений при старении человека

В настоящее время считается доказанной роль центральной нервной регуляции в возрастных изменениях двигательных функций [15, 23, 29]. В основе сложных механизмов формирования ситуационнозависимых двигательных программ лежит интегративная деятельность

© Н. Б. МАНЬКОВСКИЙ, И. Н. КАРАБАНЫ, Е. А. МЯЛОВИЦКАЯ, 1990.

функциональных систем, в частности, в понтocerebellарные и ретикулярные системы спинного мозга [19, 23—25, 29, 35]. Возрастные изменения сказываются на экстрапирамидной активности [7, 16, 21], в частности, в малом состоянии выявлялись функциональные недостатки (ЭЭГ, усиление физиологического тонуса, сдвиги функциональной активности различных ядер таламуса) для моделирования

В старости у практически всех обнаруживаются изменения, которые отражаются в координаторных изменениях регуляции, но преимущественно в нейронных системах (НСПС) [2]. Изменения функции НСПС при развитии паркинсонизма в связи с

В связи с изложенным исследование функционального состояния регуляторных влияний на старших возрастов и определение синдрома возрастной паркинсонизма. Постановка задачи на основной вопрос исследования, существуют ли старения и паркинсонизма для применения их в диагностике людей с целью профилактики заболевания?»

Методика

Обследованы 274 практически здоровых паркинсонизмом (начальные стадии) пациентов с использованием ЭЭГ, зрительных и слуховых тестов, соответственно, время простой и сложной реакции (Н-рефлекс). Для исследования использовали 17-канальный электроэнцефалограф и интегратор МАФ-5. Активность отводили биполярно (по отводам обеих полушарий. Результаты (диапазоны) выдавались за эпохи пиков.

Вызванные потенциалы при стимуляции специализированного компьютерного комплекса с стимулом 1 мс усреднения записывали на 100 мВ — амплитуда с эпохой 100 мВ.

Для получения ЗВП при стимуляции газоразрядной лампы раздражение кожи над срединным лобным чувствительным или моторным стимулятором SEN-1101. Запись 400 мс. Для определения ВР при стимуляции 1 мс и фотостимулятором ФС-1 при стимуляции аппарата тестирования (Н-рефлекс) с

Физиол. журн., 1990, т. 36,

Физиол. журн., 1990, т. 36, № 5

функциональных систем, включающих кортикоспинальные, оливодентоцеребеллярные и ретикулоспинальные влияния, рефлекторную деятельность спинного мозга и нервно-мышечного аппарата [5, 17—19, 23—25, 29, 35]. Возрастные изменения моторики в значительной мере сказываются на экстрапирамидном звене обеспечения двигательной активности [7, 16, 21, 22, 27]. Так, у старых животных в нормальном состоянии выявляются признаки относительной экстрапирамидной недостаточности (ЭПН) в виде тенденции к гипокинезии и усилению физиологического тремора [12]. Это сочетается с возрастными сдвигами функционального взаимодействия биоэлектрической активности различных ядер экстрапирамидной системы и создает предпосылки для моделирования паркинсонизма в эксперименте [22, 30].

В старости у практически здоровых людей в большей или меньшей мере обнаруживаются признаки ЭПН [7, 9, 20, 24, 27], что находит свое отражение в комплексе клинко-нейрофизиологических и нейромедиаторных изменений на разных уровнях центральной нервной регуляции, но преимущественно в структурах nigro-стриопаллидарной системы (СНСПС) [2, 10, 26]. Предполагается, что возрастные изменения функции СНСПС являются фактором риска и основой для развития паркинсонизма в старости.

В связи с изложенным выше, целью нашей работы явилось изучение функционального состояния головного мозга и его нисходящих регуляторных влияний на стволово-спинальные образования у людей старших возрастов и определение их роли в формировании клинического синдрома возрастной ЭПН, как фактора риска развития паркинсонизма. Постановка такой задачи давала возможность подойти к ответу на основной вопрос: «Если обнаруженные изменения односторонне, существуют ли общие нейрофизиологические признаки при старении и паркинсонизме, информативность которых дает основание для применения их в диагностике скрытой ЭПН у практически здоровых людей с целью принятия мер своевременной профилактики развития заболевания?»

Методика

Обследованы 274 практически здоровых человека в возрасте 20—102 лет и 136 больных паркинсонизмом (начальные стадии). Проведено комплексное нейрофизиологическое обследование пациентов с использованием следующих методов: частотно-интегративного анализа ЭЭГ, зрительных и соматосенсорных вызванных потенциалов (ЗВП и ССВП соответственно), время простой двигательной реакции (ВР), стимуляционной электроэнцефалографии (Н-рефлекс). Для изучения биоэлектрической активности головного мозга использовали 17-канальный электроэнцефалограф ME-175 Д, частотный полосовой анализатор и интегратор МАФ-5 (фирма «Nihon Kohden», Япония). Биоэлектрическую активность отводили биполярно от центрально-теменных и теменно-затылочных областей обоих полушарий. Результаты интегрирования ритмов ЭЭГ (Δ -, θ -, α -, β_1 - и β_2 -диапазоны) выдавались за эпоху анализа, составляющую 10 с, в виде соответствующих пиков.

Вызванные потенциалы регистрировали в области $O-P_3$ и O_2-P_4 с помощью специализированного компьютера АТАС-501-20, в памяти которого производилось синхронизированное со стимулом накопление 32 одиночных вызванных ответов. Результаты усреднения записывали на графопостроителе X-Y (type 3078) в системе координат «время — амплитуда» с эпохой анализа 1 с.

Для получения ЗВП применяли одиночные стимулы (150 мкс, 0,3 Дж) в виде всплеска газоразрядной лампы. При регистрации ССВП применяли электрическое раздражение кожи над срединным нервом в дистальной трети предплечья в соответствии с чувствительным или моторным порогом (от 50 до 150 В) с помощью электрического стимулятора SEN-1101. Запись производили от точек P_3-C_3 и P_4-C_4 , эпоха анализа 400 мс. Для определения ВР использовали нейротахометр НТ-01 при точности измерения 1 мс и фотостимулятор ФС-01 с энергией всплеска 0,3 Дж. Функциональное состояние мотонейронного аппарата спинного мозга оценивали методом моносинаптического тестирования (Н-рефлекс) с помощью электромиографа «Disa», одним из блоков ко-

Результаты и их обсуждение

В качестве объективного критерия оценки функционального состояния ЦНС человека мы использовали измерение ВР. Определяя ВР как период между появлением сигнала и началом ответной реакции, его можно считать мерилom времени центрального моторного ответа. Для оценки уровня кортикальных механизмов контроля движений исследовали время реакции торможения (ВРТ) начавшегося произвольного движения, а также соотношение ВР и ВРТ при старении и паркинсонизме. Установлено относительное увеличение, особенно у стариков и долгожителей, времени центральной задержки при выполнении простой двигательной реакции и ВРТ начавшегося движения. Можно полагать, что это является отражением нарастающей с возрастом ЭПН, при которой развивающаяся брадикинезия препятствует полноценному торможению начавшегося в ответ на стимул движения. При паркинсонизме констатируется связь между увеличением ВР и направлением патологического гемисиндрома. Полученные результаты дают возможность использовать ВРТ в качестве возрастной характеристики функционального состояния СНСПС при старении и применять ее как тест для ранней диагностики ЭПН на начальных стадиях паркинсонизма.

При старении парастают изменения функционального состояния головного мозга, по данным его биоэлектрической активности. С возрастом снижаются частота и интенсивность альфа-ритма, уменьшается энергия быстрых частот, повышается удельный вес медленной части спектра ЭЭГ. У больных паркинсонизмом на начальной стадии выраженность сдвигов биоэлектрической активности достоверно углубляется ($P < 0,01$). Это можно рассматривать как нарушение функциональной активности сложнейших интегративных систем корково-подкоркового уровня и изменение нейродинамических процессов коры больших полушарий в виде снижения функциональной подвижности, преобладания процессов торможения над процессами возбуждения [8, 11]. Можно полагать, что выявленные изменения частотно-интегративных характеристик ЭЭГ являются определенным отражением снижения уровня дофаминергической медиации с возрастом и подтверждением возможного соответствия содержания биогенных аминов в головном мозгу уровню его биоэлектрической активности [1].

Т а б л и ц а 1. Латентный период (мс) компонентов зрительных вызванных потенциалов (ЗВП) у больных паркинсонизмом на начальных стадиях

Группа обследуемых людей								
	Π_{25}	Π_{35}	Π_{47}	H_{70}	Π_{135}	H_{100}	Π_{225}	H_{250}
I. Практически здоровые 45—59 лет	$26,1 \pm 0,73$	$41,8 \pm 1,9$	$58,2 \pm 1,7$	$82,3 \pm 3,5$	$121,6 \pm 2,5$	$192,2 \pm 4,4$	$240,0 \pm 5,8$	$278,6 \pm 5,5$
II. Больные паркинсонизмом 45—59 лет	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,4 \pm 3,2$	$202,5 \pm 3,6$	$252,0 \pm 7,0$	$301,0 \pm 6,8$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
	$26,6 \pm 2,0$	$48,2 \pm 2,2$	$65,7 \pm 2,9$	$92,6 \pm 2,9$	$140,3 \pm 4,0$	$202,1 \pm 4,2$	$269,4 \pm 4,5$	$314,6 \pm 4,3$
	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	$P < 0,001$
</								

ли с медиль-
взражающих
значений до
ответа. Опре-
ных значений

здоровых
линический
и повыше-
е проявле-
сти, в из-
х синкине-
те обнару-
зированных
астота кли-
в функцио-
старческом
проявления

ального со-
Определяя
етной реак-
моторного
контроля дви-
начавшегося
при старе-
ние, особен-
ержки при
негося дви-
арастающей
зия препят-
стимул дви-
увеличением
ученные ре-
возрастной
старении и
начальных

а у практи-
альных ста-
а биоритмов

о состояния
ости. С воз-
а, уменьша-
с медленной
ьной стадии
стоверно уг-
шение функ-
ем корково-
цессов коры
подвижности,
уждения [8,
отно-интегра-
жением сни-
и подтвер-
х аминов в
[1].

Т а б л и ц а 1. Латентный период (мс) компонентов зрительных вызванных потенциалов (ЗВП) у больных паркинсонизмом на начальных стадиях и практически здоровых людей среднего и пожилого возрастов ($M \pm m$)

Группа обследуемых людей	Π_{25}	H_{25}	Π_{47}	H_{47}	Π_{125}	H_{125}	Π_{225}	H_{225}
I. Практически здоровые 45—59 лет	$26,1 \pm 0,73$	$41,8 \pm 1,9$	$58,2 \pm 1,7$	$82,3 \pm 3,5$	$121,6 \pm 2,5$	$192,2 \pm 4,4$	$240,0 \pm 5,8$	$278,6 \pm 5,5$
II. Больные паркинсонизмом 45—59 лет	$26,6 \pm 2,0$ $P_1 > 0,05$	$42,2 \pm 2,2$ $P_1 < 0,05$	$63,7 \pm 2,9$ $P_1 < 0,05$	$92,6 \pm 2,9$ $P_1 < 0,05$	$140,3 \pm 4,0$ $P_1 < 0,01$	$202,1 \pm 4,2$ $P_1 < 0,05$	$269,4 \pm 4,5$ $P_1 < 0,01$	$314,6 \pm 4,3$ $P_1 < 0,001$
III. Практически здоровые 60—74 лет	$26,9 \pm 1,1$	$45,0 \pm 2,0$	$66,4 \pm 1,8$	$85,0 \pm 2,6$	$140,4 \pm 3,2$	$202,5 \pm 3,6$	$252,0 \pm 7,0$	$301,0 \pm 6,0$
IV. Больные паркинсонизмом 60—74 лет	$27,2 \pm 0,88$ $P_2 > 0,05$	$51,4 \pm 2,1$ $P_2 < 0,05$	$78,4 \pm 2,3$ $P_2 < 0,01$	$106,7 \pm 3,8$ $P_2 < 0,01$	$155,0 \pm 2,7$ $P_2 < 0,01$	$212,5 \pm 4,3$ $P_2 < 0,05$	$307,0 \pm 7,2$ $P_2 < 0,001$	$320,8 \pm 4,8$ $P_2 < 0,05$

Примечание. Здесь и в табл. 2 P_1 — достоверность различий между I и II, P_2 — достоверность различий между III и IV.

Т а б л и ц а 2. Латентный период (мс) компонентов сомато-сенсорных вызванных потенциалов (СВП) у больных паркинсонизмом на начальных стадиях и у практически здоровых людей среднего и пожилого возрастов ($M \pm m$)

Группа обследуемых людей	H_{15}	Π_{20}	H_{24}	Π_{32}	H_{42}	Π_{61}	H_{88}	Π_{127}	H_{190}
I. Практически здоровые 45—59 лет	$15,0 \pm 0,1$	$19,0 \pm 1,0$	$24,8 \pm 0,1$	$32,0 \pm 0$	$42,0 \pm 0,8$	$65,2 \pm 1,2$	$83,3 \pm 2,1$	$125,4 \pm 2,3$	$185,9 \pm 4,7$
II. Больные паркинсонизмом 45—59 лет	$15,0 \pm 0,1$ $P_1 > 0,05$	$20,0 \pm 0,1$ $P_1 > 0,05$	$25,0 \pm 0,2$ $P_1 > 0,05$	$32,0 \pm 0,1$ $P_1 > 0,05$	$44,7 \pm 0,6$ $P_1 < 0,05$	$67,1 \pm 1,7$ $P_1 < 0,05$	$89,0 \pm 1,4$ $P_1 < 0,05$	$134,3 \pm 2,7$ $P_1 < 0,05$	$190,0 \pm 3,1$ $P_1 > 0,05$
III. Практически здоровые 60—74 лет	$15,0 \pm 0,1$	$20,0 \pm 0,1$	$24,3 \pm 0,2$	$32,0 \pm 0,1$	$43,5 \pm 0,9$	$65,5 \pm 0,9$	$88,7 \pm 1,3$	$135,0 \pm 3,7$	$195,7 \pm 2,0$
IV. Больные паркинсонизмом 60—74 лет	$15,0 \pm 0,1$ $P_2 > 0,05$	$20,0 \pm 0,1$ $P_2 > 0,05$	$25,0 \pm 0,2$ $P_2 > 0,05$	$32,0 \pm 0,1$ $P_2 > 0,05$	$46,5 \pm 0,7$ $P_2 < 0,05$	$71,7 \pm 2,4$ $P_2 < 0,05$	$97,3 \pm 3,3$ $P_2 < 0,05$	$144,8 \pm 3,1$ $P_2 < 0,05$	$195,0 \pm 3,1$ $P_2 > 0,05$

Результаты исследования ВП в нашей работе способствуют пониманию патофизиологических механизмов, лежащих в основе синдрома паркинсонизма, а также общих закономерностей развития патологии в старости. Некоторые авторы [3, 6] рассматривают клинические проявления паркинсонического синдрома как нарушение системы афферентации, в частности, центральных механизмов афферентного притока. Следует полагать, что выявленное в наших исследованиях удлинение временных параметров компонентов ВП отражает усиление тормозных процессов коры головного мозга у больных паркинсонизмом.

Полученные результаты дают основание полагать, что при старении и паркинсонизме на начальных стадиях происходят односторонние изменения функциональной активности головного мозга, отражающие нарушения корково-подкорковых взаимоотношений, преобладание тормозных процессов.

Для раскрытия сложных межсистемных механизмов регуляции мышечного тонуса в своих исследованиях мы применили нейрофармакологический анализ возбудимости сегментарных спинальных структур, участвующих в формировании ЭПН и моторики при старении и синдроме паркинсонизма. Нейрофармакологическую нагрузку проводили однократно пероральным приемом 10 мг юмекса (табл. 3). Установлено, что у больных паркинсонизмом снижается возбу-

Физиол. журн., 1990. т. 36, № 5

Рис. 1. Возрастные особенности параметров Н-рефлекса у здоровых людей разного возраста: 1 — порог возбудимости, В; 2 — латенция, мс; 3 — амплитуда Н/М, %

Таблица 3. Динамика по-
до и после (через 1 ч) однокр

Физиол. журн., 1990, т. 36

ой активности
ом удлинится
1 и 2). У об-
ом на началь-
статистически
того же воз-
ВП Н₄₂, П₆₂,
стоверно боль-

способствуют
в основе синд-
тей развития
ривают клини-
нарушение си-
мов афферент-
иших исследо-
ВП отражает
больных пар-

ы, в частнос-
ми сенсорной
генезе этих
рых сходятся
тому, в дан-
ивности аффе-
тивности экст-
я.

что при ста-
одят однона-
овного мозга,
ношений, пре-

ежного тонуса
обеспечиваю-
подкорковым
гальной топи-
вали моноси-
ровых людей
ти Н-рефлек-
шение макси-
кает нараста-
и ослабление

регуляции
нейрофарма-
льных струк-
старении и
рузку прово-
(табл. 3).

тся возбуди-
мости Н-ре-
ктивного ин-
мотонейронов
инного мозга
однозначные
ежной ригид-
и субордина-
гальными и
Обнаружен-
огут являть-
роля со сто-

роны высших подкорковых структур над сегментарной возбудимостью, в частности, в звене альфа-мотонейронов. Юмекс, принимаемый больными паркинсонизмом и здоровыми людьми с признаками ЭПН, способствует облегчению нисходящей импульсации из структур nigro-стриопаллидарной системы и снижению выраженности рассогласованной деятельности альфа- и гамма-мотонейронов.

Подтверждением высокой информативности и достоверности методологических подходов к определению центральных механизмов регуляции экстрапирамидной моторики при старении являются результаты изучения корреляции показателей функционального состояния

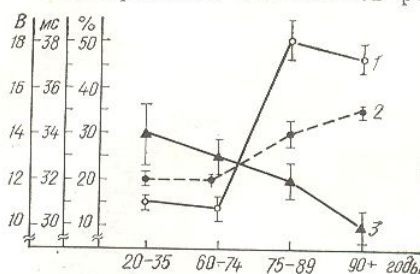


Рис. 1. Возрастные особенности основных параметров Н-рефлекса у практически здоровых людей разного возраста: 1 — порог возбудимости, В; 2 — латентный период, мс; 3 — амплитуда Н/М, %

головного и спинного мозга (рис. 2). Показано, что с возрастом увеличивается число и повышается жесткость взаимоотношений изучаемых показателей, т. е. взаимоотношения становятся более выраженными и разнонаправленными в цепи: возбудимость спинальных мотонейронов → активность медленных биоэлектрических процессов → интенсивность α-ритма.

В результате проведенных комплексных исследований мы получили возможность проанализировать с помощью методов многомерной статистики (дискриминантного анализа, множественной и парной корреляции) более 150 клиничко-нейрофизиологических показателей, характеризующих спонтанную и вызванную активность головного и спинного мозга. Построена математическая структурно-следственная модель и определен полифункциональный показатель — диагностический радиус (DR), включающий семь наиболее информативных параметров, которые могут быть использованы как достоверные признаки для диагностики ЭПН при старении и паркинсонизме. Формула оценки проявлений синдрома паркинсонизма и возрастной ЭПН, выраженная полифункциональным показателем, имеет вид

$$DR = 10,3 - x_3 \cdot 0,545 + x_{10} \cdot 0,42 + x_{15} \cdot 3,26 - x_{18} - 3,88 + x_{25} \cdot 2,2 + x_{30} \cdot 0,78 - x_{12} \cdot 0,55,$$

где x_3 — отношение значений максимальной амплитуды Н- и М-ответов, x_{10} — интенсивность Δ-ритма в РО-отведении левого полушария, x_{15} — интенсивность Δ-ритма в СР-отведении левого полушария, x_{18} — интенсивность β-ритма в СР-отведении левого полушария, x_{25} — латентный период Н₇₀ ЗВП левого полушария, x_{30} — латентный период П₁₃₅ ЗВП левого полушария, x_{42} — латентный период П₁₂₇ ССВП левого полушария.

Таблица 3. Динамика показателей Н-рефлекса у больных паркинсонизмом до и после (через 1 ч) однократного приема юмекса ($M \pm m$)

Группа больных	Порог возбудимости, В		Отношение максимальных амплитуд Н- и М-ответов, %	
	до приема	после приема	до приема	после приема
45—59 лет	10,4 ± 1,9	13,9 ± 2,4	22,2 ± 1,3	9,2 ± 1,8
60—74 лет	8,58 ± 0,87	10,3 ± 1,0	21,1 ± 1,2	11,0 ± 1,3
			P < 0,001	P < 0,001

Информативность в математической модели Δ - и β_1 -ритмов можно рассматривать как отражение активации крайне полярных процессов — возбуждения и торможения. Это обстоятельство объяснимо с позиций компенсаторного напряжения мозга [3]. Нейрофизиологической основой для предложенной нами гипотетической модели оценки функционального состояния головного мозга и спинальных мотонейронов можно считать и концепцию матрицы формирующегося устойчивого патологического состояния [3].

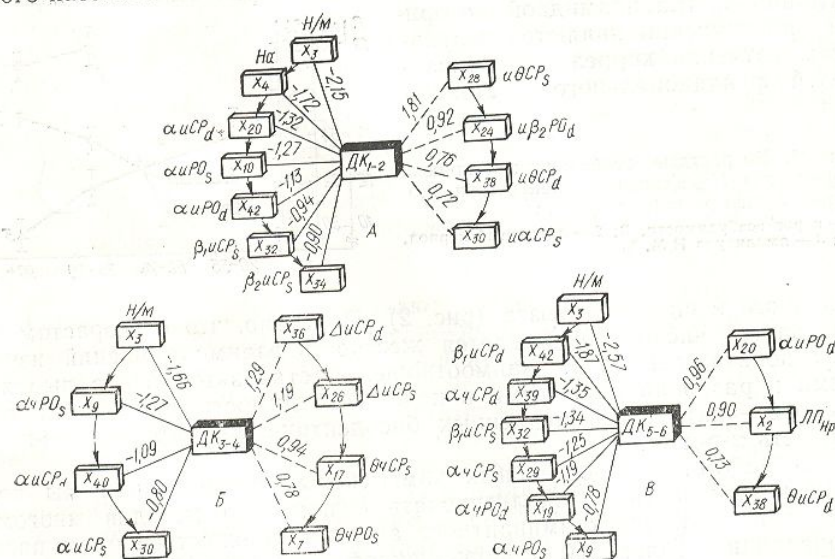


Рис. 2. Возрастные особенности взаимоотношений центрального и спинального уровней регуляции моторики при старении и паркинсонизме: А — дискриминантный коэффициент (ДК) между здоровыми среднего (1) и пожилого (2) возрастов; Б — ДК между здоровыми (3) и больными паркинсонизмом (4) среднего возраста; В — ДК между здоровыми (5) и больными паркинсонизмом (6) пожилого возраста; x_1, x_2, x_3, x_4 — параметры Н-рефлекса: латентный период (ЛПНР), соотношение максимальных амплитуд Н-рефлекса к М-ответу (H/M), амплитуда Н-рефлекса (H_a); x_7, x_8, x_9, x_{10} — частотно-интегративные параметры ЭЭГ: частота (θ) и интенсивность (α) ритмов — $\Delta, \theta, \alpha, \beta_1, \beta_2$ левого (s) и правого (d) полушарий.

Таким образом, результаты проведенных исследований дают основание полагать, что при старении и на начальных стадиях паркинсонизма происходят однонаправленные изменения функционального состояния ЦНС, формирующие возрастную и патологическую ЭПН. Выраженность нейродинамических сдвигов на различных уровнях регуляции экстрапирамидной моторики, вероятно, зависит от уровня нейрогуморальной регуляции и компенсаторных механизмов ЦНС, определяющих старение, виталитет и формирование предрасположенности к болезни [14, 16]. Комплекс нейрофизиологических показателей, отражающих регуляторные влияния ЦНС на нижележащие спинномозговые образования, дает возможность применять их для ранней диагностики скрытых форм двигательных нарушений в старости.

N. B. Mankovsky, I. N. Karaban, E. A. Myalovitskaya

CENTRAL MECHANISMS OF THE DEVELOPMENT OF MOTOR DISORDERS DURING HUMAN AGING

This paper deals with the functional state of the brain and its descending regulatory influences on the brain stem-spinal formations in the elderly. The role of changes revealed in the formation of the clinical syndrome of age-related extrapyramidal insufficiency (EPI) as a risk factor of Parkinson's disease, has been shown. 274 apparently healthy subjects aged from 20 to 102 and 136 patients with early stages of Parkinson's disease were examined. The program of the neurophysiological investigation included: frequency-

integrative analysis of EEG, visual acuity and stimulating electroneuromyography and in Parkinson's disease one-directional related and pathologic EPI occur. The role of the CNS influence on the underlying diagnostics of the motor disorders in a

Institute of Gerontology, Academy of Sciences of the USSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аничков С. В. Избирательное действие. — 294 с.
2. Бархатова В. П. Значение катехоламиновых наблюдений о дегенеративных пятнах — основной НА-эргической патологии. — 1985. — 85, № 7. — С. 1068—1071.
3. Бехтерева Н. П. Здоровый и больной мозг человека. — М.: Наука, 1985. — 241 с.
4. Вейн А. М., Голубев В., Берзинь В. Дудел Дж. Физиология человека.
5. Зенков Л. Р., Мельничук П. В. Иллюстрация, 1985. — 241 с.
6. Маньковский Н. Б., Вайншток А. В. Киев: Здоров'я, 1982. — 208 с.
7. Маньковский Н. Б., Минь А. Я. старения мозга // Вест. АМН СССР. — 1985. — 85, № 7. — С. 1068—1071.
8. Карабань И. Н., Мьяловицкая Е. А. рамидной недостаточности при старении. — М.: Медицина, 1985. — 57 с.
9. Оксамитный В. Н. Влияние дофаминергической дуги на регуляцию моторики. — Киев, 1988. — 19 с.
10. Русин В. С., Гриндель О. М., Гриндель О. М. — М.: Медицина, 1985. — 57 с.
11. Рушквич Ю. Е. Возрастные особенности поведения к крыс // Бюл. эксперим. биол. — 1985. — 57 с.
12. Старобинец М. Х., Волкова Л. А. аппарата спинного мозга человека. — М.: Медицина, 1985. — 57 с.
13. Фролькис В. В. Старение. Неврология. — 1981. — 320 с.
14. Фролькис В. В. Процессы старения. — 1986. — № 10. — С. 8—10.
15. Фролькис В. В., Бурчинский С. В. вите паркинсонизма // Журн. неврол. — 1988. — Вып. 9. — С. 137—145.
16. Cracco R. Q. Physiological basis of encephalography. — Clin. Neurophysiol. — 1987. — 23, N 1—2. — P. 8—10.
17. Elazar Z. Normal and abnormal aging. — 1987. — 23, N 1—2. — P. 8—10.
18. Dichgans J., Diener H. C. The leg muscles of neurological patients. — 1987. — P. 165—175.
19. Finch C. E., Marchall J. F., Rago G. Gerontol. Geriatrics. — 1981. — N 1. — P. 33—35.
20. Gage F. Aged rats: recovery of function. — 1983. — 221, N 2. — P. 1—3.
21. Marsden C. D., Sandler M. The motor system. — 1986. — Suppl. 20. — P. 1—3.
22. McGeer P. Aging and extrapyramidal function. — 1981. — 34, N 1. — P. 33—35.
23. Meir-Ruge W. Pathophysiology of aging. — 1981. — 34, N 1. — P. 33—35.
24. Poirier L. J., Bedard P. J. Behav. J. Neurol. Sci. — 1984. — 11, N 1. — P. 1—3.
25. Mouchet P., Petit J., Guerin J. macol. — 1986. — 17, N 4. — P. 5—7.
26. Rinne U. K. Parkinson's disease. — 1982. — 28, Suppl. — P. 1—3.
27. Takada M., Li Z., Hattori T. I.

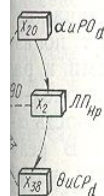
ритмов мож-
ных процес-
объяснимо с
физиологиче-
дели оценки
ых мотоней-
ероя устой-

integrative analysis of EEG, visual and somatosensory potentials, simple motor reaction time and stimulating electroneuromyography (H reflex). It has been found that in aging, and in Parkinson's disease one-directional changes in the CNS function that form age-related and pathologic EPI occur. The complex of neurophysiological indices is a reflection of the CNS influence on the underlying spinal formations, and it can be used for early diagnostics of the motor disorders in aging.

Institute of Gerontology, Academy of Medical Sciences
of the USSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анчиков С. В. Избирательное действие медиаторных систем.— Л.: Медицина, 1979.— 294 с.
2. Бархатова В. П. Значение катехоламинов в регуляции двигательных функций. Клинические наблюдения о дегенерации у больных паркинсонизмом нейронов голубого пятна — основной НА-эргической структуры С. М. // Журн. невропатол. и психиатрии.— 1985.— 85, № 7.— С. 1068—1074.
3. Бехтерева Н. П. Здоровый и больной мозг человека.— Л.: Наука, 1986.— 208 с.
4. Вейн А. М., Голубев В., Берзиньш Т. Паркинсонизм.— Рига: Зинатне, 1981.— 325 с.
5. Дубел Дж. Физиология человека.— М.: Мир, 1985.— Т. 1.— 266 с.
6. Зенков Л. Р., Мельничук П. В. Центральные механизмы афферентации.— М.: Медицина, 1985.— 241 с.
7. Маньковский Н. Б., Вайншток А. Б., Олейник Л. И. Сосудистый паркинсонизм.— Киев: Здоров'я, 1982.— 208 с.
8. Маньковский Н. Б., Минц А. Я., Белоног Р. П. Клинико-физиологические аспекты старения мозга // Вест. АМН СССР.— 1984.— № 3.— С. 45—53.
9. Карабань И. Н., Мясоецкая Е. А. Клинико-физиологические особенности экстрапирамидной недостаточности при старении и паркинсонизме: Тез докл. на VIII Всесоюз. съезде невропатологов, психиатров и наркологов.— М., 1988.— Т. 1.— С. 55—57.
10. Оксамитный В. Н. Влияние дофамина на передачу возбуждения в сегментарной рефлекторной дуге изолированного спинного мозга крысы: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Киев, 1988.— 19 с.
11. Русинов В. С., Гриндель О. М., Болдырева Г. И., Ванар Е. М. Биопотенциалы мозга человека.— М.: Медицина, 1987.— 256 с.
12. Рушкевич Ю. Е. Возрастные особенности развития резерпиновой модели паркинсонизма у крыс // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1987.— 104, № 12.— С. 654—657.
13. Старобинец М. Х., Волкова Л. Д. Особенности функционирования сегментарного аппарата спинного мозга человека при различных формах нарушения нисходящего контроля // Физиология человека.— 1988.— 14, № 2.— С. 237—247.
14. Фролькис В. В. Старение. Нейрогуморальные механизмы.— Киев: Наук. думка, 1981.— 320 с.
15. Фролькис В. В. Процессы саморегуляции и механизмы старения // Вест. АМН СССР.— 1986.— № 10.— С. 8—15.
16. Фролькис В. В., Бурчинский С. Г., Рушкевич Ю. Е. Возрастные предпосылки развития паркинсонизма // Журн. невропатологии и психиатрии им. С. С. Корсакова.— 1988. Вып. 9.— С. 137—145.
17. Cracco R. Q. Physiological basis of the effects of motor cortex stimulation // Electroencephalog. and Clin. Neurophysiol.— 1987.— 66, N 5.— P. 23.
18. Elazar Z. Normal and abnormal motor functions of reticular formation // Isr. J. Med. Sci.— 1987.— 23, N 1—2.— P. 84—88.
19. Dichgans J., Diener H. C. The use of short- and long-term latency reflex testing in leg muscles of neurological patients // Clin. Aspects Sens. Motor Integration.— Berlin e. a., 1987.— P. 165—175.
20. Finch C. E., Marchall J. F., Randall P. K. Aging and basal ganglia function // Rev. Gerontol. Geriatrics.— 1981.— N 2.— P. 49—86.
21. Gage F. Aged rats: recovery of motor impairments by intrastriatal nigral graft // Science.— 1983.— 221, N 2.— P. 966—969.
22. Marsden C. D., Sandler M. The MPTP story: an introduction // J. Neural. Transm.— 1986.— Suppl. 20.— P. 1—3.
23. McGeer P. Aging and extrapyramidal function // Arch. Neurol. (Chicago).— 1977.— 34, N 1.— P. 33—35.
24. Meir-Ruge W. Pathophysiologie des alternden Gehirns // Aktuel. Gerontol.— 1976.— Bd. 6, N 4.— S. 177—178.
25. Poirier L. J., Bedard P. J. Behaviour correlates of neurotransmitter activity // Canad. J. Neurol. Sci.— 1984.— 11, N 1.— P. 100—104.
26. Mouchet P., Petit J., Guerin B. et al. Le systeme dopaminergique spinal // J. Pharmacol.— 1986.— 17, N 4.— P. 523—540.
27. Rinne U. K. Parkinson's disease as a model for changes in dopamine receptors // Gerontology.— 1982.— 28, Suppl. 1.— P. 35—52.
28. Takada M., Li Z., Hattori T. Long descending direct projection from the basal gang-



льного уровня

ого (2) возрастов;
и; В — ДК между
параметры Н-ре-
флекса к М-ответу
ЭЭГ: частота (и)

ий дают ос-
ниях паркин-
ционального
скую ЭПН.
уровнях ре-
от уровня
мов ЦНС,
сположенно-
показателей,
ние спинно-
для ранней
простоты.

regulatory in-
changes revealed
al insufficiency
arently healthy
inson's disease
ded: frequency-

- lia to the spinal cord: a revival of extrapyramidal concept // Brain Res.—1987.— 436, N 1.— P. 129—135.
29. Vallbo A. Alpha-gamma-linkage and the rate of muscle spindle primary afferents in natural movements // Acta Physiol. scand.—1986.— 124, Suppl. 542.— P. 78.
30. Wiesendanger M. Animal models of motor disorders // Electromyogr. and Evok. Potentials: Theor. and Appl.— Berlin etc., 1985.— P. 2—8.

Ин-т геронтологии АМН СССР, Киев

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

УДК 612.43—017.1:612.67

Д. Мейтес

Роль нейроэндокринной системы в старении

Потенциальную важность нейроэндокринной системы (НЭС), в частности взаимодействия гипоталамус — гипофиз — орган-мишень, в период старения одними из первых признали Ascheim во Франции, Фролькис и Дильман в СССР, Everitt в Австралии, Peng на Тайване, а также наша лаборатория в США. В работе, начатой с 1960 года, Ascheim [1] показал, что пересадка яичников старых нециклирующих крыс-самок молодым овариэктомированным крысам приводит к восстановлению цикла у молодых крыс. Это свидетельствует о том, что яичники старых крыс не несут ответственности за прекращение циклов, что подтвердили Peng и соавт. [35], которые также показали восстановление цикличности у некоторых молодых крыс при трансплантации гипофиза старых нециклирующих крыс молодым гипофизэктомированным. Это может указывать на то, что гипофиз старых крыс также не несет основной ответственности за нарушения эстрального цикла в старости, и что дефекты следует искать в функции гипоталамуса. Впервые в нашей лаборатории получены прямые данные о вовлечении в этот процесс гипоталамуса: электрическая стимуляция преоптической зоны (контролирующей овуляцию у крыс) или введение нейротропных препаратов вызывали восстановление эстральных циклов у старых нециклирующих крыс [7].

Frolkis [16] показал снижение числа секреторных гранул в гипоталамусе старых крыс по сравнению с молодыми. По его мнению, это может свидетельствовать о гипоталамической «дисрегуляции» при старении. Сотрудники нашей [29—31] и других [40, 49] лабораторий отметили значительное снижение концентрации катехоламинов (КА) и некоторых гипофизотропных пептидов: лютеотропин-рилизинг-фактора (ЛГ-РФ, TRF соответственно), соматостатина в гипоталамусе старых крыс. Это может быть связано со снижением числа секреторных гранул [16].

С 1970 года предлагалось несколько теорий о роли НЭС в механизмах старения. По мнению Dilmann [10], чувствительность гипоталамуса к действию гормонов с возрастом снижается. Вследствие чего повышается секреция гипоталамических, гипофизарных гормонов, что ускоряет старение. Очевидно, такая точка зрения основана на общеизвестном факте снижения секреции гормонов яичниками у женщин в менопаузе, что ведет к значительному повышению секреции гонадотропных гормонов гипофиза. Однако у крыс, в отличие от людей, основной причиной снижения репродуктивной функции является нарушение гипоталамических функций, а не функций яичников. Об этом свидетельствует возможность восстанавливать эстральные циклы у старых крыс коррекцией дисфункций гипоталамуса [29, 30]. Более

© Д. МЕЙТЕС, 1990.

того, по крайней мере, у крыс, не повышение, а не снижение функций происходит у человека, но к нашему вопросу очень мало. Тем не менее полученные в эксперименте, человека и наоборот.

Наши исследования связи НЭС и первоначально основывались на снижении деятельности НЭС оказываемое снижением многих функций. С поддержкой этого положения. Остае положение по отношению к старению работы по изучению НЭС развития.

Everitt и соавт. [11] предположили, что в том числе рака, и соавт. [11] делают вывод, что многих тканей организма. В условиях (гипофизэктомия или жеется справедливым. Однако животных, находящихся на рация недостаточность обычно саций организма.

Мы изучали, в основном, функции организма при стивной функции; снижение секбелка; снижение функциональвзаимоотношений нейроэндокриизменения описаны ранее [28—вкратце.

Ослабление репродуктивной реющих самцов вызывается прадриналина (НА) в гипоталамния гипоталамусом ЛГ-РФ, чывыделения гонадотропинов гип[28, 30, 40, 49]. Изменения маторных системах, но их ролв настоящее время не известна стимуляцию ЛГ-РФ [18, 2нию с дефектами функции гипили других препаратов, повыспособно восстановить эстралцию тестостерона у самцов. задерживает прекращение эсамок [30].

Снижение секреции ГР и важным стимулятором синтезание на почки, печень, поджелудочный аппарат, а также на липидных изучении секреции ГР узначительных изменений у с[23, 46]. Однако [32] при куи молодой крыс гипофизарна33 % ГР по сравнению с такс

До 1976 года оставалось ми. Martin [25] показал, что

того, по крайней мере, у крыс, с возрастом отмечается общее снижение, а не повышение, функций гипоталамуса. Вероятно, то же самое происходит у человека, но к настоящему времени информации по этому вопросу очень мало. Тем не менее, данные о роли НЭС в старении; полученные в эксперименте, нельзя безоговорочно переносить на человека и наоборот.

Наши исследования связи НЭС со старением начались в 1960 году и первоначально основывались на положении о том, что ослабление деятельности НЭС оказывает значительное влияние на возрастное снижение многих функций. Сейчас накоплено много данных в поддержку этого положения. Остается выяснить, справедливо ли это положение по отношению к стареющему человеку. До настоящего времени работы по изучению НЭС у пожилых людей не получили развития.

Everitt и соавт. [11] представили данные опытов на гипофизэктомизированных крысах и крысах, находившихся на калорийно ограниченной диете, согласно которым гормоны ускоряют, а не замедляют, старение. Гипофизэктомия и ограничение диеты вызывают снижение секреции гормонов и способствуют сохранению функций организма. Показано также, что ограничение калоража диеты тормозит развитие патологии, в том числе рака, и продлевает жизнь. Поэтому Everitt и соавт. [11] делают вывод, что гормоны способны ускорять старение многих тканей организма. В рамках созданных экспериментальных условий (гипофизэктомия или ограничение диеты), такой вывод кажется справедливым. Однако его нельзя переносить на интактных животных, находящихся на рационе *ad libitum*, у которых гормональная недостаточность обычно связана с возрастным снижением функций организма.

Мы изучали, в основном, три аспекта нейроэндокринной регуляции функций организма при старении крысы: ослабление репродуктивной функции; снижение секреции гормона роста (ГР) и синтеза белка; снижение функциональной активности тимуса и изменение взаимоотношений нейроэндокринной и иммунной систем. Так как эти изменения описаны ранее [28—30], они будут рассмотрены ниже лишь вкратце.

Ослабление репродуктивной функции. Прекращение цикла у стареющих самцов вызывается прежде всего снижением содержания норадреналина (НА) в гипоталамусе, что приводит к снижению выделения гипоталамусом ЛГ-РФ, что, в свою очередь, вызывает снижение выделения гонадотропинов гипофизом и ослабляет стимуляцию гонад [28, 30, 40, 49]. Изменения могут происходить и в других нейромедиаторных системах, но их роль в снижении репродуктивной функции в настоящее время не известна. Кроме того, гипофиз слабее реагирует на стимуляцию ЛГ-РФ [18, 29]. Однако все это вторично по сравнению с дефектами функции гипоталамуса, так же как введение *L*-ДОФА или других препаратов, повышающих выделение НА гипоталамусом, способно восстановить эстральные циклы у самок и повысить секрецию тестостерона у самцов. Показано также, что введение *L*-ДОФА задерживает прекращение эстральных циклов у циклирующих крыс-самок [30].

Снижение секреции ГР и синтеза белка. ГР является наиболее важным стимулятором синтеза белка в организме. Он оказывает влияние на почки, печень, поджелудочную железу, опорно-двигательный аппарат, а также на липидный и углеводный обмены. На ранних этапах изучения секреции ГР у животных и людей не обнаружено ее значительных изменений у старых людей по сравнению с молодыми [23, 46]. Однако [32] при культивировании *in vitro* гипофиза 2-летней и молодой крыс гипофизарная ткань старой крысы выделяла лишь 20—33 % ГР по сравнению с таковой молодой крысы.

До 1976 года оставалось неизвестным, что ГР выделяется квантами. Martin [25] показал, что у самцов ГР выделяется квантами каж-

дые 3—4 ч. У самок единичный небольшой квант отмечается каждый час. Значительное повышение секреции ГР происходит в первые часы сна и у мужчин, и у женщин, составляя основную часть ГР, секретированного за 24 ч. Определяя квантовое выделение ГР, мы обнаружили более значительное снижение амплитуды этого выделения, но не частоты, у старых крыс по сравнению с молодыми [41, 42]. В пересчете на сутки мы обнаружили, что старые крысы выделяли половину количества ГР по сравнению с молодыми: крысы в возрасте 11 мес выделяли лишь половину количества ГР по сравнению с 4—5-месячными. В возрасте 24—28 мес значение этого показателя составило лишь 40 % [44]. Старые самки также выделяли лишь половину соматомедина по сравнению с молодыми [45]. Соматомедин синтезируется в основном печенью, и его секреция находится под контролем ГР. Предполагают, что соматомедин оказывает действие непосредственно на ткани, активируя биосинтез белка. Показано, что у старых людей амплитуда выделения квантов секретированного ГР значительно снижается во время сна или она вовсе не обнаруживается [14]. Секреция соматомедина также снижается [15].

Секреция ГР контролируется двумя гипоталамическими пептидными гормонами — рилизинг-фактором ГР (РФГР), стимулирующим секрецию ГР, и соматостатином, ингибирующим секрецию ГР. По результатам наших исследований, выделение соматостатина гипоталамусом увеличивается у старых крыс [41]. Есть также предварительные данные о том, что у старых крыс выделение РФГР снижается [33]. Показано, что дофамин (ДА) и НА (особенно) стимулируют выделение ГР у животных и человека [25], вероятно, повышая выделение РФГР и снижая выделение соматостатина. Мы обнаружили, что введение L-ДОФА (2 раза в сутки в течение 8 сут) старым самцам повышает амплитуду импульсов ГР до ее значений у молодых [41]. Ежедневные инъекции ГР старым самцам восстанавливали синтез белка до уровня молодых самцов, тогда как L-ДОФА был лишь частично эффективен после активации синтеза белка у старых крыс [41]. Введение ГР старым самцам значительно увеличивало также массу печени, почек, сердца, селезенки [31] и тимуса. Kelley и соавт. [22] обнаружили, что введение ГР старым крысам восстанавливает не только массу тимуса до ее значений у молодых животных, но и функцию его клеток.

В дополнение к гипоталамическим факторам снижения секреции ГР у старых крыс мы наблюдали у них пониженное выделение ГР гипофизом в ответ на введение РФГР по сравнению с молодыми крысами [41]. Вероятно, это является следствием повышенного выделения соматостатина гипоталамусом старых животных. В настоящее время не ясны причины пониженного выделения ГР и соматомедина у старых людей, хотя есть данные о снижении содержания КА в мозгу и гипоталамусе пожилых людей [20]. Неизвестно, имеет ли это какое-либо отношение к снижению секреции ГР и соматомедина.

Снижение функциональной активности тимуса и изменение взаимоотношений нейроэндокринной и иммунной систем. У человека и животных иммунитет снижается с возрастом. Наибольшее уменьшение размера тимуса — основного компонента иммунной системы — происходит во время полового созревания, когда активируются половые гормоны. Предполагают, что возрастное снижение иммунитета способствует развитию патологий, в том числе опухолей. Установлено, что иммунная функция модулируется гормонами [8]. В целом, ГР, тиреотропный гормон (ТТГ), тироксин, пролактин (ПРЛ), и, вероятно, инсулин стимулируют иммунную функцию, тогда как половые и глюкокортикоидные стероиды подавляют. Мозг также вовлечен в иммунную функцию. Таким образом, нарушения электролитного обмена, ретикулярной формации или superior colliculus вызывают резкую инволюцию тимуса и нарушение синтеза антител [21]. Есть также данные о том, что иммунная система может влиять на нейроэндокринную

функцию, и что при определенных гормонах. Тимус продолжает оказывать воздействие на им аденокортикотропина (АКТГ).

Blalock и соавт. [3] пока выделяют несколько гормонов, Активация иммунного ответа ность гипоталамуса и вызывае

Относительно мало внимания взаимоотношения НЭС с иммуналось о возможной связи функции тимуса у старых крыс установили, что гормональное или введение лимфоцитов зрел продлевает жизнь короткоживущ (средняя продолжительность жизни выпадение волос, атрофию ко двусторонней катаракты. Эти дальнейшее изучение взаимодействия старения может способствовать ных за снижение гомеостатичес

Каковы причины снижения В наших исследованиях на кр роли снижения активности НА родуктивной функции, развития физа, снижении секреции ГР тета. Роль генома в снижении есть данные о том, что фактс вызывать повреждение катех потеря нейронов в гипоталамус нейроны обнаружены в аркуласти, вентромедиальном и л крыс [4, 38].

Гормоны способны оказыв роны гипоталамуса. Особая р дение продолжительно дейс вызывало дегенерацию дендр стимулировало накопление ли медиобазального отдела гипот дали при повреждении нейро жит посредником между прес ляцию у крыс, и срединным ляется в портальные сосуды. ны, секретирующие и выделя которого он попадает в порта. Результаты работы нашей ла воздействие эстрогенами повр куатного ядра молодых крыс овариэктомии, проведенной мыши (13), пересадка, спуск ков молодых крыс, приводит продолжавшихся еще длител того, как у интактных контро тился.

Продолжительное увелич повреждать дофаминергическ мулируют его секрецию, возм ронов повреждается при дл же как и ПРЛ. Глюкокорти нейроны гиппокампа [24] — гипоталамусом. Возможно, ч

каждый
ые часы
секрети-
обнару-
ения, но
]. В пе-
ли поло-
е 11 мес
5-месяч-
оставило
вину со-
тезирует-
лем ГР.
дственно
х людей
вно сни-
секреция

пептид-
рующим
. По ре-
ипотала-
аритель-
нижается
улируют
ая выде-
ружили,
ым сам-
молодых
или син-
ил лишь
ях крыс
о также
и соавт.
авливает
х, но и
секреции
ение ГР
ми кры-
выделе-
стоящее
омедина
в мозгу
это ка-
а.
ше вза-
века и
меньше-
я —про-
половые
та спо-
ено, что
ГР, ти-
ероятно,
и глю-
иммун-
ена, ре-
ю инво-
ке дан-
ринную

функцию, и что при определенных условиях она даже может продуцировать гормоны. Тимус продуцирует некоторые гормоны, способные оказывать воздействие на иммунитет. Они стимулируют секрецию аденокортикотропина (АКТГ), ЛГ и снижают секрецию ТТГ [17].

Blalock и соавт. [3] показали, что активированные лимфоциты выделяют несколько гормонов, включая АКТГ, ТТГ и бета-эндорфин. Активация иммунного ответа также повышает электрическую активность гипоталамуса и вызывает снижение обмена НА [2].

Относительно мало внимания в литературе уделено изучению взаимоотношения НЭС с иммунной системой при старении. Уже упоминалось о возможной связи снижения секреции ГР с ослаблением функции тимуса у старых крыс. Кроме того, Fabris и Piantanelli [12] установили, что гормональное восстановление лимфоидной системы или введение лимфоцитов зрелого лимфатического узла значительно продлевает жизнь короткоживущих мышей линии Snell Begg Dwarf (средняя продолжительность жизни 5 мес), корректирует поседение и выпадение волос, атрофию кожи и подкожной клетчатки и развитие двусторонней катаракты. Эти наблюдения свидетельствуют о том, что дальнейшее изучение взаимодействия НЭС и иммунной системы при старении может способствовать пониманию механизмов, ответственных за снижение гомеостатических функций в этот период.

Каковы причины снижения функций гипоталамуса при старении? В наших исследованиях на крысах основное внимание было уделено роли снижения активности НА и ДА гипоталамуса в ослаблении репродуктивной функции, развитии опухолей молочной железы и гипопиза, снижении секреции ГР и синтеза белка и снижении иммунитета. Роль генома в снижении активности НА и ДА не известна, но есть данные о том, что факторы внутренней и внешней среды могут вызывать повреждение катехоламинергических нейронов. Отмечена потеря нейронов в гипоталамусе старых крыс [27, 35]. Поврежденные нейроны обнаружены в аркуатном ядре, средней преоптической области, вентромедиальном и латеральном ядрах гипоталамуса старых крыс [4, 38].

Гормоны способны оказывать повреждающее воздействие на нейроны гипоталамуса. Особая роль в этом отводится эстрогенам. Введение продолжительно действующего эстрогена молодым крысам вызывало дегенерацию дендритов и аксонов, повышало глиозис и стимулировало накопление липофусцина в нейронах аркуатного ядра медиобазального отдела гипоталамуса. Аналогичную картину наблюдали при повреждении нейронов у старых крыс. Аркуатное ядро служит посредником между преоптической областью, регулирующей овуляцию у крыс, и срединным возвышением, из которого РФГР выделяется в портальные сосуды. Аркуатное ядро содержит также нейроны, секретирующие и выделяющие ДА в срединное возвышение, из которого он попадает в портальные сосуды, ингибируя секрецию ПРЛ. Результаты работы нашей лаборатории показывают, что хроническое воздействие эстрогенами повреждает дофаминергические нейроны аркуатного ядра молодых крыс [38]. Также было показано, что после овариэктомии, проведенной на раннем этапе жизни крысы [1] или мыши (13), пересадка, спустя много месяцев, этим животным яичников молодых крыс, приводит к восстановлению эстральных циклов, продолжавшихся еще длительное время (несколько месяцев) после того, как у интактных контрольных крыс эстральный цикл прекратился.

Продолжительное увеличение продукции ПРЛ также способно повреждать дофаминергические нейроны [38]. Так как эстрогены стимулируют его секрецию, возможно, что часть гипоталамических нейронов повреждается при длительном воздействии эстрогенами, так же как и ПРЛ. Глюкокортикоидные гормоны способны повреждать нейроны гиппокампа [24] — области мозга, взаимодействующей с гипоталамусом. Возможно, что хроническое действие других гормо-

нов также повреждает нейроны гипоталамуса на протяжении жизни.

Известно, что свободные радикалы поражают клетки многих тканей, включая нейроны гипоталамуса. Предполагают, что цитотоксические эффекты могут быть следствием метаболизма ДА и НА с образованием перекиси водорода, супероксидных и гидроксильных радикалов [9]. Возможно, токсины внешней и внутренней сред могут повреждать нейроны гипоталамуса и мозга. Синтезированы нейротоксины, например, 6-оксидофамин, которые специфически поражают адренергические нейроны. Глутамат натрия, введенный молодым крысам или мышам, специфически повреждает аркуатное ядро. С возрастом у крыс и других видов животных отмечается накопление липофусцина в нейронах мозга, включая гипоталамус, и в некоторых клетках эндокринных желез [43], способного нарушить функцию клеток.

Вероятно также, что интенсивный метаболизм в самой НЭС на протяжении жизни ведет к повреждению нейронов гипоталамуса и клеток эндокринных желез. На это указывают экспериментальные исследования, свидетельствующие о том, что ограниченное питание может замедлить старение, сохранить морфологическую и функциональную целостность многих тканей, способствовать поддержанию иммунитета, увеличить продолжительность жизни [26]. Показано, что калорийно недостаточная диета снижает содержание КА в гипоталамусе [50], а также выделение гормонов из гипоталамуса, гипофиза и желез-мишеней [6]. По нашему мнению, ограниченное питание увеличивает продолжительность жизни у крыс и мышей в основном за счет снижения «износа» НЭС и контролируемых ею органов и тканей.

J. Meites

ROLE OF THE NEUROENDOCRINE SYSTEM IN AGING PROCESSES

The study involves 3 aspects of neuroendocrine control over the organism functions in aging: the decline in reproductive functions, the reduction of growth hormone secretion and the decrease in thymic functional activity and the altered relationship between neuroendocrine and immune systems. The role that an age-related decrease in dopamine and noradrenaline production by hypothalamic neurones plays in the above age changes in neuroendocrine control has been traced. The age-related decrease in functions of hypothalamic catecholaminergic neurones is apparently caused by the damaging effect of hormones (prolactin, glucocorticoids and, especially, estrogen), free radicals and toxins, both of the endogenous and exogenous origin. The restrained nutrition increases lifespan of the experimental animal owing to reduced «wear out» of the neuroendocrine system and organs and tissues that are controlled by this system.

Department of Physiology, Michigan State University,
East Lansing, Michigan, USA

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Aschheim P. Aging in the hypothalamic-hypophyseal ovarian axis in the rat // *Hypothalamus, Pituitary and Aging*.— Springfield: Ch. C. Thomas, 1976.— P. 376—418.
2. Besedovsky H. O., Del Rey A., Sorkin E. et al. The immune response evokes changes in brain noradrenergic neurons // *Science*.— 1983.— 221.— P. 564—566.
3. Blalock J. E., Harbour-McMenamin D., Smith E. Peptide hormones shared by the neuroendocrine and immunologic systems // *J. Immunol.*— 1985.— 135.— P. 858S—861S.
4. Brawer J. J., Naftolin F., Martin J., Sonnenschein C. Effects of a single injection of estradiol valerate on the hypothalamic arcuate nucleus and on reproductive function in the female rat // *Endocrinology*.— 1978.— 103.— P. 501—512.
5. Brown-Sequard C. E. Des effets produits chez l'homme par des injections sous-cutanées d'un liquide retiré des testicules frais de cobaye et de chien // *C. r. Seances Soc. Biol.*— 1889.— Ser. 9.— 1.— P. 415—419.
6. Campbell G. A., Kurcz M., Marshall S., Meites J. Effects of starvation on serum levels of follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, thyrotropin, growth hormone, and prolactin; response to L—releasing hormone and thyrotropin releasing hormone // *Endocrinology*.— 1977.— 100.— P. 580—587.

7. Clemens J. A., Amenomori Y., Je-
tion, hormones, and drugs on ov
Biol. and Med.— 1969.— 182.— P.
8. Comsa J., Leonhardt H., Wekerle
Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.
9. Davison A. N. Functional morpho-
aging // *Modifications of Cell*
Aging.— Berlin: Springer Verlag
10. Dilman V. M. The hypothalamic
Hypothalamus, Pituitary and Ag
667.
11. Everitt A. V. Hormonal basis of
lation of Neuroendocrine Aging.—
12. Fabris N., Piantanelli L. Thymus
aging // *Endocrine and Neuroen*
Press, 1982.— P. 167—184.
13. Finch C. E., Felicio L. S., Mobbs
on neuroendocrine aging process
P. 467—497.
14. Finkelstein J., Roffwarg H., Bog
hour spontaneous secretion of g
1972.— 35.— P. 665—670.
15. Florini J., Prinz P., Vitiello M.,
old men: relationship to peak a
1985.— 40.— P. 2—7.
16. Frolkis V. V. The hypothalamic
Aging.— Springfield: Ch. C. Tho
17. Goldstein A. L., Low T. L. K.,
other hormones of the thymu
P. 369—415.
18. Harman S. M., Talbert G. B.
Aging.— New York: Van Nostran
19. Hayflick L. Theories of biolog
159.
20. Hornykiewicz O. Neurotransmit
cation of Cell to Cell Signals
Springer Verlag, 1986.— P. 169—
21. Jankovic B. D., Isakovic K. Neu
of brain lesions on antibody pro
in the rat // *Int. Arch. Allergy*.—
22. Kelley K. W., Brief S., Westl
reverse thymic aging in rats //
5667.
23. Korenchevsky V. Physiological a
24. Landfield P. W., Waymire J. L.
quantitative correlations // *Scien*
25. Martin J. B. Brain regulation o
crinology.— New York: Raven p
26. Masoro E. J. Nutrition as a mo
27.— P. 98—101.
27. Matsumoto A., Arai Y. Synaptic
ve Neurohormonal Mechanisms.—
28. Meites J. Control of prolactin
Active Peptides.— Amsterdam: I
29. Meites J. Changes in neuroen
aging // *Neuroendocrinology*.—
30. Meites J. Neuroendocrine basis
Aging.— Basel: Karger, 1988.—
31. Meites J., Goya R., Takahashi S
processes // *Exp. Gerontol.*— 19
32. Meites J., Hopkins T. F., Deub
vitro // *Fed. Proc.*— 1962.— 21.—
33. Morimoto N., Kawakami F., M
releasing factor, and somatosta
1988.— 47.— P. 459—464.
34. Orgel L. The maintenance of t
aging // *Proc. Nat. Acad. Sci. U*
35. Peng M. T. Changes in hormo
aging // *Neuroendocrinology of*
36. Post K. D., Jackson J. M. D.,
num press. 1980.
37. Sarkar D. K., Gottschall P. E.,
rons is associated with develo
ce.— 1982.— 218.— P. 684—686.
38. Sarkar D. K., Gottschall P. E.

7. Clemens J. A., Amenomori Y., Jenkins T., Meites J. Effects of hypothalamic stimulation, hormones, and drugs on ovarian function in old female rats // *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*—1969.—182.—P. 561—563.
8. Comsa J., Leonhardt H., Wekerle H. Hormonal coordination of the immune response // *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*—1982.—92.—P. 115—191.
9. Davison A. N. Functional morphology of neurons during normal and pathological aging // *Modifications of Cell to Cell Signals during Normal and Pathological Aging*.—Berlin: Springer Verlag, 1987.—P. 1—16.
10. Dilman V. M. The hypothalamic control of aging and age-associated pathology // *Hypothalamus, Pituitary and Aging*.—Springfield: Ch. C. Thomas, 1976.—P. 634—667.
11. Everitt A. V. Hormonal basis of aging: anti-aging action of hypophysectomy // *Regulation of Neuroendocrine Aging*.—Basel: Karger, 1988.—P. 51—60.
12. Fabris N., Piantanelli L. Thymus-neuroendocrine interactions during development and aging // *Endocrine and Neuroendocrine Mechanisms of Aging*.—Boca Raton: CRC Press, 1982.—P. 167—184.
13. Finch C. E., Felicio L. S., Mobbs C. V., Nelson J. F. Ovarian and steroidal influence on neuroendocrine aging processes in female rodents // *Endocrine Rev.*—1984.—5.—P. 467—497.
14. Finkelstein J., Roffwarg H., Boyar R. et al. Age-related changes in the twenty-four hour spontaneous secretion of growth hormone // *J. Clin. Endocrinol. and Metabol.* 1972.—35.—P. 665—670.
15. Florini J., Prinz P., Vitiello M., Hintz R. Somatomedin-C levels in healthy young and old men: relationship to peak and 24-hour integrated levels of GH // *J. Gerontol.*—1985.—40.—P. 2—7.
16. Frolikis V. V. The hypothalamic mechanisms of aging // *Hypothalamus, Pituitary and Aging*.—Springfield: Ch. C. Thomas, 1976.—P. 614—633.
17. Goldstein A. L., Low T. L. K., Thruman G. B. et al. Current status of thymosin and other hormones of the thymus gland // *Rec. Prog. Hormone Res.*—1981.—37.—P. 369—415.
18. Harman S. M., Talbert G. B. Reproductive aging // *Handbook of the Biology of Aging*.—New York: Van Nostrand Reinhold, 1985.—P. 457—510.
19. Hayflick L. Theories of biological aging // *Exp. Gerontol.*—1985.—20.—P. 145—159.
20. Hornykiewicz O. Neurotransmitter changes in human brain during aging // *Modification of Cell to Cell Signals during Normal and Pathological Aging*.—Berlin: Springer Verlag, 1986.—P. 169—182.
21. Jankovic B. D., Isakovic K. Neuroendocrine correlates of immune response. I. Effects of brain lesions on antibody production, Arthus reactivity and delayed hypersensitivity in the rat // *Int. Arch. Allergy*.—1973.—45.—P. 360—372.
22. Kelley K. W., Brief S., Westley H. J. et al. GH₃ pituitary adenoma cells can reverse thymic aging in rats // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—1986.—83.—P. 5666—5667.
23. Korenchevsky V. Physiological and pathological aging. —Basel: Karger, 1961.—257 p.
24. Landfield P. W., Waymire J. L., Lynch C. Hippocampal aging and adrenocorticoids: quantitative correlations // *Science*.—1978.—202.—P. 1098—1102.
25. Martin J. B. Brain regulation of growth hormone secretion // *Frontiers in Neuroendocrinology*.—New York: Raven press, 1976.—Vol. 4.—P. 129—168.
26. Masoro E. J. Nutrition as a modulator of the aging process // *Physiologist*.—1984.—27.—P. 98—101.
27. Matsumoto A., Arai Y. Synaptic changes in the hypothalamus of old rats // *Integrative Neurohormonal Mechanisms*.—Amsterdam: Elsevier, 1983.—P. 401—407.
28. Meites J. Control of prolactin secretion // *Growth Hormone and Other Biologically Active Peptides*.—Amsterdam: Excerpta Medica, 1980.—P. 258—266.
29. Meites J. Changes in neuroendocrine control of anterior pituitary function during aging // *Neuroendocrinology*.—1982.—34.—P. 151—156.
30. Meites J. Neuroendocrine basis of aging in the rat // *Regulation of Neuroendocrine Aging*.—Basel: Karger, 1988.—P. 37—50.
31. Meites J., Goya R., Takahashi S. Why the neuroendocrine system is important in aging processes // *Exp. Gerontol.*—1987.—22.—P. 1—15.
32. Meites J., Hopkins T. F., Deuben R. Growth hormone production by rat pituitary in vitro // *Fed. Proc.*—1962.—21.—P. 196.
33. Morimoto N., Kawakami F., Makino S. et al. Age-related changes in growth-hormone releasing factor and somatostatin in the rat hypothalamus // *Neuroendocrinology*.—1988.—47.—P. 459—464.
34. Orgel L. The maintenance of the accuracy of protein synthesis and its relevance to aging // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—1963.—49.—P. 517—521.
35. Peng M. T. Changes in hormone uptake and receptors in the hypothalamus during aging // *Neuroendocrinology of Aging*.—New York: Plenum press, 1983.—P. 61—72.
36. Post K. D., Jackson J. M. D., Reichlin S. The pituitary adenoma.—New York: Plenum press, 1980.
37. Sarkar D. K., Gottschall P. E., Meites J. Damage to hypothalamic dopaminergic neurons is associated with development of prolactin-secreting pituitary tumors // *Science*.—1982.—218.—P. 684—686.
38. Sarkar D. K., Gottschall P. E., Meites J. Decline of tuberoinfundibular dopaminergic

- function resulting from chronic hyperprolactinemia in rats // *Endocrinology*.— 1984.— 115.— P. 1269—1274.
39. Shock N. System integration // *Handbook of the Biology of Aging*.— New York: Van Nostrand Reinhold, 1977.— P. 639—665.
 40. Simpkins J. W. Regional changes in monoamine metabolism in the aging constant estrous rat // *Neurobiology of Aging*.— 1984.— 4.— P. 3309—3314.
 41. Sonntag W. E., Meites J. Decline in growth hormone secretion in aging animals and man // *Regulation of Neuroendocrine Aging*.— Basel: Karger, 1988.— P. 111—124.
 42. Sonntag W. E., Steger R. W., Forman L. J., Meites J. Decreased pulsatile release of growth hormone in old male rats // *Endocrinology*.— 1980.— 107.— P. 1875—1879.
 43. Strehler B. L. Time, Cells and Aging.— New York: Acad. press.— 1977.— P. 5—30.
 44. Takahashi S., Gottschall P., Quigley K. et al. Growth hormone secretory patterns in young, middle-aged, and old female rats // *Neuroendocrinology*.— 1987.— 46.— P. 137—142.
 45. Takahashi S., Meites J. GH binding to liver in young and old female rats: relation to somatomedin-C secretion // *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*— 1987.— 186.— P. 229—233.
 46. Verzar F. Anterior pituitary function in age // Berkeley, Calif.: U. of Calif. press, 1966.— Vol. 2.— 310 p.
 47. Welsch C. W., Aylsworth C. F. Relation of the neuroendocrine system to the development of mammary tumors in rats during aging // *Neuroendocrinology of Aging*.— New York: Plenum press, 1983.— P. 332—352.
 48. Williams J., Deerfield K. DNA damage and repair // *Handbook of Biochemistry in Aging*.— Boca Raton: CRC press, 1981.— P. 25—48.
 49. Wise P. M. Aging of the female reproductive system // *Rev. Biol. Res. Aging*.— 1983.— 1.— P. 195—222.
 50. Wurtman R. J., Wurtman J. J. Nutrition and the brain.— New York: Raven press.— 1983.— Vol. 2.— P. 177—181.

Отдел физиологии Мичиган. ун-та, США

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

УДК 612.433.451.05:612.67

Н. С. Верхратский, С. О. Диденко, Л. И. Харази

Регуляция инкреции кортиколиберина и кортикотропина в старости

Гипоталамус, обладая способностью трансформировать информацию нервного импульса в гуморальный сигнал, обеспечивает реакцию эндокринной системы на изменения внешней среды, чем объясняется его роль в формировании приспособительных реакций организма. Многие исследователи считают, что возрастные изменения в гипоталамусе занимают одно из центральных мест в механизмах старения [3, 5, 8]. При старении неравномерно изменяется электровозбудимость различных гипоталамических структур, повышается их чувствительность к гуморальным факторам. Эти сдвиги приводят к нарушению способности гипоталамуса контролировать адаптивные реакции организма [6]. Важную роль в формировании приспособительных реакций играет система гипоталамус — гипофиз — кора надпочечников. Прямые связи в этой системе осуществляются кортиколиберином (или КРФ) и кортикотропином (или АКТГ). В литературе ограничено число данных об изменении секреции КРФ с возрастом. Так, Ставицкая [4], используя в качестве тест-объекта гипофиз 2-месячных крыс, показала, что наибольшая КРФ-активность экстрактов гипоталамуса наблюдалась у 3-месячных крыс, значительно сниженная — у старых. Аналогичные данные, полученные также с помощью биологического метода, представлены Tang и Phillips [9]. Эти авторы отмечают, что у старых крыс базальный уровень АКТГ повышается. Разработанный в последние годы радиоиммунологический метод определения КРФ

© Н. С. ВЕРХРАТСКИЙ, С. О. ДИДЕНКО, Л. И. ХАРАЗИ, 1990.

позволяет получить более кортиколибериноцитов в ст

В нашей статье предст функционального состояни муса и АКТГ-продуцирую торных воздействий.

Методика

Опыты проведены на взрослых (ционально-боловой стресс (ЭБС) вой [1]. Через 5 мин после пре тировали и собирали кровь. Б 5 мин при температуре —20 °С. 2 мм, нейро- и аденогипофиз раз центрифугировали и в надосадо

Инкубацию тканей гипотал тав в ммоль/л: NaCl — 126, KCl CaCl₂ — 1,45, глюкозы — 200 мг, газовой смеси (95 % O₂ и 5 % и продолжали инкубацию в теч соответствующие гормоны. Сти рез нихромовые электроды пря продолжительность серии импу. Стимуляцию инкубируемого гип концентрации 20 фмоль/мл. Угн вызывали инкубацией их с декс 15 мин.

Определение КРФ произво ответствии с протоколом фирм го набора АСТНК-PR (фирма кортикостерона определяли в (при 105 000 г в течение 60 ми фере, содержащем (ммоль/л): 5, рН 7,4. Аликвоты цитозоля и (удельная активность 4,03 ТБк 20 ч при 4 °С. Для определени вали пробы с 500-кратным избы ции свободный гормон осажда страна, суспендированных в т 2 500 мин⁻¹. В супернатанте по чике МАРК-III. Белок определ значений показателей определял

Результаты и их обсужден

При старении существенн ванных объектах (табл. рых крыс в 4,9 раза ниж за, в гипофизе — в 11,8 р шение уровня КРФ у жи старых крыс относительно взрослых (см. табл. 1), сти высокой реактивно Однако по абсолютным много ниже, чем у взрос ции и синтеза КРФ в стар

Базальная концентра статистически достоверно гипофиза уровень АКТГ их возрастных групп. Ч

позволяет получить более объективную информацию о реактивности кортиколибериноцитов в старости.

В нашей статье представлены сведения об изменениях в старости функционального состояния КРФ-продуцирующих клеток гипоталамуса и АКТГ-продуцирующих клеток гипофиза под влиянием регуляторных воздействий.

Методика

Опыты проведены на взрослых (5—6 мес) и старых (24—26 мес) крысах-самцах. Эмоционально-болевого стресс (ЭБС) у животных вызывали по методу Ведяева и Воробьева [1]. Через 5 мин после прекращения стрессорного воздействия животных декапировали и собирали кровь. Быстро извлекали мозг, подмораживали его в течение 5 мин при температуре -20°C . Гипоталамус иссекали по его периметру на глубину 2 мм, нейро- и аденогипофиз разделяли. Ткани гомогенизировали в 0,1 н растворе HCl, центрифугировали и в надосадочной жидкости определяли КРФ и АКТГ.

Инкубацию тканей гипоталамуса и аденогипофиза проводили в 1 мл среды (состав в ммоль/л: NaCl — 126, KCl — 6, NaH_2PO_4 — 1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,877, NaHCO_3 — 22, CaCl_2 — 1,45, глюкозы — 200 мг/100 мл; pH 7,4) при 37°C и постоянном пропускании газовой смеси (95 % O_2 и 5 % CO_2) [7]. После 45 мин преинкубации среду заменяли и продолжали инкубацию в течение 15 мин, после чего в среде и тканях определяли соответствующие гормоны. Стимуляцию инкубируемого гипоталамуса производили через нихромовые электроды прямоугольными импульсами тока (1 мс, 80 Гц, 100 мкА), продолжительность серии импульсов составляла 1 с, паузы — 3 с в течение 15 мин. Стимуляцию инкубируемого гипофиза вызывали добавлением в среду КРФ в конечной концентрации 20 фмоль/мл. Угнетение секреции КРФ гипоталамусом и АКТГ гипофизом вызывали инкубацией их с дексаметазоном (конечная концентрация 25 нг/мл) в течение 15 мин.

Определение КРФ производили с помощью радиоиммунологического метода в соответствии с протоколом фирмы «Amersham» (Англия), АКТГ с помощью коммерческого набора АСТНГ-PR (фирма «International CIS», Франция). Рецепторное связывание кортикостерона определяли в цитозоле, который получали после центрифугирования (при 105 000 g в течение 60 мин) гомогената тканей гипоталамуса или гипофиза в буфере, содержащем (ммоль/л): трис — 10, дитиотреитол — 2, MgCl_2 — 3, Na_2MoO_4 — 5, pH 7,4. Аликвоты цитозоля инкубировали с 50 нмоль/л 1, 2, 6, 7- ^3H -кортикостерона (удельная активность 4,03 ТБк/ммоль), фирмы «Amersham» (Англия) в течение 18—20 ч при 4°C . Для определения неспецифического связывания параллельно инкубировали пробы с 500-кратным избытком кортикостерона или дексаметазона. После инкубации свободный гормон осаждали декстран-угольной смесью (0,5 % угля, 0,05 % декстрана, суспендированных в трис-буфере). Центрифугировали в течение 10 мин при 2500 мин $^{-1}$. В супернатанте подсчитывали радиоактивность на сцинтилляционном счетчике МАРК-III. Белок определяли по методу Лоури. Достоверность различий средних значений показателей определяли по критерию t Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

При старении существенно снижается уровень КРФ во всех исследованных объектах (табл. 1). Его концентрация в плазме крови у старых крыс в 4,9 раза ниже, чем у взрослых, в гипоталамусе — в 6,3 раза, в гипофизе — в 11,8 раза. ЭБС-воздействие вызывает резкое повышение уровня КРФ у животных обеих возрастных групп. При этом у старых крыс относительный прирост (%) уровня КРФ больше, чем у взрослых (см. табл. 1), что может указывать на сохранение в старости высокой реактивности кортиколиберинпродуцирующих клеток. Однако по абсолютным значениям уровень КРФ у старых крыс намного ниже, чем у взрослых, что свидетельствует о снижении инкреции и синтеза КРФ в старости.

Базальная концентрация АКТГ в плазме крови у старых крыс статистически достоверно выше, чем у взрослых (табл. 2). В ткани гипофиза уровень АКТГ существенно не различается у животных обеих возрастных групп. Через 5 мин после ЭБС-воздействия прирост

Таблица 1. Влияние эмоционально-болевого стресса (ЭБС) на уровень кортиколиберина (КРФ) в некоторых тканях крыс разного возраста

Исследуемый показатель	До ЭБС-воздействия	Через 5 мин после окончания ЭБС-воздействия	
		Абсолютные значения	Относительные значения прироста, %
Концентрация КРФ (фмоль/мл) в плазме крови			
взрослых крыс	92,8±3,3	298,2±12,5	+221
старых крыс	19,0±0,9	89,3±1,4	+370
Удельное количество КРФ (нмоль/г) в гипоталамусе			
взрослых крыс	32,6±2,3	170,6±5,5	+423
старых крыс	5,1±0,1	69±3,4	+1255
Удельное количество КРФ (нмоль/г) в гипофизе			
взрослых крыс	68,4±2,6	128,0±8,0	+87
старых крыс	5,8±0,2	22,4±1,4	+286

Примечание. Достоверность различий результатов (P) между возрастными группами животных во всех случаях <0,001.

Таблица 2. Влияние эмоционально-болевого стресса (ЭБС) на уровень кортикотропина (АКТГ) в некоторых тканях крыс разного возраста

Исследуемый показатель	До ЭБС-воздействия	Через 5 мин после окончания ЭБС-воздействия
Концентрация АКТГ (пг/мл) в плазме крови		
взрослых крыс	81±7	509±29
старых крыс	124±9*	459±35
Удельная секреция АКТГ (нг/г) гипофиза		
взрослых крыс	94±9	400±30
старых крыс	128±10*	466±40
Концентрация АКТГ (мкг/г) в гипофизе		
взрослых крыс	4,5±0,4	4,2±0,2
старых крыс	3,9±0,5	8,5±1,4*

* P<0,001.

концентрации АКТГ в плазме крови также статистически не различается у взрослых и старых крыс, хотя среднее значение прироста у последних меньше, чем у взрослых (см. табл. 2). При этом в гипофизе уровень АКТГ у старых крыс в 2 раза возрос по сравнению со взрослыми. Для сопоставления значений инкреции АКТГ гипофизом животных, имеющих разную массу тела и, следовательно, разный объем крови, была рассчитана удельная секреция АКТГ (отношение содержания АКТГ в общем объеме циркулирующей крови к 1 г массы гипофиза). Ее прирост (нг/г) после ЭБС-воздействия оказался практически одинаковым у животных обеих возрастных групп (у взрослых — 306±31, у старых — 338±41). Если учесть, что у старых крыс уровень КРФ в гипофизе после ЭБС-воздействия почти в 6 раз ниже, чем у взрослых (см. табл. 1), то одинаковый прирост удельной секреции и двукратное повышение уровня АКТГ в гипофизе старых крыс по сравнению со взрослыми свидетельствуют о более выраженной реакции гипофиза старых крыс на меньшую концентрацию КРФ. Это дает основание полагать, что в старости повышается чувствительность кортикотропинпродуцирующих клеток к КРФ.

При стрессовых реакциях и гипоталамус, и гипофиз подвергаются разнообразным нейрогуморальным влияниям. Для того, чтобы про-

анализировать возрастные изменения АКТГ, были проведены опыты пофизе в условиях воздействия. За 15 мин инкубации гипоталамуса статистически достоверно бо- При этом в ткани гипоталамуса КРФ, чем у взрослых. Однако наковым у животных обеих возрастных групп, но прирост количества КРФ был табул. 3). Эти результаты свидетельствуют о влиянии ЭБС и свидетельствуют о реактивности КРФ-потенциальные возможности. Гипофиз взрослых и старых крыс в среду одинаковое количество АКТГ статистически (табул. 4). При добавлении КРФ в 2,5 раза больше, чем

Таблица 3. Влияние электростимуляции на уровень кортиколиберина (КРФ) изолированных крыс

Исследуемый показатель	До ЭБС-воздействия	Через 5 мин после окончания ЭБС-воздействия
Удельное количество КРФ (нмоль/г) в инкубационной среде		
взрослых крыс	509±29	459±35
старых крыс	81±7	124±9*
Удельное количество КРФ (нмоль/г) в гипоталамусе		
взрослых крыс	94±9	400±30
старых крыс	128±10*	466±40
Суммарное удельное количество КРФ (пмоль/г) в среде и гипоталамусе		
взрослых крыс	4,5±0,4	4,2±0,2
старых крыс	3,9±0,5	8,5±1,4*

* P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

Таблица 4. Влияние кортиколиберина (АКТГ) на уровень кортиколиберина (КРФ) изолированных крыс

Исследуемый показатель	До ЭБС-воздействия	Через 5 мин после окончания ЭБС-воздействия
Концентрация АКТГ (мкг/г) в инкубационной среде		
взрослых крыс	509±29	459±35
старых крыс	81±7	124±9*
Концентрация АКТГ (мкг/г) в гипофизе		
взрослых крыс	94±9	400±30
старых крыс	128±10*	466±40
Суммарная концентрация АКТГ (мкг/г) в среде и гипофизе		
взрослых крыс	4,5±0,4	4,2±0,2
старых крыс	3,9±0,5	8,5±1,4*

* P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

анализировать возрастные изменения синтеза и инкреции КРФ и АКТГ, были проведены опыты на изолированных гипоталамусе и гипофизе в условиях воздействия различными факторами.

За 15 мин инкубации гипоталамус старых крыс выделял в среду статистически достоверно большее количество КРФ, чем взрослых. При этом в ткани гипоталамуса старых животных оставалось меньше КРФ, чем у взрослых. Однако суммарно количество КРФ было одинаковым у животных обеих возрастных групп (табл. 3). При электростимуляции в среду выделялось одинаковое количество КРФ у крыс обеих возрастных групп, но в ткани гипоталамуса взрослых животных прирост количества КРФ был вдвое большим, чем у старых (см. табл. 3). Эти результаты согласуются с результатами опытов по изучению влияния ЭБС и свидетельствуют о том, что в старости сохраняется реактивность КРФ-продуцирующих клеток, но снижаются потенциальные возможности синтеза КРФ.

Гипофиз взрослых и старых крыс за 15 мин инкубации выделяет в среду одинаковое количество АКТГ. В ткани гипофиза старых крыс уровень АКТГ статистически достоверно ниже, чем у взрослых (табл. 4). При добавлении КРФ суммарный прирост АКТГ у старых крыс в 2,5 раза больше, чем у взрослых. Однако при этом в среду

Таблица 3. Влияние электростимуляции и дексаметазона на продукцию кортиколиберина (КРФ) изолированным гипоталамусом крыс разного возраста

Исследуемый показатель	До какого-либо влияния	После 15-минутного влияния	
		электрического тока	дексаметазона и электрического тока
Удельное количество КРФ (нмоль/г) в инкубационной среде			
взрослых крыс	67,0±9,7	340,5±28,5	23,1±11,1
старых крыс	98,6±3,4**	291,9±13,9	71,2±5,8**
Удельное количество КРФ (нмоль/г) в гипоталамусе			
взрослых крыс	29,6±5,3	133,3±8,5	20,7±5,8
старых крыс	6,1±0,1**	77,7±3,3***	6,9±0,2*
Суммарное удельное количество КРФ (нмоль/г) в среде и гипоталамусе			
взрослых крыс	96,7±11,1	473±29,7	53,7±12,7
старых крыс	104,7±3,4	369,6±14,3**	78,1±5,9*

* P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

Таблица 4. Влияние кортиколиберина (КРФ) и дексаметазона на продукцию кортикотропина (АКТГ) изолированным гипофизом крыс разного возраста

Исследуемый показатель	До какого-либо влияния	После 15-минутного влияния	
		КРФ (прирост)	дексаметазона и КРФ (сдвиг)
Концентрация АКТГ (мкг/г) в инкубационной среде			
взрослых крыс	0,12±0,01	8,36±0,59	+0,40±0,05
старых крыс	0,14±0,02	4,90±0,62**	+0,13±0,03***
Концентрация АКТГ (мкг/г) в гипофизе			
взрослых крыс	5,76±0,46	0,26±0,62	-0,85±0,72
старых крыс	4,07±0,46*	15,60±2,49***	+4,85±1,35**
Суммарная концентрация АКТГ (мкг/г) в среде и гипофизе			
взрослых крыс	5,88±0,46	8,62±0,85	-0,45±0,71
старых крыс	4,21±0,46*	20,50±2,57**	+4,98±1,35**

* P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

е окончания
ства

осительные зна-
ния прироста, %

+221
+370

+423
+1255

+87
+286

растными груп-

ин после оконча-
С-воздействия

509±29
159±35

100±30
166±40

1,2±0,2
1,5±1,4*

и не разли-
прироста у
ом в гипофи-
авнению со
Г гипофизом
вно, разный
(отношение
и к 1 г мас-
вия оказался
их групп (у
то у старых
очти в 6 раз
ост удельной
физе старых
нее выражен-
трацию КРФ.
чувствитель-

подвергаются
чтобы про-

1990, т. 36, № 5

Физиол. журн., 1990, т. 36, № 5

79

гипофиз старых крыс выделяет меньше АКТГ, чем взрослых, и значительное количество АКТГ остается в ткани гипофиза старых крыс (см. табл. 4). Эти результаты подтверждают вывод, сделанный на основании результатов опытов по изучению влияния стрессорного воздействия, о повышении чувствительности кортикотропцитов к КРФ в старости. Однако при инкубации под влиянием КРФ гипофиз старых крыс выделяет в среду меньше АКТГ, чем взрослых, тогда как после стрессорного воздействия прирост удельной секреции АКТГ был одинаковым у животных обеих возрастных групп. Такие различия могут быть обусловлены тем, что в целостном организме гипофиз находится под влиянием не только КРФ, но и других стимулирующих воздействий, в частности норадреналина и серотонина. Вот почему в следующей серии опытов гипофиз крыс разного возраста инкубировали с этими медиаторами в конечной концентрации 10 мкмоль/л. Оказалось, что норадреналин сти-

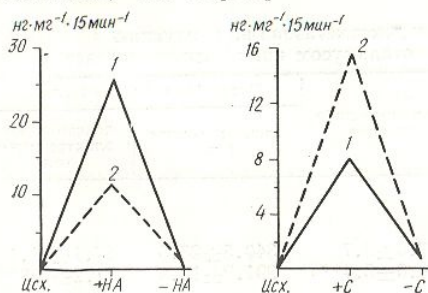


Рис. 1. Влияние норадреналина (НА) и серотонина (С) на секрецию АКТГ изолированным гипофизом у взрослых (1) и старых (2) крыс. Исх. — базальная секреция; +НА, +С — замена на среду с НА или С в конечной концентрации 10 мкмоль/л; —НА, —С — отмывание.

Рис. 2. Эффективность угнетения дексаметазоном стимулированной секреции гормонов изолированным гипоталамусом (а) и гипофизом (б) взрослых (1) и старых (2) крыс и возрастные изменения рецепторного связывания кортикостерона этими структурами. I — прирост электростимулированной секреции КРФ гипоталамусом и КРФ-стимулированной секреции АКТГ гипофизом, инкубируемыми с дексаметазоном (25 нг/мл); II — рецепторное связывание кортикостерона.

мулирует секрецию АКТГ гипофизом в большей мере у взрослых крыс, чем у старых, а серотонин повышает секрецию АКТГ гипофизом старых крыс более выражено, чем взрослых (рис. 1). Ранее нами обнаружено, что в формировании стрессовой реакции в старости начинают преобладать серотонинергические влияния [2]. Можно полагать, что одинаковые значения прироста удельной секреции АКТГ у взрослых и старых крыс после ЭБС-воздействия обусловлены повышением чувствительности кортикотропцитов не только к КРФ, но и к серотонину.

Совершенство функционирования регуляторной системы определяется реакцией ее центральных звеньев на сигналы обратной связи. Для оценки возрастных особенностей этой реакции гипоталамус и гипофиз инкубировали с дексаметазоном и на этом фоне проводили электростимуляцию и добавление КРФ соответственно. Инкубация с дексаметазоном более выражено подавляет стимулированную секрецию КРФ у взрослых крыс, а стимулированную секрецию АКТГ у старых (рис. 2). Эти результаты хорошо коррелируют с результатами, свидетельствующими о возрастных изменениях рецепторного связывания кортикостерона, которое у старых крыс снижено (по сравнению со взрослыми) в гипоталамусе, но повышено в гипофизе (см. рис. 2).

Приведенный фактический при старении наступают существенных центральных звеньев систем. При старении в гипоталамусе ослабляется реакция на дексаметазон, т. е. регуляторной системы, воспринимая с одной стороны, ослабляет свое воздействие на гипоталамус, а с другой — воспринимает сигнал, которое Фролькис назвал «гипоталамическим». На этом фоне в гипофизе повышается тонус. Он более выражено рецепторное связывание кортикостерона, полагая, что в старости звено в регуляции функции кортикостерона.

N. S. Verkhatsky, S. O. Didenko, L. I. K.

REGULATION OF CORTICOLIBERIN SECRETION IN OLD AGE

Experiments on adult and old rats have shown that in the hypothalamus, weakening of its function of receptor corticosterone binding. Again, sensitivity to CRF and serotonin increased in old rats secreted, it more markedly reduced the role of the adrenocortical function is assumed.

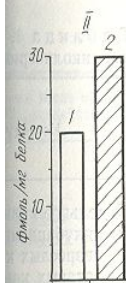
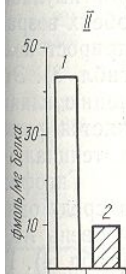
Institute of Gerontology, Academy of Sciences of the USSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ведыев Ф. П., Воробьева Т. М. Моделі здоров'я, 1983. — 134 с.
2. Верхатський Н. С., Мороз Е. В., Мисюк Г. М. Гормони при стресі в старості. 1986. — № 10. — С. 62—66.
3. Дильман В. М. Четыре модели медиации. — Киев, Наук. думка, 1975. — С. 1—10.
4. Ставицкая Л. И. Гипоталамический ритм и ритм жизни // Молекулярные и клеточные ритмы. — Киев, Наук. думка, 1975. — С. 1—10.
5. Фролькис В. В. Старение. Нейрогуморальная регуляция. — Киев, Наук. думка, 1975. — 320 с.
6. Фролькис В. В., Безруков В. В. Вегетативные показатели у животных. Изд-во Ин-та геронтологии АМН СССР, 1976. — 100 с.
7. Bradbury M. W. B., Burden J., Hill J. and by acetylcholine of the rat hypothalamus. — P. 269—283.
8. Hypothalamus, pituitary and aging. Ch. C. Thomas Publ., 1976. — 787 p.
9. Tang F., Phillips J. G. Some age-related changes in the corticosterone binding in male laboratory rat // J. Gerontol. — 1976. — 31. — P. 1—10.

Ин-т геронтологии АМН СССР, Киев

слых, и зна-
старых крыс
ланый на
жорного воз-
итов к КРФ
юфиз старых
да как после
ТГ был оди-



ТГ изолирован-
секреция; +НА,
кмоль/л; —НА,

реции гормонов
старых (2) крыс
и структурами.
лированной секре-
торное связывание

рослых крыс,
пофизом ста-
е нами обна-
сти начинают
полагать, что
у взрослых и
тением чувст-
х серотонину.
темы опреде-
латной связи.
аламус и ги-
не проводили
Инкубация с
анную секре-
ию АКТГ у
результатами,
ного связыва-
ю сравнению
(см. рис. 2).

Приведенный фактический материал свидетельствует о том, что при старении наступают существенные изменения во взаимоотношениях центральных звеньев системы регуляции функции коры надпочечников. При старении в гипоталамусе снижается инкреция КРФ, ослабляется реакция на дексаметазон, уменьшается рецепторное связывание кортикостерона, т. е. одно из высших звеньев адаптивной регуляторной системы, воспринимающее воздействия внешней среды, с одной стороны, ослабляет свое влияние на периферию, а с другой, — ослабленно воспринимает сигналы периферии, что приводит к состоянию, которое Фролькис назвал «дезинформацией гипоталамуса» [5]. На этом фоне в гипофизе повышается чувствительность к КРФ, серотонину. Он более выражено реагирует на дексаметазон, в нем увеличивается рецепторное связывание кортикостерона. Все это дает основание полагать, что в старости возрастает роль гипофизарного звена в регуляции функции коры надпочечников при стрессовых ситуациях.

N. S. Verkhatsky, S. O. Didenko, L. I. Kharazi

REGULATION OF CORTICOLIBERIN AND CORTICOTROPIN INCRETION IN OLD AGE

Experiments on adult and old rats have shown age-related decrease of the CRF incretion in the hypothalamus, weakening of its response to dexamethasone, as well as a decrease of receptor corticosterone binding. Against this background in the hypophysis of old rats sensitivity to CRF and serotonin increased, in stress the same content of ACTH as in adult rats secreted, it more markedly reacted to dexamethasone, and receptor of corticosterone binding increased in hypophysis. In old age, the role of hypophyseal link in control of the adrenocortical function is assumed to increase in stress.

Institute of Gerontology, Academy of Sciences
of the USSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ведяев Ф. П., Воробьева Т. М. Модели и механизмы эмоциональных стрессов. — Киев: Здоров'я, 1983. — 134 с.
2. Верхратский Н. С., Мороз Е. В., Магдич Л. В. и др. Регуляция уровня стероидных гормонов при стрессе в старости (Компонентный анализ) // Вестн. АМН СССР. — 1986. — № 10. — С. 62—66.
3. Дильман В. М. Четыре модели медицины. — Л.: Медицина, 1987. — 286 с.
4. Ставицкая Л. И. Гипоталамический КРФ и реакции на него аденогипофиза крыс разного возраста // Молекулярные и физиологические механизмы возрастного развития. — Киев, Наук. думка, 1975. — С. 255—260.
5. Фролькис В. В. Старение. Нейрогуморальные механизмы. — Киев, Наук. думка, 1981. — 320 с.
6. Фролькис В. В., Безруков В. В. Влияние раздражения структур головного мозга на вегетативные показатели у животных разного возраста // Старение клетки. — Киев: Изд-во Ин-та геронтологии АМН СССР, 1971. — С. 137—152.
7. Bradbury M. W. B., Burden J., Hillhouse E. W., Jones M. T. Stimulation electrically and by acetylcholine of the rat hypothalamus in vitro // J. Physiol. (Lond.). — 1974. — 239. — P. 269—283.
8. Hypothalamus, pituitary and aging / Eds A. V. Everitt, J. A. Burgess. — Springfield: Ch. C. Thomas Publ., 1976. — 787 p.
9. Tang F., Phillips J. G. Some age-related changes in pituitary-adrenal function in the male laboratory rat // J. Gerontol. — 1978. — 33. — P. 377—382.

Ин-т геронтологии АМН СССР, Киев

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

Изменения действия гормонов и нейромедиаторов при старении

Важнейшим направлением в изучении особенностей действия гормонов и медиаторов при старении, получившим особое развитие в последнее десятилетие, явилось исследование возрастных изменений рецепторных систем клеток [10, 26, 33].

Нами был составлен каталог различных типов изменений рецепторов при старении [18, 47]. В соответствии с этими исследованиями было проанализировано около 200 различных рецепторных систем в возрастном аспекте. В целом, приблизительно в 50 % случаев, происходит снижение числа рецепторов с возрастом, в 35 % — число рецепторов с возрастом не изменяется, в 10 % — отмечается повышение числа рецепторов и в 5 % — происходят изменения аффинитета (обычно снижающегося с возрастом). В некоторых исследованиях авторы выделяют эту последнюю категорию с тем, чтобы дифференцировать возрастное снижение аффинитета к агонистам от его снижения к антагонистам [13, 32, 49]. Данные, приведенные в этих публикациях, были подтверждены данными, полученными и другими авторами, хотя их оценка является спорной. Причины возможных расхождений обсуждались нами раньше [47]. В итоге, путь к унификации экспериментальных данных — стандартизация моделей и методов.

В то же время существует единое мнение у исследователей [18, 47] относительно возрастного снижения числа рецепторов, по крайней мере, в следующих отделах головного мозга и других органов: в стриатуме различных видов (дофаминовые рецепторы), матке грызунов (рецепторы к эстрогенам), некоторых отделах мозга крысы (β -адренергические, эстрогеновые и глюкокортикоидные рецепторы), простате крысы (андрогеновые рецепторы), фибробластах человека (глюкокортикоидные рецепторы) при старении.

Причинно-следственные связи между числом рецепторов и ослаблением ответных реакций, несомненно, существуют. Однако сами по себе эти корреляции не устанавливают причинности, и уменьшение числа рецепторов не обязательно ответственно за ослабление ответных реакций. Кроме того, среди различных коллективов исследователей нет единого мнения о числе рецепторов и (или) значимости его уменьшения в некоторых случаях. Вероятно, наибольшее совпадение точек зрения по этому вопросу (возможной причине утраты эффекторной реакции при старении), существует относительно дофаминовых рецепторов — ротационный, или стереотипный характер активности аденилатциклазы у различных видов; β -адренергических рецепторов — изменение активности аденилатциклазы в коре мозжечка крысы и эстрогеновых рецепторов — энергетический обмен и клеточная пролиферация в матке грызунов [46]. Однако несмотря на некоторые разногласия, независимо в различных лабораториях получены совпадающие данные относительно глюкокортикоидных рецепторов — синтеза РНК в печени крысы и инсулиновых рецепторов — окисления глюкозы в фибробластах кожи человека. Другие рецепторные системы так же были проанализированы в отдельных лабораториях, но полученные данные нуждаются в дальнейшем подтверждении.

Возможные причинные связи между возрастными изменениями пострецепторных реакций и изменениями функций еще более противоречивы. Имеются данные лишь о нескольких таких случаях и лишь из отдельных лабораторий. Необходима значительная работа для подтверждения этих наблюдений. Но даже из ограниченного числа суще-

ствующих исследований м. Например, возрастные изменения приводят к изменению ответа В качестве других примеров аденилатциклазы в лимфоцитах регуляции транспортной с

Еще более распространены способности к мобилизации кальциевых и нейромедиаторов, если способность к мобилизации кальция в старые клетки стимуляции секреторных клетках околоушных желез сокращения миокарда [16] гистамина тучными клетками энергетической стимуляцией регуляции моторной функции пяти системах не показаны рецепторов *per se* и ослаблено установлено ослабление ка

В нашей лаборатории изменений на рецепторном уровне нас интересуют в связи с околоушной железой. В первом случае обнаружено, что кальций, что приводит к регуляции энергетического обмена, наблюдается уменьшения числа аденилатциклазы, но за снижение дофамина возможно, аденилатциклазы

Возрастные изменения околоушной железы и млекопитающих представляют изменения адренергического к биологических процессов и система опосредует активацию аденилатциклазы, активацию пострецепторных белков, таких как опосредованные α -адренергические рецепторы не вовлечены. Процессы обмена фосфолипидов и электролитной, но не белки

Специфическая природа адренергических рецепторов интенсивно изучается. Основная звенья сопряжения фосфолипидов, а также последующие гораздо меньше данных с рецепторы опосредуют фи

В нашей лаборатории α -адренергических рецепторов, следующим за активацией обновления фосфолипидов K^+ из клеточных скопления 12- и 24-месячных крыс 3-месячными животными (—)-адреналиновая стимуляция рецепторами, изменений этой ответной реакции рецептора. Однако, как п

ствующих исследований можно получить некоторые общие модели. Например, возрастные изменения в клеточной мембране могут приводить к изменению ответных реакций на гормоны и нейромедиаторы. В качестве других примеров можно привести нарушение сопряжения аденилатциклазы в лимфоцитах человека при старении и ослабление регуляции транспортной системы глюкозы в адипоцитах старых крыс.

Еще более распространенным феноменом является изменение способности к мобилизации кальция старыми клетками. Многие гормональные и нейромедиаторные системы могут быть существенно «омоложены», если способствовать проникновению достаточного количества кальция в старые клетки. Это можно осуществить α -адренергической стимуляцией секреции электролитов и окислением глюкозы в клетках околоушных желез [14, 21], β -адренергической стимуляцией сокращения миокарда [16], стимуляцией веществом 48/80 выделения гистамина тучными клетками [34], α -адренергической и серотонин-энергической стимуляцией сокращения аорты [6] и холинергической регуляцией моторной функции [36]. В итоге, на вышеперечисленных пяти системах не показана причинная смесь между снижением числа рецепторов *per se* и ослаблением ответных реакций, однако при этом установлено ослабление кальциевого тока [45, 46].

В нашей лаборатории мы занимаемся изучением возрастных изменений на рецепторном и пострецепторном уровнях. В настоящее время нас интересуют в основном вопросы α -адренергической регуляции околоушной железы и дофаминергической регуляции стриатума. В первом случае обнаружена ослабленная способность мобилизовать кальций, что приводит к снижению секреторной функции и регуляции энергетического метаболизма [14, 21]. С возрастом не наблюдается уменьшения числа рецепторов. Во втором случае установлена потеря рецепторов, что, по крайней мере частично, ответственно за снижение дофаминергического контроля моторной функции и, возможно, аденилатциклазной активности [22, 23].

Возрастные изменения альфа-адренергических ответных реакций околоушной железы и мобилизация кальция. Околоушные железы млекопитающих представляют удобные модельные системы для изучения адренергического контроля определенных биохимических и физиологических процессов при экзокринной секреции. β -адренергическая система опосредует активацию рецепторов, стимуляцию аденилатциклазы, активацию протеинкиназы и последующее выделение секреторных белков, таких как амилаза [2, 5]. Наоборот, в процессы, опосредованные α -адренергическими рецепторами, циклические нуклеотиды не вовлечены. Предполагают, что они участвуют в стимуляции обмена фосфолипидов и мобилизации кальция перед стимуляцией электролитной, но не белковой, секреции [5].

Специфическая природа механизма трансдукции, связывающих адренергические рецепторы с внутриклеточными сигналами, весьма интенсивно изучается. Получена обширная информация, описывающая звенья сопряжения β -адренергических рецепторов с аденилатциклазой, а также последующие внутриклеточные реакции [43]. Однако гораздо меньше данных о том, как активированные α -адренергические рецепторы опосредуют физиологические реакции.

В нашей лаборатории мы показали, что выделение K^+ посредством α -адренергических механизмов может быть модулировано на этапе, следующем за активацией рецептора и предшествующим мобилизации обновления фосфолипида. Адреналиновая стимуляция выделения K^+ из клеточных скоплений околоушной железы, полученных от 12- и 24-месячных крыс, значительно снижена по сравнению с 3-месячными животными [21]. Поскольку нами ранее установлено, что (—)-адреналиновая стимуляция выделения K^+ опосредована α -адренергическими рецепторами, то возможное объяснение возрастных изменений этой ответной реакции локализовано на уровне изменений рецептора. Однако, как показали некоторые авторы [21], концентрация

α -адренергических рецепторов клеток околоушных желез, определяемых ^3H -празозинспецифическим связыванием, фактически повышается после 3-месячного возраста. Такое повышение может быть компенсировано небольшим снижением их аффинитета. Однако способность агониста адреналина замещать ^3H -празозин — α -адренергический антагонист — была сравнимой во всех исследуемых возрастных группах. Показано, что распределение α_1 - и α_2 -адренергических рецепторов не изменялось с возрастом [21]. Таким образом, изменения α -адренергического рецептора, достаточные для объяснения возрастных различий выделения K^+ , не могли быть продемонстрированы.

Поэтому мы решили изучить роль двух звеньев механизма регуляции, которые, по мнению некоторых исследователей [5, 58], являются пострецепторными в отношении α -адренергических рецепторов, и которые могут быть промежуточными этапами в секреции жидкости и электролита из ацинарных клеток околоушной железы крысы. Эти два звена представляют собой образование инозитолтрифосфата и мобилизацию Ca^{2+} из внутриклеточных депо. В целом, α -адренергическая стимуляция обновления фосфолипида рассматривается как Ca^{2+} -независимый процесс, протекающий до этапа мобилизации Ca^{2+} [35]. Однако связь между обновлением фосфолипидов и выбросом Ca^{2+} на ранних этапах до сих пор детально не изучалась.

Наши эксперименты показали, что через 1 мин после добавления (—)-адреналина можно обнаружить достоверное увеличение удельной радиоактивности ^{32}P -фосфатидиловой кислоты, но не фосфатидилинозитола [56], что согласуется со следующим механизмом: активация рецептора стимулирует распад фосфатидилинозитола мембраны и его превращение в диацилглицерол. Диацилглицерол затем фосфорилируется в АТФ (прединкубация с ^{32}P , таким образом, дает радиомеченный продукт) в фосфатидиловую кислоту. Она, в свою очередь, конъюгирует с инозитолом и образует фосфатидилинозитол [40]. Относительно недавно (о чем упоминалось выше) показано, что инозитолтрифосфат (один из продуктов метаболизма в этой последовательно идущей реакции) является фактически «вторичным мессенджером» для передачи α -адренергического сигнала [53]. Никаких достоверных возрастных изменений адреналинстимулированного образования инозитолтрифосфата не обнаружено в скоплении клеток околоушной железы [20].

Высказано предположение [31], что ускоренное обновление фосфолипидов, вероятно, связано с мобилизацией Ca^{2+} в клетках околоушной железы. Группа Putney предполагает, что фосфатидиловая кислота, по-видимому, функционирует как ионофор для эндогенного Ca^{2+} в паротидных клетках [40, 41, 58]. Хотя роль Ca^{2+} в α -адренергической секреции не изучена до конца, ранние работы Sellinger и соавт. [51] показали, что для адренергически стимулированного выделения K^+ из паротидных клеток крысы требуется внеклеточный Ca^{2+} . Позже Petersen и Pedersen [37] установили наличие гиперполяризации мембраны в паротидных ацинарных клетках крысы при использовании ^{86}Rb в качестве чувствительного показателя выделения K^+ . На раннем кратковременном этапе выделения K^+ , продолжающемся 1–3 мин, не требуется внеклеточного Ca^{2+} , в то время как более поздний этап выделения K^+ зависит от мобилизации внутриклеточных запасов Ca^{2+} . В работах, проанализированных здесь, определяли K^+ , а не ^{86}Rb , и поэтому получен суммарный результат кратковременного и длительного этапов [39].

Выброс $^{45}\text{Ca}^{2+}$ из паротидных клеток крысы после (—)-адреналиновой стимуляции целесообразно использовать как достаточно чувствительный показатель клеточной мобилизации Ca^{2+} [4]. Максимальное выделение происходит в пределах 1–2 мин после воздействия агонистом. В наших исследованиях [21] наблюдалось значительное снижение (—)-норадреналинстимулированного выброса $^{45}\text{Ca}^{2+}$ из паротидных ацинарных клеток 24-месячных крыс по сравнению с

таковым у 3-месячных. В Ca^{2+} в паротидных клетках (—)-адреналина, сравнимым K^+ и обновления фосфолипидов.

Поскольку предполагается, что выброс $^{45}\text{Ca}^{2+}$ из паротидных клеток крысы связан с мобилизацией Ca^{2+} из депо, можно предложить гипотезу, что выброс $^{45}\text{Ca}^{2+}$ наступает в результате мобилизации Ca^{2+} с помощью не- α -адренергического агониста ионофора Ca^{2+} —А-23187). Клетки из околоушных желез крысы при наличии А-23187. Одновременно с этим наблюдается деление K^+ из клеток 24-месячных [21].

Последующие исследования первых, данный возраст стимулируют окисление ионофора А-23187; во-вторых, стимуляция выделения K^+ — сдвигается теми же калыбры, — наблюдается в паротидных клетках.

Наконец, мы наблюдаем скопления паротидных клеток при преобразования сигнала, трифосфата или пулами.

Возрастные изменения рецепторов стриатума. В рении происходит уменьшение количества видов животных, как показано, является, снижение опосредуемых химических реакций [11, 42], но, активности аденилатциклазы.

В большинстве исследований рецепторы стриатума имеют высокие константы связывания или константы диссоциации (иногда число рецепторов (фармакологической специфичности) D_1 , D_2 , D_3 и т. д. [7, 50] звали дофаминергическим агонистом аминокислоты (АДТН). Специфическое связывание с АДТН такламом или галопротекторами фракциями стриатума и паротидных желез крыс в возрасте 3–25 мес [22, 23] лигандов уменьшается с возрастом от 80 до 100 фмоль/мг. В отношении с 3–6 мес. Одних мест для АДТН с животными имеется на 10–20% антагонистов. До сих пор не известно, является ли АДТН презинергическим и отражает ли эта связь D_2 -рецепторов [7, 25]. Ридола показывают, что рецепторы опосредуют развитие более избирательных изменений, что позволит более точно вы-

таковым у 3-месячных. Возрастное нарушение системы мобилизации Ca^{2+} в паротидных клетках происходит в диапазоне концентраций $(-)$ -адреналина, сравнимом с наблюдаемым при изменениях выброса K^+ и обновления фосфолипидов.

Поскольку предполагают, что быстрый выброс $^{45}\text{Ca}^{2+}$ из паротидных клеток крысы связан с кратковременной фазой выделения K^+ [4], можно предложить гипотезу, согласно которой возрастное снижение выброса $^{45}\text{Ca}^{2+}$ наступает в результате недостаточности связывания α -адренергического агониста. При прямой оценке способности клеток различных старых животных выделять K^+ в условиях мобилизации Ca^{2+} с помощью не- α -адренергического механизма (т. е. применения ионофора Ca^{2+} —А-23187) обнаружена аналогичная ответная реакция. Клетки из околоушных желез 3- и 24-месячных крыс, выделяли K^+ при наличии А-23187. Однако при использовании $(-)$ -адреналина выделение K^+ из клеток 24-месячных крыс было существенно сниженным [21].

Последующие исследования прояснили два важных момента: во-первых, данный возрастной α -адренергический дефицит способности стимулировать окисление глюкозы можно нормализовать применением ионофора А-23187; во-вторых, недостаточность холинергической стимуляции выделения K^+ —процесса, который, как предполагают, опосредуется теми же кальциевыми каналами, что и α -адренергический путь,—наблюдается в паротидных клетках старых животных [3].

Наконец, мы наблюдали возрастное снижение способности инозитолтрифосфата вызывать прямую стимуляцию выброса кальция из скоплений паротидных клеток крысы [20]. Таким образом, нарушения преобразования сигнала, по-видимому, связаны с действием инозитолтрифосфата или пулами мобилизуемого кальция.

Возрастные изменения дофаминергических ответных реакций и рецепторов стриатума. В настоящее время общепризнано, что при старении происходит уменьшение числа рецепторов в стриатуме у различных видов животных, включая человека. Такая потеря рецепторов, как показано, является, по крайней мере частично, ответственной за снижение опосредуемых дофамином отдельных стереотипных поведенческих реакций [11, 42], выделения нейромедиаторов [55] и, возможно, активности аденилатциклазы [38, 57] при старении.

В большинстве исследований возрастных изменений дофаминовых рецепторов стриатума не установлено каких-либо изменений аффинитета или константы диссоциации (K_d). Отмечалось лишь снижение числа рецепторов (B_{max}) с возрастом. При попытке выяснения фармакологической специфичности типов рецептора (обозначенных D_1 , D_2 , D_3 и т. д. [7, 50]), уменьшающихся при старении, мы использовали дофаминергические антагонисты гало- и спироперидол, а также агонистамино-6, 7-дигидрокси-1, 2, 3, 4-тетрагидронафтален (АДТН). Специфическое связывание (замещаемое 10^{-5} моль/л $(+)$ бутакламолом или галоперидолом) этих лигандов с мембранными фракциями стриатума изучали у самцов крыс линии Вистар в возрасте 3—25 мес [22, 23, 27, 28]. Число связывающих мест для всех лигандов уменьшается с возрастом. Абсолютное снижение составляет от 80 до 100 фмоль/мг белка у 22—25-месячных животных по сравнению с 3—6 мес. Однако относительное снижение числа связывающих мест для АДТН самое высокое (около 40 %), так как у молодых животных имеется на 10—20 % меньше участков для АДТН, чем для антагонистов. До сих пор остается не совсем ясным вопрос о том, связывается ли АДТН прежде всего с рецептором D_3 или с другим типом и отражает ли эта связь непосредственно форму агониста D_1 - или D_2 -рецепторов [7, 25]. Наши исследования с применением спироперидола показывают, что по крайней мере D_2 - и, возможно, D_1 -рецепторы опосредуют развитие возрастных изменений [23]. Однако создание более избирательных лигандов для различных типов рецепторов позволит более точно выяснить причину этих изменений.

Дальнейшее подтверждение возрастного снижения числа связывающих мест для спироперидола получено в других лабораториях. В работах группы Макман [54] указывается на то, что число дофаминовых рецепторов, определяемое ^3H -спироперидолспецифическим связыванием, снижается в стриатуме, фронтальной коре и передней лимбической коре по мере увеличения возраста кроликов от 5 до 65 мес. Относительное уменьшение числа рецепторов составляло около 30 %, 30 % и 20 % соответственно для этих трех областей мозга. Аффинитет рецепторов при этом оставался постоянным в пределах данной области. При определении связывания с помощью ^3H -АДТН возрастное снижение числа рецепторов в стриатуме оказалось на 50 % больше. У молодых кроликов обнаружено в 3 раза больше связывающих мест для спироперидола, чем для АДТН [54]. Более того, снижение числа участков связывания для АДТН при старении происходит параллельно снижению дофаминстимулированной аденилатциклазы стриатума, которая рассматривается как постсинаптическая [29].

Аналогичные данные получены Severson и Finch [52] в стриатуме мышей линии C57BL/6, хвостом ядре, черной субстанции, скорлупе, добавочном ядре препарата мозга человека при аутопсии. У мышей число ^3H -спироперидолспецифических связывающих мест прогрессивно уменьшается приблизительно на 50 % за период между 8- и 28-месячным возрастом, в то время как их аффинитет остается неизменным. Число ^3H -спироперидолсвязывающих мест также уменьшается приблизительно на 35 % в гипоталамусе за тот же возрастной период, хотя в обонятельных луковицах не отмечается каких-либо изменений. В данном возрастном диапазоне число АДТН-связывающих мест снижается приблизительно вдвое по сравнению с таковым для спироперидола. Достоверное возрастное уменьшение числа связывающих мест для АДТН и спироперидола наблюдается также в хвостом ядре и черной субстанции у человека. Никаких возрастных различий их аффинитета не отмечали ни в одной из областей мозга человека.

Мето и соавт. [30] установили уменьшение на 40 % числа связывающих мест для спироперидола в стриатуме старых крыс. Кроме того, они также не отметили каких-либо возрастных изменений их аффинитета. Аналогичные данные получены другими авторами [1, 12, 19]. Первоначально предполагали, что снижение числа дофаминовых рецепторов в стриатуме при старении, возможно, отражает потерю нейронов, на которых они локализованы. Severson и Finch [52] получили данные, свидетельствующие о снижении холинацетилтрансферазной активности в этой области мозга, что указывает на возможную потерю нейронов. Позже эти исследователи отмечали, что активность дофаминчувствительной аденилатциклазы в стриатуме существенно уменьшается к 120-месячному возрасту у крыс, т. е. к возрасту, когда реакция гиперчувствительности при хроническом применении галоперидола у мышей не изменяется. Последующее ослабление гиперчувствительности может наступать в результате потери различных нейронов в стриатуме. Невозможность объяснить генерализованную потерю нейронов снижение числа рецепторов в стриатуме также подтверждают данные по определению концентраций дофамина и норадреналина, холинацетилазной активности и ^3H -хинуклидинбензилатсвязывания [29] при изучении стриатума передней лимбической коры и фронтальной коры.

Большое внимание уделено изучению способности регуляции дофаминрецепторных реакций в ответ на различные воздействия. Randall и соавт. [42] приводят наблюдения, свидетельствующие о том, что старые мыши линии C57BL/6 не способны синтезировать дофаминовые рецепторы стриатума после хронического применения галоперидола, даже несмотря на то, что у молодых крыс число рецепторов увеличивалось на 25—30 %. В нашем эксперименте, чтобы вызвать денервацию у крыс линии Вистар, применялся 6-гидроксидо-

фамин. При этом не обнаружено способности животных к адаптации [23]. У зрелых и старых животных число рецепторов снижается, значения всегда на 40 % ниже, что различия вызваны типом воздействия. По сообщению может быть более эффективным гиперчувствительности. выражаемое воздействием дофаминовых рецепторов стриатума. Данное в нашей лаборатории исследование N-этоксика показало снижение ингибирования в стриатуме *in vivo* кологического воздействия рецепторов может в условиях.

Нами изучалось влияние числа дофаминовых, получающих пищу с помощью ^3H -АДТН- в возрасте 24 мес старых животных, получающих стимулировать рост допием пролактина [27] ротационных поведенческих образом, дофаминергической к различным влиянием возрастных функций.

Изменения механизма происходят в изменения, по-видимому, реакций на вводимые, основан, к снижению основным распространенным нарушением является нарушение способности регулировать диаторных системах кальция в старые клетки.

Развитие других можно задержать или диеты и различные прогресс в этой области низмов действия гормонов левать возрастные нарушения.

G. S. Roth

CHANGES IN HORMONE

The paper is concerned with and neurotransmitters and aging. The heterogenous tissues in described. Most

¹ Автор выражает благодарность за проведенные им исследования Вульфман за работу по

Физиол. журн., 1990, т. 1

фамин. При этом не обнаружено возрастных различий относительной способности животных к развитию рецепторной гиперчувствительности [23]. У зрелых и старых крыс отмечалось увеличение относительного числа рецепторов приблизительно на 50 %, хотя их абсолютные значения всегда на 40 % ниже в группе старых животных. Предполагают, что различия между этими двумя сериями экспериментов вызваны типом воздействия, применяемого для развития гиперчувствительности. По сообщению Creese и соавт. [8, 9], 6-гидроксидофамин может быть более эффективным, чем галоперидол в индуцировании гиперчувствительности. Возможно, старым животным требуется более выраженное воздействие, чтобы активировать у них биосинтез дофаминовых рецепторов стриатума. Тем не менее, исследование, проведенное в нашей лаборатории с использованием необратимой блокады рецепторов N-этоксикарбонил-2-этокси-1, 2-дигидрохолином (ЭЭДК), показало снижение интенсивности биосинтеза дофаминовых рецепторов в стриатуме *in vivo* у старых крыс без предварительного фармакологического воздействия [17]. Таким образом, ослабление биосинтеза рецепторов может наблюдаться с возрастом при различных условиях.

Нами изучалось влияние ограничения диеты на возрастное снижение числа дофаминовых рецепторов в стриатуме у крыс. У животных, получающих пищу через день число рецепторов (определяемое с помощью ^3H -АДТН- и ^3H -спироперидолспецифического связывания) в возрасте 24 мес оставалось почти таким же, как и у 36-месячных животных, получающих пищу *ad libitum* [28, 48]. Нам также удалось стимулировать рост дофаминовых рецепторов у старых крыс назначением пролактина [27]. Оба эти воздействия приводят к улучшению ротационных поведенческих реакций старых животных [24]. Таким образом, дофаминергическая система стриатума оказывается чувствительной к различным типам модуляции, направленной на преодоление возрастных функциональных нарушений.

Изменения механизмов гормонального и нейромедиаторного действия происходят на рецепторном и пострецепторном уровнях. Эти изменения, по-видимому, являются результатом нарушения ответных реакций на вводимые вещества. Изменения рецепторов сводятся, в основном, к снижению их числа, но не аффинитета, с возрастом. Самым распространенным возрастным пострецепторным феноменом является нарушение способности мобилизовывать кальций. Появилась возможность регулировать возрастные сдвиги в некоторых нейромедиаторных системах посредством поступления достаточного количества кальция в старые клетки.

Развитие других рецепторных и пострецепторных нарушений можно задержать или обратить посредством применения ограниченной диеты и различных нейроэндокринных манипуляций. Дальнейший прогресс в этой области связан с лучшим пониманием основных механизмов действия гормонов и нейромедиаторов, что позволит преодолеть возрастные нарушения.¹

G. S. Roth

CHANGES IN HORMONE AND NEUROTRANSMITTER ACTIONS WITH AGING

The paper is concerned with the mechanisms underlying an interaction between hormones and neurotransmitters and the specific receptors of glandular and nervous tissues during aging. The heterogenous pattern of age changes in different receptors and in different tissues is described. Most prevalent are the phenomena of the reduced number of recep-

¹ Автор выражает благодарность многим своим коллегам, бывшим и настоящим, за проведенные ими исследования, которые вошли в данный обзор, а также Рите Вульфман за работу по подготовке рукописи.

tors but not their affinity, and at the postreceptor level—the deranged capacity of calcium mobilization. The possibility of correction of age changes in hormonal and neurotransmitter actions, both at the receptor and postreceptor level, is stressed.

Gerontological Research Center of the National Institute on Aging, Baltimore, (USA)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Algeri S., Cimino M., Stramentinoli Y. et al. Age-related modification of dopaminergic and beta-adrenergic receptor systems. Restoration of normal activity by modifying membrane fluidity with S-adenosylmethionine // Absts. Symp. Aging and Ergot Alkaloids.—Rome, 1981.—P. 23.
2. Baum B. J., Freiberg J. M., Ito H. et al. Beta-adrenergic regulation of protein phosphorylation in the rat parotid glands // J. Biol. Chem.—1981.—256.—P. 9731.
3. Berridge M. J. The interaction of cyclic nucleotides and calcium in the control of cellular activity // Adv. Cyclic Nucleic Acids.—1975.—6.—P. 1.
4. Butcher F. R. Regulation of calcium efflux from isolated rat parotid cells // Biochem. et Biophys. Acta.—1980.—630.—P. 254.
5. Butcher F. R., Putney J. W. Regulation of parotid gland function by cyclic nucleotides and calcium // Adv. Cyclic Nucleic Acids.—1980.—13.—P. 215.
6. Cohen M. L., Berkowitz B. Vascular contraction. Effect of age and extracellular calcium // Blood Vessels.—1976.—67.—P. 139.
7. Creese I. Dopamine receptors explained // Trends Neurosci. Res.—1982.—Feb.—P. 40.
8. Creese I., Burt D. R., Snyder S. H. Dopamine receptor binding enhancement accompanies lesion induced behavioral sensitivity // Science.—1978.—197.—P. 596.
9. Creese I., Snyder S. H. Dopamine receptor binding of ³H-ADTN regulated by guanine nucleotides // Eur. J. Pharmacol.—1978.—50.—P. 549.
10. Cuatrecasas P. Membrane receptors // Ann. Rev. Biochem.—1974.—43.—P. 169.
11. Cubells J. F., Joseph J. A. Neostriatal dopamine receptor loss and behavioral deficits in the senescent rat // Life Sci.—1981.—28.—P. 1215.
12. DeBlasi A. A., Catechchia S., Mennini T. Selective changes of receptor binding in brain regions of aged rats // Ibid.—1982.—31.—P. 335.
13. Feldman R. D., Limbird L. E., Nadeau J. et al. Alterations in leucocyte beta-receptor affinity with aging // N. Engl. J. Med.—1982.—310.—P. 815.
14. Gee M. V., Baum B. J., Roth G. S. Stimulation of parotid cell glucose oxidation. Role of alpha₁-adrenergic receptors and calcium mobilization // Biochem. Pharmacol.—1983.—32.—P. 3351.
15. Gee M. V., Baum B. J., Roth G. S. Impaired adrenergic stimulation of rat parotid cell glucose oxidation during aging. The role of calcium // Submitted.
16. Guarneri T., Filburn C. R., Zitnik G. et al. Contractile and biochemical correlates of beta-adrenergic stimulation of the aged heart // Amer. J. Physiol.—1980.—239.—P. H501.
17. Henry J. M., Roth G. S. Effect of aging on recovery of striatal dopamine receptors following N-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (EEDQ) blockade // Life Sci.—1984.—35.—P. 899.
18. Hess G. D., Roth Y. S. Receptors and aging // Aging and Cell Function.—New York: Plenum, 1984.—P. 149.
19. Hruska R. E., Weis R., Pitman K. T., Silbergeld E. K. Ergot derivatives are potent drugs at CNS aminergic receptors: Correlations to behavior and aging // Absts. Symp. Aging Brain and Ergot Alkaloids.—Rome, 1981.—P. 41.
20. Ishikawa Y., Gee M. V., Ambudkar I. S. et al. Age-related impairment in rat parotid cell alpha₁-adrenergic action at the level of inositol triphosphate responsiveness // Biochem. et Biophys. Acta.—1988.—968.—P. 203.
21. Ito H., Baum B. J., Uchida T., Hoopes M. T. et al. Diminished alpha adrenergic responsiveness in rat parotid acinar cells with normal receptor characteristics // J. Biol. Chem.—1982.—256.—P. 9532.
22. Joseph J. A., Berger R. E., Engel B. T., Roth G. S. Age-related changes in the nigrostriatum: A behavioral and biochemical analysis.
23. Joseph J. A., Filburn C. R., Roth G. S. Development of dopamine receptor denervation supersensitivity in the neostriatum of the senescent rat // Life Sci.—1980.—29.—P. 575.
24. Joseph J. A., Whitaker J., Roth G. S., Ingram D. K. Life long dietary restriction affects striatally-mediated behavioral responses in aged rats // Neurobiol. Aging.—1983.—4.—P. 191.
25. Kebabian J. W., Calne D. B. Multiple receptors for dopamine // Nature.—1979.—277.—P. 93.
26. King R. J. B., Mainwaring W. I. P. Steroid-Cell Interactions.—Baltimore: Univ. Park press, 1974.—350 p.
27. Levin P., Haji M., Joseph J. A., Roth G. S. Effect of aging on prolactin regulation of rat striatal dopamine receptor concentrations // Life Sci.—1983.—32.—P. 1743.
28. Levin P., Janda J. K., Joseph J. A. et al. Dietary restriction retards the age associated loss of rat striatal dopaminergic receptors // Science.—1981.—214.—P. 561.
29. Makman M. H., Ahn H. mine and histamine stir Brain Res.—1983.—192.
30. Memo M., Lucchi L. Sp of dopamine receptors //
31. Mitchell R. H. Inositol et biophys. Acta.—1975.—
32. Narayanan N., Derby J. myocardial membranes guanine nucleotide reg of adenylate cyclase // M
33. O'Maley B. W., Means A num, 1978.—257 p.
34. Orida N., Feldman J. D. Proc.—1982.—41.—P. 8
35. Oron V., Lowe M., Seli parotid phosphatidylinosi
36. Peterson C., Gibson G. deficits by 3,4-diaminopy
37. Peterson O. H., Pederso noreceptors in mouse pa
38. Puri S. K., Volicer L. Ef phosphodiesterase activit P. 53.
39. Putney J. W. Biphasic r bachol and phenylephrin
40. Putney J. W. Recent hyp 1981.—29.—P. 1183.
41. Putney J. W., Weiss S. calcium inophore under
42. Randall P. K., Severson paminergic mechanisms P. 695.
43. Ross E. M., Gilman A. lase // Ann. Rev. Biochem
44. Roth G. S. Effects of a Aging. Reproduction and
45. Roth G. S. Mechanisms o the role of impaired ca P. 170.
46. Roth G. S. Changes in f or responsiveness impair New York: Springer Verl
47. Roth G. S., Hess G. D. C action during aging' Cu rations // Mech. Ageing I
48. Roth G. S., Ingram D. I during aging of dietaril
49. Scarpace P. J., Abrass I. cyclase activity in senesc
50. Seeman P. Brain dopam
51. Selinger Z., Batzri S., E K⁺ release mediated by t Chem.—1973.—248.—P.
52. Severson J. A., Finch C. i striatum // Brain Res.—1
53. Streb H., Irvine R. F., E chondrial intracellular st Nature.—1983.—307.—P
54. Thal L. J., Horowitz S. ³H-ADTN binding sites P. 185.
55. Thompson J., Whitaker J. tylocholine release in striat
56. Uchida T., Ito H., Baum nositol-phosphatidic acid 21.—P. 128.
57. Walker J. P., Boas-Walker // Brain Res.—1983.—54.
58. Weiss S. J., Putney J. W. and calcium-ion channels P. 463.

Геронтологич. науч.-исслед. ц
Национального ин-та старени
Балтимора (США)

29. Makman M. H., Ahn H. S., Thal L. J. et al. Evidence for selective loss of brain dopamine and histamine stimulated adenylate cyclase activities in rabbits with aging // Brain Res.—1983.—192.—P. 177.
30. Memo M., Lucchi L., Spano P. F., Trabucchi M. Aging process affects a single class of dopamine receptors // Ibid.—1980.—202.—P. 488.
31. Michell R. H. Inositol phospholipids and cell surface receptor function // Biochem. et biophys. acta.—1975.—415.—P. 81.
32. Narayanan N., Derby J. Alterations in the properties of betaadrenergic receptors of myocardial membranes in aging: Impairments in agonist-receptor interactions and guanine nucleotide regulation accompany diminished catecholamine-responsiveness of adenylate cyclase // Mech. Ageing Dev.—1982.—19.—P. 127.
33. O'Maley B. W., Means A. R. Receptors for Reproductive Hormones.—New York: Plenum, 1978.—257 p.
34. Orida N., Feldman J. D. Age related deficiency in calcium uptake by mast cells // Fed. Proc.—1982.—41.—P. 822.
35. Oron V., Lowe M., Selinger Z. Incorporation of inorganic ^{32}P -phosphate into rat parotid phosphatidylinositol // Mol. Pharmacol.—1975.—11.—P. 79.
36. Peterson C., Gibson G. E. Amelioration of age-related neurochemical and behavioral deficits by 3,4-diaminopyridine // Neurobiol. Aging.—1983.—4.—P. 25.
37. Peterson O. H., Pederson Y. L. Membrane effects mediated by alpha- and beta-adrenoreceptors in mouse parotid acinar cells // J. Membrane Biol.—1974.—16.—P. 353.
38. Puri S. K., Volicer L. Effect of aging on cyclic AMP levels and adenylate cyclase and phosphodiesterase activities in rat corpus striatum // Mech. Ageing Dev.—1976.—6.—P. 53.
39. Putney J. W. Biphasic modulation of potassium release in rat parotid gland by carbachol and phenylephrine // J. Pharmacol. and Exp. Therap.—1976.—198.—P. 375.
40. Putney J. W. Recent hypotheses regarding the phosphatidylinositol effect // Life Sci.—1981.—29.—P. 1183.
41. Putney J. W., Weiss S. J., Van DeWalle C. M., Haddas R. Is phosphatidic acid a calcium inophore under neurochemical control // Nature.—1980.—284.—P. 345.
42. Randall P. K., Severson J. A., Finch C. E. Aging and the regulation of striatal dopaminergic mechanisms in mice // J. Pharmacol. and Exp. Therap.—1981.—291.—P. 695.
43. Ross E. M., Gilman A. G. Biochemical properties of hormonesensitive adenylate cyclase // Ann. Rev. Biochem.—1980.—49.—P. 533.
44. Roth G. S. Effects of aging on the mechanisms of estrogen action in rat uterus // Aging, Reproduction and the Climacteric.—New York: Plenum, in press.
45. Roth G. S. Mechanisms of altered hormone and neurotransmitter action during aging: the role of impaired calcium mobilization // Ann. N. Y. Acad. Sci.—1988.—521.—P. 170.
46. Roth G. S. Changes in hormone action with age; altered calcium mobilization and/or responsiveness impairs signal transduction // Endocrine Function and Aging.—New York: Springer Verlag, 1989, in press.
47. Roth G. S., Hess G. D. Changes in the mechanisms of hormone and neurotransmitter action during aging: Current status of the role of receptor and post-receptor alterations // Mech. Ageing Dev.—1982.—20.—P. 175.
48. Roth G. S., Ingram D. K., Joseph J. A. Delayed loss of striatal dopamine receptors during aging of dietarily restricted rats // Brain Res.—1984.—360.—P. 27.
49. Scarpace P. J., Abrass I. B. Decreased beta-adrenergic agonist affinity and adenylate cyclase activity in senescent rat lung // J. Gerontol.—1983.—38.—P. 43.
50. Seeman P. Brain dopamine receptors // Pharmacol. Rev.—1980.—229.—P. 1.
51. Selinger Z., Batzri S., Eimerl S., Schramm M. Calcium and energy requirements for K^+ release mediated by the epinephrine alpha-receptor in rat parotid slices // J. Biol. Chem.—1973.—248.—P. 369.
52. Severson J. A., Finch C. E. Reduced dopaminergic binding during aging in the rodent striatum // Brain Res.—1982.—192.—P. 147.
53. Streb H., Irvine R. F., Berridge M. J., Schulz I. Release of Ca^{++} from a nonmitochondrial intracellular store in pancreatic acinar cells by inositol-1,4,5-triphosphate // Nature.—1983.—307.—P. 67.
54. Thal L. J., Horowitz S. G., Dvorkin B., Makman M. H. Evidence for loss of brain ^3H -ADTN binding sites in rabbit brain with aging // Brain Res.—1980.—192.—P. 185.
55. Thompson J., Whitaker J., Joseph J. A. Effects of age on dopamine stimulated acetylcholine release in striatal slices // Submitted.
56. Uchida T., Ito H., Baum B. J. et al. Alpha $_1$ -adrenergic stimulation of phosphatidylinositol-phosphatidic acid turnover in rat parotid glands // Mol. Pharmacol.—1982.—21.—P. 128.
57. Walker J. P., Boas-Walker J. Properties of adenylate cyclase from senescent rat brains // Brain Res.—1983.—54.—P. 391.
58. Weiss S. J., Putney J. W. The relationship of phosphatidylinositol turnover to receptors and calcium-ion channels in rat parotid acinar cells // Biochem. J.—1981.—194.—P. 463.

Геронтологич. науч.-исслед. центр
Национального ин-та старения,
Балтимора (США)

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

Биологические проявления андропаузы

Если у женщин термин менопауза обычно означает конец репродуктивного периода жизни, то у мужчин подобного явления — резкого прекращения способности к оплодотворению — нет: сохранение у них даже в глубокой старости способности к оплодотворению доказано. В этом смысле андропаузы не существует. Между тем, менопауза не только означает конец репродуктивного периода, она, вследствие эстрогенной недостаточности, сопровождается некоторыми клиническими, биохимическими и психо-соматическими изменениями, которые хорошо поддаются заместительной терапии эстрогенами.

Правомочна постановка вопроса: существует ли у мужчин период, эквивалентный менопаузе у женщин? Другими словами, можно ли у мужчин обнаружить клинические проявления возрастного снижения вирильности, биохимические проявления снижения функции семенников и, наконец, можно ли добиться исчезновения этих сдвигов и симптомов заместительной терапией?

В клиническом плане хорошо известно, что старение мужчин сопровождается снижением вирильности и способности к оплодотворению: действительно, объем семенников, мышечная масса, обволосение, а также половая активность существенно снижаются с возрастом. Как показали Mineau и Trussel [7], способность к оплодотворению неуклонно снижается, начиная с 25-летнего возраста, при этом отмечаются незначительные изменения качества спермы, которые характеризуются уменьшением подвижности сперматозоидов [9, 13]. С возрастом суточная продукция сперматозоидов достоверно снижается [8]. Роль уменьшения концентрации тестостерона (прежде всего свободного) в этом снижении вирильности и фертильности, дискутировавшаяся продолжительное время, сейчас хорошо подтверждена и общепризнана. Исследования нашей лаборатории убедительно показали, что даже у мужчин, обладающих исключительным здоровьем, концентрация тестостерона в плазме крови снижается с возрастом [3]. Хотя большинство данных получено в поперечных исследованиях, лонгитудинальные наблюдения на ограниченном контингенте мужчин в возрасте 50—60 лет показали, что средняя концентрация тестостерона в плазме крови неуклонно снижается на протяжении 20 лет. При этом следует иметь в виду, что несмотря на статистически достоверное снижение с возрастом содержания тестостерона в плазме крови, вариабельность его концентрации в каждом возрасте очень значительна, и у некоторых мужчин в возрасте 80 лет последняя соответствует нормальному ее значению у молодых. Кроме того, концентрация тестостерона у молодых мужчин имеет суточные колебания, достигающие 35 % средних значений. У пожилых эти колебания в большинстве случаев исчезают, вследствие чего концентрация тестостерона у них в утренние часы достоверно ниже, чем у молодых, а различия в вечерние часы менее значительны [1, 3]. И наконец, у молодых мужчин стресс оказывает более выраженное влияние на концентрацию тестостерона, чем у старых, что следует иметь в виду при сопоставлении этого показателя у молодых и старых испытуемых.

В настоящее время принято считать, что возрастное снижение функции семенников при старении первично связано с их собственными возрастными изменениями. Действительно, снижение содержания тестостерона сопровождается повышением концентрации лютеинизирующего гормона (ЛГ), ослаблением реакции семенников на хориогонин и изменениями биосинтетических процессов в семенниках, которые

© А. ВЕРМЮЛЕН, 1990.

проявляются в прева-
дами. Кроме того, в
и число капилляров
При этом повышении
рилизинг-фактора-ЛГ
не отличается от та-
нении в старости не-
клеток гипофиза.

В то же время
личие определенных
мужчин пожилого и
содержания тестосте-
статочной способнос-
менниками указывае-
надостата с возраст-
концентрации тестос-
об изменениях типо-
тестостерона. Након-
при старении конце-
ском определении. Э-
биологически активн-

С целью более
словливающего импе-
мы определяли у мо-
чин концентрацию ЛГ
10 мин на протяжении

Компьютерная
числа выбросов ЛГ
шествующего спада
показала, что хотя
мых обеих возрастных
ЛГ (>2 ИЕ/л), а
ма амплитуд всех в-
мужчин. Это еще
гипоталамо-гипофиз-

Более того, при
лам обратной связи
показано, что при
определенного значе-
дермального введен-
ное снижение концен-
мужчин [3]. Это св-
достата к влиянию о-

Механизмы изм-
и генератора импуль-
Однако можно выс-
что эти сдвиги обус-
в нейромедиаторных
гах концентраций
опиоидов [14].

Как один из п-
сопоставили измене-
чин при однократн-
рательного блокато-
группах налоксон
крови, что указыва-
секрецию гонадотро-
боратории проводят
роли опиоидной с-
гонадостата у стар-
Снижение функ-

проявляются в превалировании секреции $\Delta 4$ -стероидов над $\Delta 5$ -стероидами. Кроме того, в старости уменьшается число клеток Лейдига [8] и число капилляров [15], т. е. нарушается кровоснабжение тестикул. При этом повышение концентрации ЛГ в плазме крови на введение релизинг-фактора-ЛГ у испытуемых пожилого и старческого возрастов не отличается от такового у молодых, что свидетельствует о сохранении в старости нормальной функции гонадотропинпродуцирующих клеток гипофиза.

В то же время некоторые данные дают основание полагать наличие определенных сдвигов на гипоталамо-гипофизарном уровне у мужчин пожилого и старческого возрастов. Так, сам факт снижения содержания тестостерона у старых мужчин на фоне сохранения достаточной способности к секреции ЛГ гипофизом и тестостерона семенниками указывает на смещение установки точки равновесия гонадостата с возрастом. Кроме того, исчезновение суточных колебаний концентрации тестостерона и ЛГ в старости также свидетельствует об изменениях гипоталамо-гипофизарного звена регуляции секреции тестостерона. Наконец, следует иметь в виду, что данные о повышении при старении концентрации ЛГ основаны на его радиоиммунологическом определении. Это вовсе не обязательно означает, что содержание биологически активного ЛГ также повышено [17].

С целью более детального изучения активности генератора, обуславливающего импульсную секрецию ЛГ и ее изменения в старости, мы определяли у молодых (11 человек) и старых (23 человека) мужчин концентрацию ЛГ в пробах плазмы крови, которые брали каждые 10 мин на протяжении 12 ч.

Компьютерная обработка результатов, которая включала анализ числа выбросов ЛГ, амплитуды подъема концентрации ЛГ от предшествующего спада и глубины спада (три стандартных отклонения), показала, что хотя число выбросов ЛГ было одинаковым у испытуемых обеих возрастных групп, число высоких подъемов концентрации ЛГ (>2 ИЕ/л), а также средняя арифметическая амплитуды и сумма амплитуд всех выбросов ЛГ были достоверно большими у молодых мужчин. Это еще одно доказательство изменений, происходящих в гипоталамо-гипофизарном звене у мужчин в старости.

Более того, при изучении чувствительности гонадостата к сигналам обратной связи, т. е. введению андрогенов и эстрогенов, нами показано, что при повышении концентрации дигидротестостерона до определенного значения у молодых и старых мужчин после его трансдермального введения (дигидротестостероновый гель) более выраженное снижение концентрации ЛГ и тестостерона происходит у старых мужчин [3]. Это свидетельствует о повышении чувствительности гонадостата к влиянию обратных связей в старости.

Механизмы изменения функционального состояния гонадостата и генератора импульсных выбросов ЛГ пока остаются неизвестными. Однако можно высказать некоторые предположения. Можно полагать, что эти сдвиги обусловлены изменениями, происходящими с возрастом в нейромедиаторных и нейромодуляторных системах, например, сдвигах концентраций дофамина, норадреналина или эндогенных опиоидов [14].

Как один из первых подходов к анализу этих механизмов мы сопоставили изменение концентрации ЛГ у молодых и старых мужчин при однократном внутривенном введении 2 мг налоксона (избирательного блокатора опиатных рецепторов). В обеих возрастных группах налоксон достоверно повышал концентрацию ЛГ в плазме крови, что указывает на сохранение тормозного влияния опиатов на секрецию гонадотропинов в старости. В настоящее время в нашей лаборатории проводятся более углубленные исследования по выяснению роли опиоидной системы в контроле функционального состояния гонадостата у старых мужчин.

Снижение функции клеток Лейдига в старости доказано. Однако

влияние заместительной терапии андрогенами у старых людей изучено недостаточно. Как известно, андрогены необходимы для нормальной половой активности и сперматогенеза. Так, у мужчин с пониженной функцией гонад заместительная терапия андрогенами вызывает отчетливую стимуляцию полового интереса (либидо) и половой активности, которые зависят от дозы андрогена [11]. Однако взаимосвязь содержания андрогенов и эрекции значительно сложнее. И если ночные набухания пениса, а также утренние эрекции явно гормонозависимы, то эрекции, возникающие при просмотре эротических фильмов или на другие внешние эротические раздражители, в значительной мере зависят от содержания андрогенов [10]. Наконец, хотя у пожилых людей тактильная чувствительность пениса снижается с возрастом, остается невыясненной взаимосвязь (если она вообще существует) этих явлений и снижения содержания тестостерона при старении [6]. У мужчин, ведущих активную половую жизнь, содержание тестостерона, в среднем, выше, чем у мужчин с низкой половой активностью [16]. Это согласуется с данными Davidson и соавт. [2], но противоречит данным Nieschlag [9]. Большинство авторов полагают, что имеется определенная пороговая концентрация тестостерона, находящаяся близко к нижней границе нормы, выше которой тестостероном мало влияет на половую активность. Чем же тогда объясняется положительный эффект андрогенотерапии у пожилых мужчин с нормальной функцией половых желез, т. е. тех, у кого содержание тестостерона в крови находится в пределах нормы? В перекрестных исследованиях с использованием плацебо, проведенных на пожилых мужчинах с нормальной функцией половых желез, но предъявляющих жалобы на снижение полового влечения (либидо), наблюдался хотя и умеренный, но достаточно четкий положительный эффект терапии андрогенами [10]. Следовательно, так называемая нижняя граница нормы находится значительно ниже индивидуальной пороговой концентрации тестостерона, необходимой для поддержания нормального либидо. Иначе говоря, у некоторых пожилых мужчин, имеющих концентрацию тестостерона в крови в пределах нормы, но жалующихся на снижение половой активности и либидо, проведение терапии андрогенами вполне целесообразно при условии, что это лечение не окажет стимулирующего влияния на разрастание простаты и не вызовет повышения содержания липидов в крови. Что касается последнего условия, то исследования, проведенные в нашей лаборатории, показали, что повышение концентрации дигидротестостерона в плазме крови до 8 мкг/л, в среднем, при трансдермальном его введении (андростим) на протяжении 3 мес не оказывает влияния на содержание липидов в плазме крови. Наконец, при назначении андрогенов пожилым мужчинам, у которых концентрация тестостерона находится в пределах нормы, необходимо подобрать такую дозировку препаратов, которая бы по принципу обратной связи не вызвала бы подавления эндогенной секреции тестостерона.

В заключение следует отметить, что хотя у некоторых пожилых мужчин андропausalные симптомы ослабевают при проведении терапии андрогенами, у большинства недостаточность функции клеток Лейдига играет незначительную роль в возрастном ослаблении эрекции и либидо. Вероятно, помимо васкулярных факторов, изменения нейромедиаторов и нейромодуляторов играют определяющую роль в половом поведении пожилых мужчин.

A. Vermeulen

BIOLOGICAL MANIFESTATIONS OF THE ANDROPAUSE

Aging in men is accompanied by signs of decreased virility and fertility: testicular volume, muscle mass, pilosity, sexual activity, daily production of spermatozoa, plasma testosterone levels, the number of Leydig cells and blood supply of the testicles decrease

significantly with age. The p studied by taking plasma s alterations at the hypothalan ase in gonadostat sensitivity nism are found. Whenever a sufficient dosage should be administered androgens, sup testosterone levels. Changes minant role in the sexual beh

Medical Clinic of the Univers
Ghent (Belgium)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bremner W. J., Vitiello testosterone levels with 56.— P. 1278—1281.
2. Davidson J. M., Chen J. aging men // Ibid.— 57.—
3. Deslypere J. P., Verme life style, residence, die
4. Deslypere J. P., Thiery on plasma lipids // Contr
5. Deslypere J. P., Kaufm luteinizing hormone. Re feedback in men // Ibid.—
6. Edwards A. E., Husted Psychol.— 1976.— 32.—
7. Mineau G. P., Trussel marriage and marital
8. Neaves W. B., Johnson duction and serum gon 1984.— 59.— P. 756—761
9. Nieschlag E., Lammers fathers and grandfather
10. O'Carrol R., Bancroft dysfunction in men: P. 146—151.
11. O'Carrol R., Shapiro in hypogonadal men: nol.— 1985.— 23.— P. 5
12. Pen-Ming Tsung. Cha during aging // Neuroe P. 61—71.
13. Schwartz D., Mayaux logic characteristics P. 423—428.
14. Simpkins J. W. Chang mitters during aging / 1983.— P. 41—53.
15. Suoranta H. Changes tion to age and to s 1971.— 352.— P. 165—
16. Tsitouras R. D., Mar sexual activity in hea
17. Warner B., Dufau M. ular axis in men: qu ne // J. Clin. Endocrin

Отдел эндокринологии
Мед. клиники университе
Гент (Бельгия)

significantly with age. The pulsatility of LH levels in young and elderly men has been studied by taking plasma samples with an interval of 10 minutes for 12 hours. Age alterations at the hypothalamic-pituitary levels of testosterone production and an increase in gonadostat sensitivity to hormonal influences realized via the feedback mechanism are found. Whenever androgen therapy of eugonadal elderly men is considered, a sufficient dosage should be administered, as otherwise, due to the feedback effects, administered androgens, suppressing endogenous secretion might not increase plasma-testosterone levels. Changes in neurotransmitters and neuromodulators play a determinant role in the sexual behaviour of elderly men.

Medical Clinic of the University Hospital,
Ghent (Belgium)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bremner W. J., Vitiello M. V., Prinz P. N. Loss of circadian rhythmicity in blood testosterone levels with aging in normal men // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*— 1983.— 56.— P. 1278—1281.
2. Davidson J. M., Chen J. J., Crapo L. et al. Hormonal changes and sexual function in aging men // *Ibid.*— 57.— P. 71—77.
3. Deslypere J. P., Vermeulen A. Leydig cell function in normal men—effect of age, life style, residence, diet and activity // *Ibid.*— 1984.— 59.— P. 955—961.
4. Deslypere J. P., Thiery M., Vermeulen A. Effect of long-term hormonal contraception on plasma lipids // *Contraception.*— 1985.— 31.— P. 633—642.
5. Deslypere J. P., Kaufman J. M., Vermeulen T. et al. Influence of age on pulsatile luteinizing hormone. Release and responsiveness of the gonadotrophs to sex hormone feedback in men // *Ibid.*— 1987.— 64.— P. 68—73.
6. Edwards A. E., Husted J. P. Penile sensitivity, age and sexual behavior // *J. Clin. Psychol.*— 1976.— 32.— P. 697—700.
7. Mineau G. P., Trussel J. A specification of marital fertility by parent's age, age at marriage and marital duration // *Demography.*— 1982.— 19.— P. 335—350.
8. Neaves W. B., Johnson L., Porter J. C. et al. Leydig cell numbers, daily sperm production and serum gonadotropin levels in aging men // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*— 1984.— 59.— P. 756—763.
9. Nieschlag E., Lammers U., Freischem C. W., et al. Reproductive functions in young fathers and grandfathers // *Ibid.*— 1982.— 55.— P. 676—681.
10. O'Carroll R., Bancroft J. Testosterone therapy for low sexual interest and erectile dysfunction in men: a controlled study // *British J. Psychiatry.*— 1984.— 145.— P. 146—151.
11. O'Carroll R., Shapiro C., Bancroft J. Androgens, behaviour and nocturnal erections in hypogonadal men: the effect of varying the replacement dose // *Chn. Endocrinol.*— 1985.— 23.— P. 527—538.
12. Pen-Ming Tsung. Changes in hormone uptake and receptors in the hypothalamus during aging // *Neuroendocrinology of aging* / Ed. Meites J., Plenum press.— 1983.— P. 61—71.
13. Schwartz D., Mayaux M. J., Guihard-Moscato M. L. et al. Study of sperm morphologic characteristics in a group of 833 fertile men // *Andrologia.*— 1984.— 16.— P. 423—428.
14. Simpkins J. W. Changes in hypothalamic hypophysiotropic hormones and neurotransmitters during aging // *Neuroendocrinology of aging* / Ed. Meites J., Plenum press.— 1983.— P. 41—53.
15. Suoranta H. Changes in the small blood vessels of the adult human testes in relation to age and to some pathological conditions // *Virchows Arch. A. Path. Anat.*— 1971.— 352.— P. 165—181.
16. Tsitouras R. D., Martin I. E., Harman S. M. Relationship of serum testosterone to sexual activity in healthy elderly males // *J. Gerontol.*— 1982.— 37.— P. 288—293.
17. Warner B., Dufau M., Santen R. Effects of aging and illness on the pituitary testicular axis in men: quantitative as well as quantitative changes in luteinizing hormone // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*— 1985.— 60.— P. 263.

Отдел эндокринологии
Мед. клиники университет. госпиталя,
Гент (Бельгия)

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

Симпатическая регуляция функции мозгового слоя надпочечников при старении

Shock в своей фундаментальной работе [13] показал, что снижение физиологических функций с возрастом происходит с различной скоростью. В противоположность этому, содержание катехоламинов, особенно норадреналина, в крови увеличивается при старении [15, 17]. Однако концентрация катехоламинов в крови не является точным показателем функций мозгового слоя надпочечников вследствие изменений метаболизма, выделения в кровь большого количества норадреналина из нервных окончаний симпатических постганглионарных нервов. Поэтому наш первый этап исследований имел цель выяснить, как изменяется при старении секреция адреналина (А) и норадреналина (НА) в надпочечниках. Цель второго этапа исследований — определить, изменяется ли в старости спонтанная активность единичных симпатических нервных волокон, иннервирующих надпочечники [5].

В настоящее время наиболее важным вопросом является выяснение механизма возрастного повышения активности симпатических нервов надпочечников. Причинными факторами, объясняющими этот феномен, могут быть возрастное снижение чувствительности артериальных барорецепторов, снижение активности центральных тормозящих механизмов, которые влияют на симпатические нейроны, и (или) рост активности центральных возбуждающих механизмов, контролирующих эти нейроны. Существует много данных, свидетельствующих в пользу того, что при старении снижается чувствительность тормозного барорефлекса [3, 12] и что разнообразные возбуждающие вегетативные реакции на различные виды стимуляции (физическая нагрузка [10], холод [9, 11] и др.) при старении усиливаются, хотя имеются и противоречащие этому сведения [9, 16]. Такие зависимости от возраста явления могут определять повышение активности симпатических нервов надпочечников при старении. Необходимо, однако, отметить, что большая часть предыдущих исследований по изучению рефлекторных вегетативных реакций в старости проведена на уровне эффекторного органа.

Вот почему на втором этапе нашей работы мы изучали рефлекторную способность самого симпатического нерва надпочечника при старении и вторую серию наших экспериментов планировали с целью исследования рефлекторного ответа симпатического нерва надпочечника на сенсорную стимуляцию артериальных барорецепторов и кожных ноцицептивных и неноцицептивных механорецепторов при старении [6].

Методика

Первая серия экспериментов проведена на крысах линии Вистар различного возраста (от 100 до 900 сут) под уретан-хлоралозной анестезией. Скорость секреции катехоламинов определяли по их концентрации в плазме венозной крови надпочечников и скорости кровотока в надпочечниках [1].

Во второй серии экспериментов мы исследовали взрослых (4-месячных) и старых (26-месячных) крыс линии Вистар, наркотизированных 1,0—1,2 %-ным галотаном. В качестве сенсорных стимулов использовали следующие: повышение кровяного давления внутривенным введением фенилэфрина (для артериальных барорецепторов), пощипывание кожи нижней области грудной клетки (для ноцицептивных кожных механорецепторов), почесывание кожи нижней области грудной клетки (для неноцицептивных кожных механорецепторов). Значение рефлекторных ответных реакций симпатического нерва выражали в процентах по отношению к исходному.

© А. САТО, 1990.

Следует подчеркнуть, водили в условиях анестезии помощью искусственного д

Результаты и их обсуж

При большом разбросе значений секреции катехо. Средние значения пок

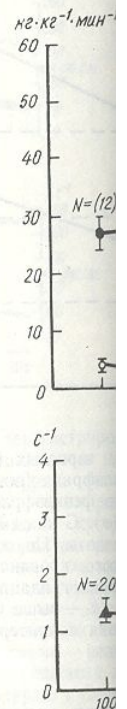


Рис. 1. Скорость ($\text{нг} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$) и частота электрической (б) в возрастные периоды. Точечная линия представляет средние значения (а) или для всех крыс для а и число нервов (б) в сравнении с 100-суточными

были почти одинаковы $\times \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ соответствовать в возрасте 700—800 сут несколько снижалась и у всех 700—900-суточных. Скорость составляла $4,01 \pm 0,7$ также постепенно на секреции НА у крыс $\times \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, что было этого показателя с 900 сут, но по-прежнему крыс.

Спонтанную активность надпочечников регистриро

Следует подчеркнуть, что все эксперименты на крысах в нашей лаборатории проводили в условиях анестезии. Кроме того, осуществляли строгий контроль дыхания (с помощью искусственного дыхания), температуры тела, систолического давления и т. д.

Результаты и их обсуждение

При большом разбросе результатов наблюдалась тенденция к увеличению секреции катехоламинов при старении, что видно из рис. 1, а. Средние значения показателей секреции А у 100- и 200-суточных крыс

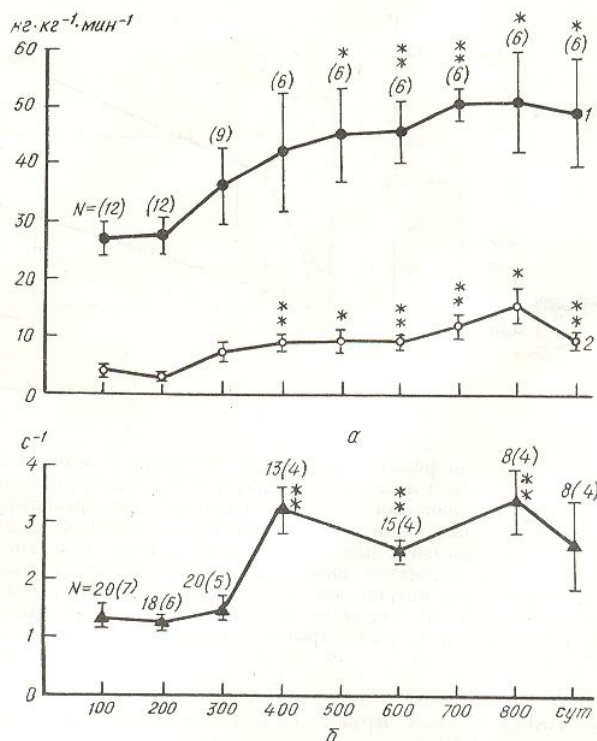


Рис. 1. Скорость ($\text{нг} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$) секреции (а) адреналина (1) и норадреналина (2) и частота электрической активности (с^{-1}) единичного нервного волокна надпочечника (б) в возрастные периоды от 100 до 900 сут у 103 крыс. Каждое значение и вертикальная линия представляют средние значения $\pm$ стандартная погрешность для всех животных (а) или для всех нервных волокон (б) соответствующего возраста. N — число крыс для а и число нервных волокон (число крыс) для б. * $P < 0,05$ и ** $P < 0,01$ по сравнению с 100-суточными, в соответствии с критерием М Манна — Уитни [6].

были почти одинаковыми и составляли $26,7 \pm 2,9$ и $(27,6 \pm 2,7)$ $\text{нг} \times \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ соответственно. Скорость секреции у крыс начинала нарастать в возрасте 300 сут и постепенно повышалась до 700 сут. В возрасте 700—800 сут скорость секреции оставалась неизменной и несколько снижалась в возрасте 900 сут. Скорость секреции адреналина у всех 700—900-суточных крыс была на 80—90 % выше, чем у 100-суточных. Скорость секреции НА у крыс в возрасте 100 и 200 сут составляла $4,01 \pm 0,77$ и $(3,18 \pm 0,47)$ $\text{нг} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ соответственно и также постепенно нарастала в возрасте от 300 до 800 сут. Скорость секреции НА у крыс в возрасте 800 сут составляла $(15,36 \pm 3,22)$ $\text{нг} \times \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$, что было на 280 % выше, чем у 100-суточных. Значение этого показателя снизилось до $(9,41 \pm 1,39)$ $\text{нг} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ в возрасте 900 сут, но по-прежнему оставалось на 140 % выше, чем у 100-суточных крыс.

Спонтанную активность отдельных симпатических нервов надпочечников регистрировали после отсечения их нервных волокон с по-

мощью тонких пинцетов под бинокулярным микроскопом. Несмотря на большую вариабельность, отмечалась тенденция к увеличению с возрастом залповой активности отдельных нервных волокон в условиях анестезии.

Как видно на рис. 1, б, средняя скорость разряда у 100-суточных крыс составляла $(1,35 \pm 0,17) \text{ с}^{-1}$, и эта частота сохранялась до возраста 300 сут. Однако электрическая активность нерва к 400-суточному возрасту повысилась до $3,23 \pm 0,40 \text{ с}^{-1}$, что было почти на 40 %

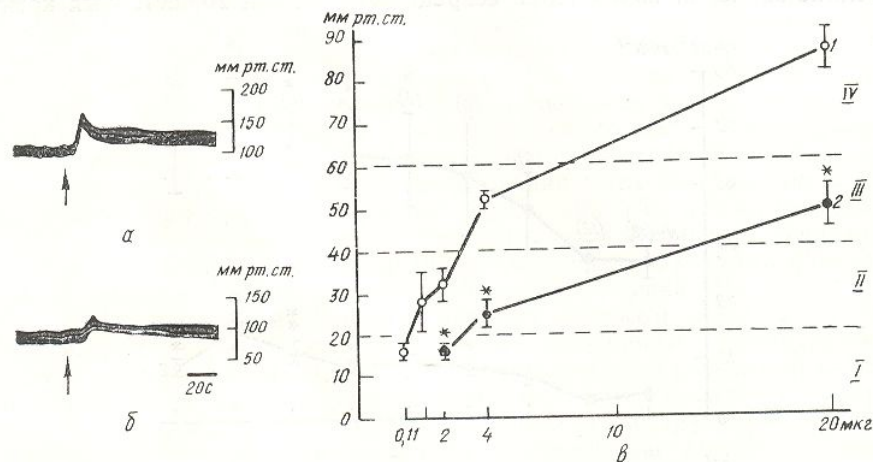


Рис. 2. Примеры регистрации реакций кровяного давления у взрослых (а) и старых (б) крыс, зарегистрированных в ответ на введение 4 мкг фенилэфрина (показано стрелкой), а также эффекты внутривенного введения различных доз фенилэфрина на кровяное давление у семи взрослых (1) и семи старых (2) крыс (в). С каждым животным было проведено 1—2 эксперимента для каждой приведенной дозы. По оси абсцисс — доза фенилэфрина, по оси ординат — повышение систолического кровяного давления. Рост кровяного давления рассматривался в следующих четырех градациях: I — 10—19 мм рт. ст., II — 20—39 мм рт. ст., III — 40—59 мм рт. ст., IV — выше 60 мм рт. ст. * $P < 0,01$ между взрослыми и старыми крысами в соответствии с критерием t Стьюдента [7].

выше, чем у 100-суточных крыс. Такая повышенная нервная активность сохранялась до 900-суточного возраста.

Эти результаты согласуются с полученными ранее данными о возрастном повышении содержания катехоламинов в надпочечниках [4, 7], катехоламинсинтезирующей ферментативной активности надпочечников [7], концентрации катехоламинов на периферии [2, 15, 17]. Все эти данные свидетельствуют о том, что возрастное повышение активности симпатических нервов надпочечников усиливает функции их хромаффинных клеток, приводя в итоге к повышению образования, содержания и секреции катехоламинов. Возрастным повышением секреции катехоламинов надпочечниками, по-видимому, можно объяснить не только увеличение содержания их в крови, но также и снижение активности катехоламиновых рецепторов в различных тканях на периферии, таких, как сердечная мышца [8] и кровеносные сосуды [14].

Стоит отметить, что системное кровяное давление у старых крыс почти такое же, как у взрослых животных. Систолическое и диастолическое кровяное давление у взрослых анестезированных крыс в покое составляло 110 ± 4 и (85 ± 4) мм рт. ст. соответственно, а у старых крыс — 103 ± 6 и (81 ± 6) мм рт. ст. без каких-либо статистически достоверных различий. Фенилэфрин, введенный внутривенно в дозе, соответствующей дозе галотана, вызывал меньшее повышение кровяного давления у старых крыс по сравнению со взрослыми (рис. 2). Это свидетельствует либо о возрастном снижении чувствительности α -рецепторов, либо о снижении сократительной способности гладких

мышц кровеносных сосудов. Возрастных различий в активности нервных волокон в группах, чтобы вызвать односторонний паралич нерва надпочечника в отделе после введения фенилэфрина, не обнаружено.

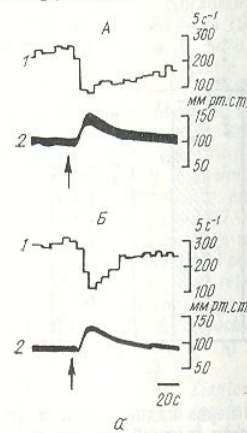


Рис. 3. Пример зарегистрированной активности нерва надпочечника в ответ на введение фенилэфрина (показано стрелкой) у крыс (1 — суммарная активность нерва во время введения фенилэфрина; 2 — кровяное давление). По оси абсцисс — доза фенилэфрина, по оси ординат — повышение систолического кровяного давления. Рост кровяного давления рассматривался в следующих четырех градациях: I — 10—19 мм рт. ст., II — 20—39 мм рт. ст., III — 40—59 мм рт. ст., IV — выше 60 мм рт. ст. * $P < 0,01$ между взрослыми и старыми крысами в соответствии с критерием t Стьюдента [7].

В противоположность этим результатам, дискуссионным является вопрос о снижении активности симпатических нервов надпочечников. Однако данные экспериментов, проведенных с использованием симпатических нервов, не позволяют однозначно ответить на этот вопрос. В то время как некоторые исследователи считают, что барорефлекторный контроль над артериальным давлением не изменяется при старении [16], другие считают, что барорефлекторный контроль над артериальным давлением снижается с возрастом [17].

Поощивание кожных и старых крыс в импульсной активности жалящегося в течение жизни (рис. 4, а, в). Поощивание кожных и старых крыс в импульсной активности жалящегося в течение жизни (рис. 4, а, в). Поощивание кожных и старых крыс в импульсной активности жалящегося в течение жизни (рис. 4, а, в).

мышц кровеносных сосудов [14], чем можно объяснить отсутствие возрастных различий кровяного давления в покое у взрослых и старых крыс. Мы вводили различные дозы фенилэфрина крысам обеих групп, чтобы вызвать одинаковое повышение систолического давления (рис. 3). Достоверных различий рефлекторного снижения активности нерва надпочечника в ответ на такое же повышение кровяного давления после введения фенилэфрина взрослым и старым крысам не обнаружено.

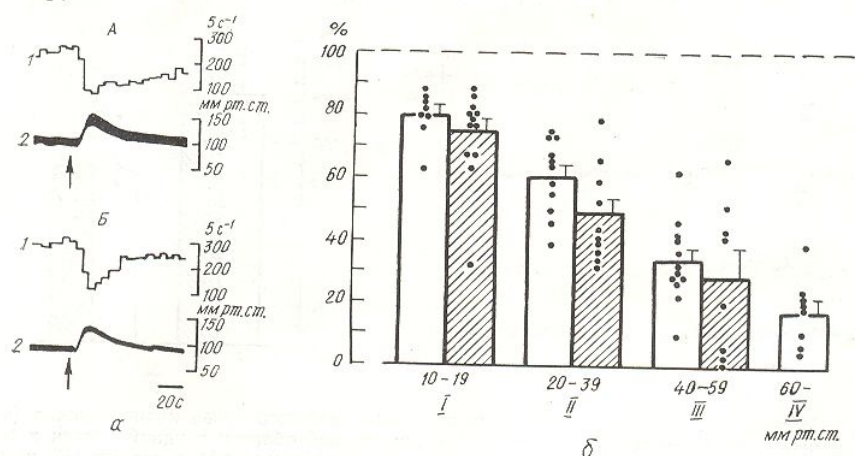


Рис. 3. Пример зарегистрированного рефлекторного угнетения активности симпатического нерва надпочечника в ответ на стимуляцию барорецепторов (а) внутривенным введением фенилэфрина (показано стрелкой) у взрослых (А, 4 мкг) и старых (Б, 20 мкг) крыс (1—суммарная активность нервных разрядов, подсчитываемая непрерывно каждые 5 с; 2—кровяное давление, мм рт. ст.) и рефлекторные ответные реакции активности нерва во время барорецепторной стимуляции (б), выражающиеся в процентном отношении к базальной активности (точками представлены индивидуальные измерения — ≤ 2 измерения у каждой крысы — у семи взрослых и семи старых крыс; колонки и вертикальные линии на колонках обозначают средние значения реакций и стандартные погрешности для всех измерений; белые столбики — реакции взрослых крыс, заштрихованные — реакции старых крыс; по оси абсцисс — рост (Δ) кровяного давления, рассматриваемый в четырех градациях (I—IV); статистически достоверных различий по критерию t Стьюдента между взрослыми и старыми крысами в градациях I—III не обнаружено; для старых крыс градация IV нет) [7].

В противоположность результатам наших исследований симпатических барорефлекторных реакций у старых животных и людей, предыдущие дискуссии по этому вопросу отмечали ослабление этих реакций [3, 12]. Однако следует учитывать, что в большинстве предыдущих экспериментов, посвященных барорефлексам, изучали частоту сердечных сокращений и кровяное давление, которые регулируются не только симпатическими, но и парасимпатическими нервами и даже некоторыми гормонами. Тем не менее, в этих сообщениях не остается сомнений относительно того, что все барорефлекторные ответы с возрастом ослабевают. Однако наши результаты показывают, что уровень барорефлекторных ответов соответствует уровню симпатического нервного контроля надпочечников и не претерпевает существенных изменений при старении. Это согласуется с данными Wei и соавт. [16], которые не установили достоверного влияния старения на барорефлекс каротидного синуса интактных старых крыс и поэтому предположили, что барорефлекторная функция сохраняется в старости.

Пощипывание кожи нижней области грудины у молодых, взрослых и старых крыс в течение 20 с вызывало рефлекторное усиление импульсной активности симпатического нерва надпочечника, продолжающееся в течение нескольких минут после прекращения стимуляции (рис. 4, а, в). Поглаживание того же кожного участка вызывало рефлекторное снижение импульсной активности нерва, которое длилось столько, сколько продолжался период стимуляции (рис. 4, б, г).

У взрослых и старых крыс рефлекторное усиление импульсной активности нерва на пощипывание составляло соответственно $124\% \pm 4\%$ и $114\% \pm 4\%$ контрольного значения, т. е. у старых крыс импульсная активность нерва была несколько ниже (но недостоверно), чем у взрослых. Наряду с этим, значения показателей снижения рефлекторных ответов на поглаживание у взрослых и старых крыс были достаточно близки, составляя соответственно $86\% \pm 4\%$ и $87\% \pm 3\%$ контрольных, и достоверно не различались (рис. 4, б).

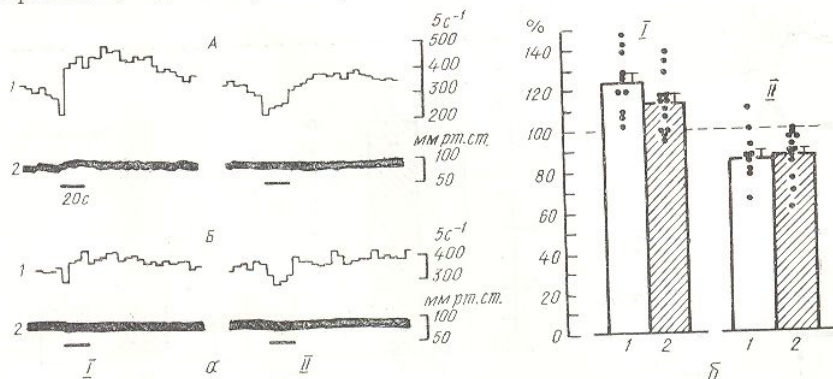


Рис. 4. Примеры зарегистрированных реакций симпатического нерва надпочечников (а) на пощипывание (I) и поглаживание (II) кожи нижней области грудной клетки в течение 20 с (обозначено горизонтальными линиями) у взрослых (А) и старых (Б) крыс (1 — суммарная активность при рефлекторных ответах симпатических нервов надпочечников, непрерывно подсчитываемая каждые 5 с; 2 — кровяное давление, мм рт. ст.) и суммарное значение рефлекторных ответов симпатических нервов (б) надпочечников на пощипывание (I) и поглаживание (II) кожи нижней грудной области в течение 20 с у взрослых (1) и старых (2) крыс, выраженное в процентах по отношению к базальной активности (точки представляют собой индивидуальные измерения; колонки и вертикальные верхние линии на их вершинах обозначают средние значения и стандартные погрешности по всем измерениям; статистически достоверных различий по критерию t Стьюдента между взрослыми и старыми крысами не обнаружено [7]).

Эти достаточно хорошо сохранившиеся симпатические рефлекторные реакции (тормозящие и возбуждающие), по-видимому, не объясняют возрастного повышения спонтанной активности симпатических нервов надпочечников. Такой феномен, очевидно, определяют иные неизвестные центральные механизмы.

A. Sato

SYMPATHOADRENAL MEDULLARY FUNCTIONS DURING AGING

Our recent studies on changes in sympathoadrenal medullary function with age in anesthetized Wistar rats were reviewed. Although secretion rates of adrenaline and noradrenaline from the adrenal gland under resting conditions varied among animals, they gradually increased after 300 days and reached a level 2-4 times higher at 800-900 days compared with that of 100 days. Spontaneous activity of a single sympathetic nerve fiber under resting conditions also increased during aging in a manner similar to the catecholamine secretion rates. Reflex responses of mass activity of adrenal sympathetic nerve fibers to stimulation of baroreceptor and cutaneous mechanoreceptors were compared in young adult (4 months old) and aged (26 months old) Wistar rats under strictly controlled conditions for anesthesia, respiration and body temperature. Under these conditions the reflex depression in response to baroreceptor stimulation and cutaneous brushing as well as reflex excitation in response to cutaneous pinching were quite well maintained in the aged rats.

Institute of Gerontology, Tokyo, Japan.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Araki T., Ito K., Kurosawa M. Activity and catecholamine. *Neuroscience*.— 1984.— 12.
2. Chiuheh C. C., Nespor S. A. Cortical responsiveness of 1.— P. 157—163.
3. Gribbin B., Pickering T. Sure on baroreflex sensitivity. *Scand.*— 1951.— 25 (Suppl).
4. Hokfelt B. Noradrenaline. *Scand.*— 1951.— 25 (Suppl).
5. Ito K., Sato A., Sato Y., adrenal sympathetic nerve 1986.— 69.— P. 263—268.
6. Kurosawa M., Sato A., S sympathetic nerve activity receptors in aged rats // *Ibid*.
7. Kvietnansky R., Jahnova their synthesizing enzyme and Develop.— 1987.— 7.
8. Lakatta E. G. Age-related mediated stress // *Fed. Pi*.
9. McCarty R. Age-related stress // *Gerontology*.— 19
10. Norris A. H., Schock N. sure responses to tilt P. 521—526.
11. Palmer G. J., Ziegler M. sure to stress increases
12. Rothbaum D. A., Shaw baroreceptor response of
13. Shock N. W. Energy me Nutrition in old age. P. Ed. by L. A. Carlson.—
14. Tuttle R. S. Age-related ne and associated chem P. 510—516.
15. Wallin B. G., Sundlof sympathetic muscle nerve 1981.— 111.— P. 69—73.
16. Wei J. Y., Mendelowitz lex function in adva P. R1047—R1051.
17. Ziegler M. G., Lake C. Nature (London).— 1976

Отдел физиологии Токийс. геронтологии, Япония

УДК 612.67.014:612.433.451:612.45

Е. Н. Горбань

Влияние блокаторов на АКТГ-стимуляцию надпочечников у взрослых крыс

Ведущая роль в механизме возрастного изменения Вазинулярной при этом

В последние годы ных механизмов секреции различных желез внутреннее сопряжение

© Е. Н. ГОРБАНЬ, 1990.

Физиол. журн., 1990, т. 36, № 5

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Araki T., Ito K., Kurosawa M., Sato A. Responses of adrenal sympathetic nerve activity and catecholamine secretion to cutaneous stimulation in anesthetized rats // Neuroscience.— 1984.— 12.— P. 289—299.
2. Chiueh C. C., Nespor S. M., Rapoport S. L. Cardiovascular, sympathetic and adrenal cortical responsiveness of aged Fischer-344 rats to stress // Neurobiol. Aging.— 1980.— 1.— P. 157—163.
3. Gribbin B., Pickering T. G., Sleight P., Peto R. Effect of age and high blood pressure on baroreflex sensitivity in man // Circ. Res.— 1971.— 29.— P. 424—431.
4. Hokfelt B. Noradrenaline and adrenaline in mammalian tissues // Acta Physiol. Scand.— 1951.— 25 (Suppl. 92).— P. 1—134.
5. Ito K., Sato A., Sato Y., Suzuki H. Increases in adrenal catecholamine secretion and adrenal sympathetic nerve unitary activities with aging in rats // Neurosci. Lett.— 1986.— 69.— P. 263—268.
6. Kurosawa M., Sato A., Sato Y., Suzuki H. Undiminished reflex responses of adrenal sympathetic nerve activity to stimulation of baroreceptors and cutaneous mechanoreceptors in aged rats // Ibid.— 1987.— 77.— P. 193—198.
7. Kvetnansky R., Jahnova E., Torda T. et al. Changes of adrenal catecholamines and their synthesizing enzymes during ontogenesis and aging in rats // Mech. Ageing and Develop.— 1987.— 7.— P. 209—216.
8. Lakatta E. G. Age-related alterations in the cardiovascular response to adrenergic mediated stress // Fed. Proc. Amer. Soc. and Exp. Biol.— 1980.— 39.— P. 3173—3177.
9. McCarty R. Age-related alterations in sympathetic-adrenal-medullary responses to stress // Gerontology.— 1986.— 32.— P. 172—183.
10. Norris A. H., Schock N. W., Yiengst M. J. Age changes in heart rate and blood pressure responses to tilting and standardized exercise // Circulation.— 1953.— 8.— P. 521—526.
11. Palmer G. J., Ziegler M. G., Lake C. R. Response of norepinephrine and blood pressure to stress increases with age // J. Gerontol.— 1978.— 29.— P. 482—487.
12. Rothbaum D. A., Shaw D. J., Angell C. S., Shock N. W. Age differences in the baroreceptor response of rats // Ibid.— 1974.— 29.— P. 488—492.
13. Shock N. W. Energy metabolism, caloric intake and physical activity of the aging // Nutrition in old age. Proc. 10th Symposium of the Swedish Nutrition Foundation / Ed. by L. A. Carlson.— Stockholm: Almqvist & Wiksells, 1972.— P. 12—23.
14. Tuttle R. S. Age-related changes in the sensitivity of rat aortic strips to norepinephrine and associated chemical and structural alterations // J. Gerontol.— 1966.— 21.— P. 510—516.
15. Wallin B. G., Sundlof G., Eriksson B.-M. et al. Plasma noradrenaline correlates to sympathetic muscle nerve activity in normotensive man // Acta Physiol. scand.— 1981.— 111.— P. 69—73.
16. Wei J. Y., Mendelowitz D., Anastasi N., Rowe J. W. Maintenance of carotid baroreflex function in advanced age in the rat // Amer. J. Physiol.— 1986.— 250.— P. R1047—R1051.
17. Ziegler M. G., Lake C. R., Kopin I. J. Plasma noradrenaline increases with age // Nature (London).— 1976.— 261.— P. 333—335.

Отдел физиологии Токийс. ин-та геронтологии, Япония

Материал поступил в редакцию 30.02.90

УДК 612.67.014:612.433.451:612.453.018

Е. Н. Горбань

Влияние блокаторов Ca^{2+} - и K^{+} -каналов на АКТИВ-стимулированный стероидогенез изолированных надпочечников взрослых и старых крыс

Ведущая роль в механизмах старения целостного организма отводится возрастным изменениям нейрогуморальной регуляции функций [7]. Важную роль при этом играет эндокринная система [5, 7].

В последние годы резко возрос интерес к изучению роли мембранных механизмов секреции в проявлениях функциональной активности различных желез внутренней секреции. Причиной этого явилось установление сопряженности секреторного ответа эндокринных клеток с

© Е. Н. ГОРБАНЬ, 1990.

изменениями различных биофизических свойств их плазматических мембран (ПМ), в частности, с изменениями поляризации ПМ и электрической активности на различных этапах секреторного ответа [2, 10, 12], изменениями механизмов активного и пассивного чрезмембранного транспорта ионов [1, 13], выявление нескольких типов каналов (потенциалзависимых, потенциалнезависимых) к различным ионам в ПМ эндокринных клеток [12].

Однако возрастные изменения мембранных механизмов секреции эндокринных клеток до настоящего времени практически не изучены. Имеющиеся единичные работы, выполненные на неэндокринных клетках, в частности, нейронах моллюсков, свидетельствуют о существенной роли изменений проводимости ионселективных каналов ПМ в возрастных изменениях их функциональной активности [8]. Это позволяет предполагать, что в возрастных изменениях секреторной активности эндокринных желез существенную роль могут играть развивающиеся при старении изменения биофизических свойств ПМ их секреторных клеток, в частности, механизмов чрезмембранного транспорта ионов.

Цель работы — изучение влияния блокаторов Ca^{2+} - и K^{+} -каналов ПМ на реактивность изолированных надпочечников (ИН) взрослых и старых крыс на действие кортикотропина (АКТГ).

Методика

Эксперименты проведены на ИН взрослых (6—7 мес) и старых (26—28 мес) крыс-самцов линии Вистар. Каждый ИН разрезали пополам, четыре половинки двух ИН одного животного фиксировали на пластмассовой подложке и помещали в стеклянный сосуд, содержащий 5 мл раствора Кребса—Хенселейта, сбалансированного для инкубации ИН [9]. Инкубацию проводили при температуре 37°C в течение 4 ч. Среду аэрировали смесью: 95 % O_2 и 5 % CO_2 . Использовали метод непроточной инкубации. Среду меняли каждые 10 мин и во всех порциях среды определяли содержание 11-оксикетостероидов (11-ОКС) флюориметрическим методом [6].

Исследовано влияние блокатора Ca^{2+} -каналов верапамила (0,2 ммоль/л) и блокатора K^{+} -каналов 2-аминопиридина (1,0; 5,0 и 10,0 ммоль/л) на реактивность ИН взрослых и старых крыс на АКТГ. В контрольных опытах ИН на протяжении 1-го часа инкубировали в растворе Кребса—Хенселейта без добавления АКТГ. На 2-м часу инкубации среда содержала АКТГ в концентрации 10 Ед/л. На 3-м и 4-м часах инкубацию вновь проводили в растворе, не содержащем АКТГ. В опытах с использованием ионселективных блокаторов ИН инкубировали на протяжении первых 40 мин в растворе Кребса—Хенселейта без каких-либо добавок, на 40—60-й минуте инкубации в среду добавляли блокатор, на протяжении 2-го часа среда содержала АКТГ и блокатор в вышеуказанных концентрациях, а на 3-м и 4-м часах инкубацию продолжали в растворе, не содержащем ни АКТГ, ни блокатора.

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлены результаты, отражающие особенности динамики базальной и АКТГ-стимулированной секреции 11-ОКС ИН взрослых и старых крыс в контроле, и сведения о почасовой секреции 11-ОКС этими ИН за 4 ч инкубации.

Динамика секреции 11-ОКС ИН взрослых и старых крыс на протяжении 4 ч инкубации сходна: в первые 10-минутные интервалы инкубации темп секреции постепенно снижается, а к 40—60-й минуте наблюдается его относительная стабилизация. Введение на 2-м часу в инкубационную среду тропного гормона приводит к активации стероидогенеза. При этом темп секреции 11-ОКС нарастает в течение первых 30 мин действия АКТГ, в последующие 30 мин поддерживается на высоком уровне, а после удаления АКТГ из инкубационной среды наблюдается постепенное снижение темпа стероидогенеза до исходного. Максимальное повышение темпа секреции 11-ОКС ИН взрослых животных под влиянием АКТГ было, примерно, 8—9-кратным по сравнению с исходным значением (т. е. темпом секреции, характерным для

последнего 10-минутного интервала инкубации в среде АКТГ), а ИН с секреторной активностью 11-ОКС ИН была одинаковой. Введение в среду АКТГ приводило к существенному повышению темпа АКТГ-стимулированной секреции 11-ОКС ИН животных групп и соответствующим значениям показателей индогенеза (рис. 2, а).

Ионы Ca^{2+} играют важную роль в механизмах активации на адренкортикостероидной секреции. Введение в среду АКТГ приводило к существенному повышению темпа АКТГ-стимулированной секреции 11-ОКС ИН животных групп и соответствующим значениям показателей индогенеза (рис. 2, а).

Ионы Ca^{2+} играют важную роль в механизмах активации на адренкортикостероидной секреции. Введение в среду АКТГ приводило к существенному повышению темпа АКТГ-стимулированной секреции 11-ОКС ИН животных групп и соответствующим значениям показателей индогенеза (рис. 2, а).

Рис. 1. Влияние АКТГ на секрецию 11-ОКС ИН взрослых и старых (II) крыс-самцов.

а — динамика секреции 11-ОКС ИН взрослых и старых крыс-самцов в контроле и в присутствии АКТГ; б — динамика секреции 11-ОКС ИН взрослых и старых крыс-самцов в контроле и в присутствии АКТГ и блокатора Ca^{2+} -каналов верапамила.

дулирующее влияние на на этапе образования доплазматической сетки. Введение в среду АКТГ приводит к существенному повышению темпа АКТГ-стимулированной секреции 11-ОКС ИН животных групп и соответствующим значениям показателей индогенеза (рис. 2, а).

Поскольку в состав которой входит ионы Ca^{2+} , введение в среду АКТГ приводит к существенному повышению темпа АКТГ-стимулированной секреции 11-ОКС ИН животных групп и соответствующим значениям показателей индогенеза (рис. 2, а).

На основании результатов экспериментов [4, 11] выявлено, что введение в среду АКТГ приводит к существенному повышению темпа АКТГ-стимулированной секреции 11-ОКС ИН животных групп и соответствующим значениям показателей индогенеза (рис. 2, а).

последнего 10-минутного интервала инкубации перед добавлением в среду АКТГ), а ИН старых крыс, — примерно, 6-кратным. Суммарная секреция 11-ОКС ИН взрослых и старых животных за 1-й час инкубации была одинаковой, а показатели почасовой АКТГ-стимулированной секреции 11-ОКС ИН взрослых крыс за 2-й, 3-й и 4-й часы инкубации — достоверно выше, чем ИН старых крыс.

Введение в среду инкубации ИН блокатора Ca^{2+} -каналов верапамила приводило к существенному, примерно, двухкратному, снижению темпа АКТГ-стимулированной секреции 11-ОКС ИН животных обеих возрастных групп и соответствующему снижению значений показателей почасового стероидогенеза (рис. 2, а).

Ионы Са играют важную роль в механизмах активирующего влияния АКТГ на адренокортикосты (АКЦ). Наличие внеклеточного Ca^{2+} является обязательным условием для связывания АКТГ со специфическими рецепторами ПМ АКЦ [14]. Кроме того, ионы Са играют существенную роль на различных этапах стероидогенеза: участвуют в активации аденлатциклазной системы, оказывают мо-

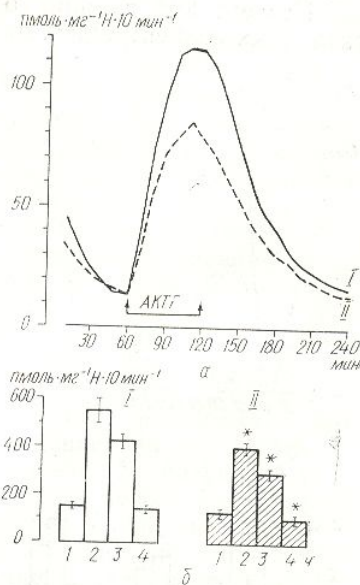


Рис. 1. Влияние АКТГ на секрецию 11-ОКС изолированным надпочечником (Н) взрослых (I) и старых (II) крыс-самцов:

а — динамика секреции 11-ОКС (стрелками обозначен период инкубации Н с АКТГ — 10 Ед/л); б — почасовая секреция 11-ОКС за 4 ч инкубации (звездочкой обозначена достоверность возрастных различий).

дулирующее влияние на реакции отщепления боковой цепи холестерина на этапе образования прегненолона в митохондриях, играют определенную роль в транспорте прегненолона из цитозоля в элементы эндоплазматической сети и в дальнейших метаболических превращениях прегненолона в системе эндоплазматической сети, завершающихся формированием молекул кортикостероидов [15, 16].

Поскольку в наших экспериментах ИН инкубировали в среде, в состав которой входили ионы Са (в виде CaCl_2 , 2,56 ммоль/л), действие блокатора Ca^{2+} -каналов не затрагивало этапа взаимодействия АКТГ со специфическими рецепторами ПМ АКЦ. Однако, так как одним из мембранотропных эффектов АКТГ, кроме его связывания с рецепторами ПМ АКЦ, является повышение проницаемости ПМ АКЦ для ионов Са, при наличии в среде инкубации блокатора Ca^{2+} -каналов верапамила указанный компонент мембранотропного действия АКТГ ослаблялся или угнетался. Это обстоятельство могло внести существенный вклад в наблюдавшееся в наших экспериментах снижение реактивности ИН на действие АКТГ.

На основании результатов исследований механизма действия верапамила [4, 11] высказано предположение, что из-за стабилизации липидного бислоя клеточных мембран верапамил, возможно, оказывает влияние и на внутриклеточные механизмы активного транспорта ионов Са и их внутриклеточную компартментализацию. Поскольку ионы Са играют важную роль на различных этапах стероидогенеза, снижение их поступления в АКЦ, обусловленное действием верапамила, а также возможные эффекты блокатора, затрагивающие внутриклеточный Ca^{2+} -гомеостаз, несомненно, должны были бы сказаться на характере АКТГ-стимулированного стероидогенеза. Вероятно, именно эти обстоятельства и явились причиной снижения реактивности ИН на действие тропного гормона после обработки их верапамилем.

Полученные результаты свидетельствуют, с одной стороны, о том, что наличие нормальной проницаемости ПМ АКЦ для ионов Са является обязательным условием для реализации стероидогенного эффекта АКТГ, а с другой, — примерно, одинаковый характер снижения реактивности ИН взрослых и старых крыс на АКТГ на фоне блокады Са²⁺-каналов ПМ АКЦ, вероятно, является доказательством того, что при старении не происходят существенные изменения проницаемости ПМ АКЦ для ионов Са.

Исследовано влияние блокатора К⁺-каналов 2-амилопиридина в различных концентрациях на реактивность ИН взрослых и старых крыс

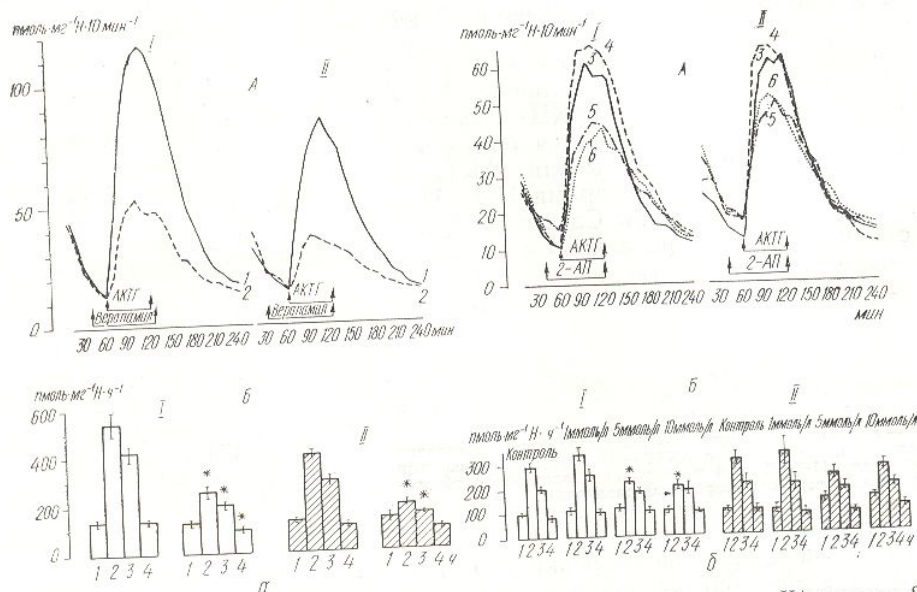


Рис. 2. Влияние блокатора Са²⁺-каналов верапамила (а) и блокатора К⁺-каналов 2-амилопиридина (2-АП) на АКТГ-стимулированную секрецию 11-ОКС изолированным надпочечником (Н) взрослых (I) и старых (II) крыс-самцов: А — динамика секреции 11-ОКС (1, 3 — контроль; 2 — АКТГ; 4 — АКТГ и верапамил — 0,2 ммоль/л; 5 — 2-АП, 1 ммоль/л; 6 — 2-АП, 10 ммоль/л; стрелками обозначены периоды инкубации Н с АКТГ, верапамилом и 2-АП); Б — почасовая секреция 11-ОКС за 4 ч инкубации (звездочкой обозначена достоверность различия по сравнению с контролем).

на АКТГ. В концентрации 1,0 ммоль/л 2-амилопиридин не оказывал существенного влияния на реактивность ИН животных обеих возрастных групп на действие АКТГ (рис. 2, б). В более высоких концентрациях (5,0 и 10,0 ммоль/л) 2-амилопиридин оказывал неодинаковое влияние на АКТГ-стимулированный стероидогенез ИН взрослых и старых крыс. Как свидетельствуют представленные на рис. 2, б результаты, на фоне повышения концентрации 2-амилопиридина в среде инкубации до 5,0 и 10,0 ммоль/л, реакция ИН взрослых крыс на действие АКТГ достоверно снижалась по сравнению с контролем, тогда как изменений реактивности ИН старых животных на действие АКТГ при этом не наблюдалось.

Блокаторы К⁺-каналов из класса амилопиридинов уменьшают входящий и выходящий калиевые токи [3]. В наших экспериментах с использованием 2-амилопиридина концентрация ионов К в инкубационной среде оставалась стандартной и составляла 4,7 ммоль/л. Учитывая эти обстоятельства, на основании опытов с использованием 2-амилопиридина можно высказать два предположения. Первое из них состоит в том, что ослабление реакции ИН взрослых животных на АКТГ при повышении концентрации блокатора К⁺-каналов в среде инкубации до 5,0 и 10,0 ммоль/л, несомненно, свидетельствует о том, что для реализации внутриклеточных эффектов АКТГ необходимо на-

личие нормальной проницаемости мембраны для ионов К, что характерно для нормальной динамики ионного транспорта, проницаемости по сравнению со взрослыми животными.

Можно предположить, что ПМ АКЦ для ионов К является пассивным током, создавая условия для более высокой концентрации ионов К, что именно повышение концентрации ионов К приводит к тому, что реакция гормона понижена по сравнению с контролем. Возрастные особенности в нейронах и гепатоцитах [17], в которых происходит повышение на функции белка в ней.

Кроме того, в случае АКЦ для ионов К мембрана более высоких значений включения механизмов ингибитором Na-насоса, близких к 0 °С, но такие результаты АКЦ пучковой зоны обработки (инкубация при температуре около 0 °С в термостатах по изучению спорта ПМ АКЦ ИН).

Вместе с тем, с учетом влияния блокатора К⁺-каналов 2-амилопиридина на старых животных на и другую причину. Мы определили изменения в реактивности ИН с изменением концентрации 2-амилопиридина в среде инкубации кулы блокатора на К⁺-каналах.

В целом, предположив, о том, что блокатор АКЦ играет существенную роль, о том, что мембрана АКЦ при старении животных изменений не наблюдается.

Е. Н. Gorban

EFFECTS OF Ca²⁺ AND K⁺ CHANNEL BLOCKERS ON ACTH-STIMULATED SECRETION OF 11-OCS IN ISOLATED ADRENAL GLANDS OF

Ca²⁺ channel blocker verapamil (1.0 mM; 5.0 mM and 10.0 mM) and K⁺ channel blocker 2-aminopyridine (5.0 mM and 10.0 mM) on ACTH-stimulated steroidogenesis in isolated (26-28 months) male rat adrenal glands. 2-aminopyridine, 5.0 mM and 10.0 mM caused a 2-fold decrease in ACTH-stimulated secretion of 11-OCS in adult and old rats.

Физиол. журн., 1990, т. 36, № 5

личие нормальной проницаемости ПМ АКЦ (а, возможно, и других внутриклеточных мембранных структур) для ионов К, что обеспечивает характерную для интактных АКЦ ИН взрослых животных чрезмембранную динамику ионов К. Второе предположение состоит в том, что, возможно, проницаемость ПМ АКЦ старых крыс для ионов К снижена по сравнению со взрослыми животными.

Можно предположить, что такое возрастное снижение проницаемости ПМ АКЦ для ионов К должно было бы приводить к уменьшению пассивного тока ионов К из клетки наружу, и, как следствие этого, создавать условия для поддержания внутри АКЦ старых животных более высокой концентрации этих ионов, чем у взрослых. Возможно, что именно повышение содержания внутриклеточного K^+ в АКЦ приводит к тому, что реакция ИН старых животных на действие тропного гормона понижена по сравнению со взрослыми. В пользу такого предположения можно привести результаты цикла работ по исследованию возрастных особенностей изменения содержания внутриклеточного K^+ в нейронах и гепатоцитах, обобщенных в мембранной гипотезе старения [17], в которых продемонстрировано возрастное повышение внутриклеточной концентрации ионов К и ингибирующее влияние этого повышения на функциональную активность генома клетки и биосинтез белка в ней.

Кроме того, в случае снижения в старости проницаемости ПМ АКЦ для ионов К могли бы создаваться условия для поддержания более высоких значений мембранного потенциала АКЦ в условиях выключения механизмов активного чрезмембранного транспорта ионов ингибитором Na-насоса оубаином или охлаждением тканей до температур, близких к 0°C , обратимо подавляющим Na^+ , K^+ -АТФазу. Именно такие результаты — развитие менее глубокой деполяризации ПМ АКЦ пучковой зоны ИН старых животных под влиянием холодовой обработки (инкубация ИН в растворе Кребса—Хенселейта при температуре около 0°C в течение 1 ч) были получены нами ранее в экспериментах по изучению возрастных особенностей электрогенного транспорта ПМ АКЦ ИН [1].

Вместе с тем, следует отметить, что отсутствие ингибиторного влияния блокатора K^+ -каналов 2-аминопиридина на реактивность ИН старых животных на действие тропного гормона *in vitro* может иметь и другую причину. Можно предположить, что в старости развиваются определенные изменения свойств K^+ -каналов ПМ АКЦ, сопровождающиеся изменением их сродства к специфическому ингибиторному влиянию 2-аминопиридина и препятствующие, например, «посадке» молекулы блокатора на канал и последующей реализации его ингибиторных эффектов.

В целом, представленные в работе результаты свидетельствуют, во-первых, о том, что транспорт ионов через Ca^{2+} - и K^+ -каналы мембран АКЦ играет существенную роль в регуляции стероидогенеза; во-вторых, о том, что возможное изменение проводимости K^+ -каналов мембран АКЦ при старении могло бы являться одной из причин возрастных изменений реактивности ИН на действие тропного гормона.

Е. N. Gorban

EFFECTS OF Ca^{2+} AND K^+ CHANNEL BLOCKERS ON ACTH-STIMULATED STEROIDOGENESIS IN ISOLATED ADRENAL GLANDS OF ADULT AND OLD RATS

Ca^{2+} channel blocker verapamil (0.2 mM) and K^+ channel blocker 2-aminopyridine (1.0 mM; 5.0 mM and 10.0 mM) have been studied for their effect on ACTH-stimulated steroidogenesis in isolated adrenal glands (IAG) of the adult (6-7 months) and old (26-28 months) male rats. The administration of verapamil produced a similar, about 2-fold decrease in ACTH-stimulated secretion of 11-OCS in the IAG of both animal groups. 2-aminopyridine, administered in several concentrations, produced no effect

whatsoever on ACTH-stimulated secretion of 11-OCS in the IAG of the old rats. However, when administered in concentrations of 5.0 mM and 10.0 mM this agent decreased significantly the ACTH-stimulated steroidogenesis in the IAG of the adult animals. It has been suggested that plasma membrane permeability of *z. fasciculata* adrenocorticytes to K^+ ions decreases with age.

Institute of Gerontology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Горбань Е. Н. Возрастные особенности температурной зависимости процесса реполяризации мембраны клеток коры надпочечников // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1978.— 86, № 12.— С. 651—653.
2. Горбань Е. Н. Возрастные особенности влияния тиротропного гормона на величину мембранного потенциала клеток щитовидной железы // Физиол. журн.— 1979.— 25, № 4.— С. 395—401.
3. Магура Н. С. Проблемы электрической возбудимости нейрональной мембраны.— Киев: Наук. думка.— 1981.— 208 с.
4. Мхитарян Л. С., Рожкова З. З. Некоторые мембранные механизмы защитного действия верапамила на миокард при ишемическом повреждении // Материалы III симпозиума «Метаболизм, структура и функция сердечной клетки».— Баку.— 1986.— С. 177.
5. Никитин В. Н. Возрастные аспекты эндокринной ситуации организма // Усп. совр. биологии.— 1977.— 84, вып. 2(5).— С. 257—271.
6. Резников А. Г. Методы определения гормонов.— Киев: Наук. думка.— 1980.— 400 с.
7. Фролькис В. В. Старение. Нейрогуморальные механизмы.— Киев: Наук. думка.— 1981.— 320 с.
8. Frolkis V. V., Martynenko O. A., Timchenko A. N. Age-related changes in the function of somatic membrane potassium channels of neurons in the mollusc *Lymnaea stagnalis* // Mech. Age. Develop.— 1989.— 47, N 1.— P. 47—54.
9. Matthews E. K., Saffran M. Steroid production and membrane potential measurement in cells of the adrenal cortex // J. Physiol. (London).— 1967.— 189, N 1.— P. 149—161.
10. Meissner H. P. Electrical characteristics of the beta-cells in pancreatic islets // J. Physiol. (France).— 1976.— 72, N 6.— P. 757—767.
11. Nayler W. G., Poolewilson P. Calcium antagonists-definition and mode of action // Basic. Res. Cardiol.— 1981.— 76, N 1.— P. 1—15.
12. Ozawa S., Sand O. Electrophysiology of excitable endocrine cells // Physiol. Rev.— 1986.— 66, N 4.— P. 887—952.
13. Payet M. D., Benabderrazik M., Gallo-Payet N. Excitation-secretion coupling: ionic currents in glomerulosa cells: effects of adrenocorticotropin and K^+ channel blockers // Endocrinology.— 1987.— 121, N 3.— P. 875—882.
14. Rubin R. P., Carchman R. A., Jaanus S. D. Role of calcium and cyclic-AMP in action of adrenocorticotrophin // Nature.— 1972.— 240, N 100.— P. 150—155.
15. Schiebinger R. J., Braley L. M., Menachery A., Williams G. H. Calcium, a «third messenger» of cAMP-stimulated adrenal steroid secretion // Amer. J. Physiol.— 1985.— 248, N 1. Pt. 1.— E89—E94.
16. Simpson E., Williams-Smith D. Effect of calcium (ion) uptake by rat adrenal mitochondria on pregnenolone formation and spectral properties of cytochrome P-450 // Biochim. et biophys. acta.— 1975.— 404.— P. 302—306.
17. Zs.-Nagy I. A membrane hypothesis of ageing // J. Theor. Biol.— 1978.— 75, N 2.— P. 189—195.

Ин-т геронтологии АМН СССР,
Киев

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

УДК 618.19—006.6—07—039.11

О. В. Коркушко

Изменения бета-адренергической регуляции сердечно-сосудистой системы при старении

Выполненные ранее исследования показали, что при старении происходят значительные изменения во всех звеньях адренергической регуля-

© О. В. КОРКУШКО, 1990.

ции: нервных центра нейрона, симпатическ [7, 8, 12, 15]. При ст торов, повышается чу ность сердечно-сосуди [9, 13, 16]. Однако э на животных, а изме ции сердечно-сосудист недостаточно. В то ж адренергической регу для выяснения механиз

Основная цель на бета-адренергической личных ее уровнях (мов до органа-эффект ний физического стре нергической стимуляц

Методика

Совместно с сотрудниками Нощенко, Фролькис, Бель расте 20—34, 60—74 и 75 ческой регуляции исполь блокатором анаприлином (сублингвально).

Изменения насосной, бета-адренергических преп кардиографическое исслед «Smith Kline Instrument» эхокардиограмм осуществ с дигитайзерным введение (минутный объем кровообра чения волокон миокарда в первую треть фазы сист слабленния — ПСР) функции

Состояние вегетативн бета-адренергических преп ных ритмограмм (125 пос. Об интенсивности парасим сердечного ритма и ее отн граммы. Об активности с персии медленных волн с сительному вкладу (%) в

Электрическую актив да от темных и затыло фалографе фирмы «Nipon лиз с выделением Δ -, Θ -, характеристик выделяли исследуемого диапазона частоту каждого ритма.

С целью моделиров ступенчато возрастающую мента достижения субман ного возраста (200—возз графических признаков е после окончания нагрузки мощью тетраполярной рес фикации Пушкаря и соав на автоматическом газова

ции: нервных центрах, симпатических терминалях постганглионарного нейрона, симпатических ганглиях, мозговом веществе надпочечников [7, 8, 12, 15]. При старении нарушается синтез и метаболизм медиаторов, повышается чувствительность и снижается реакционная способность сердечно-сосудистой системы на введение адреностимуляторов [9, 13, 16]. Однако эти данные получены в основном в эксперименте на животных, а изменения бета-адренергических механизмов регуляции сердечно-сосудистой системы у пожилых и старых людей изучены недостаточно. В то же время анализ возрастных особенностей бета-адренергической регуляции кровообращения имеет важное значение для выяснения механизмов старения человека.

Основная цель нашей работы — определить возрастные изменения бета-адренергической регуляции сердечно-сосудистой системы на различных ее уровнях (от корково-подкорковых регуляторных механизмов до органа-эффектора) в условиях покоя и моделирования состояний физического стресса, бета-адренергической блокады и бета-адренергической стимуляции.

Методика

Совместно с сотрудниками Института геронтологии АМН СССР (Ярошенко, Шатило, Нощенко, Фролькис, Белый) обследовано 40 практически здоровых людей в возрасте 20—34, 60—74 и 75—89 лет. Для оценки возрастных изменений бета-адренергической регуляции использовали однократные фармакологические пробы с бета-адреноблокатором анаприлином (40 мг внутрь) и бета-адреностимулятором изадринном (10 мг сублингвально).

Изменения насосной, инотропной и диастолической функций сердца под влиянием бета-адренергических препаратов изучали с помощью метода эхокардиографии. Эхокардиографическое исследование проводили на эхокардиографе «Ekosector-1» фирмы «Smith Kline Instrument» (США) по общепринятой методике в М-режиме [5]. Расчет эхокардиограмм осуществляли на графоаналитическом компьютере «Numonics» (США) с дигитайзерным введением информации [2]. Вычисляли также показатели насосной (минутный объем кровообращения — МОК), инотропной (скорость циркуляторного укорочения волокон миокарда — vcf , нормализованную объемную скорость изгнания крови в первую треть фазы систолы — НОСК 1/3 И) и диастолической (пик скорости расслабления — ПСР) функций сердца.

Состояние вегетативной регуляции сердечной деятельности до и после приема бета-адренергических препаратов изучали, используя спектральный анализ стационарных ритмограмм (125 последовательных R—R-интервалов ЭКГ) на ЭВМ ЕС 1033 [1]. Об интенсивности парасимпатических влияний судили по дисперсии дыхательных волн сердечного ритма и ее относительному вкладу (%) в общую дисперсию спектра ритмограммы. Об активности симпатического звена вегетативной регуляции судили по дисперсии медленных волн сердечного ритма 1-го и 2-го порядков, а также по их относительному вкладу (%) в общую дисперсию спектра [4].

Электрическую активность мозга регистрировали с помощью биполярного метода от теменных и затылочных отведений правого и левого полушарий на электроэнцефалографе фирмы «Nihon Kogden» (Япония). Проводили частотно-интегративный анализ с выделением Δ -, Θ -, α -, β_1 - β_2 -диапазонов. При обработке частотно-интегративных характеристик выделяли следующие показатели: относительную мощность каждого исследуемого диапазона ритмов (% общей мощности ритмов в данном полушарии), частоту каждого ритма.

С целью моделирования условий физического стресса применяли непрерывную ступенчато возрастающую нагрузку на велоэргометре. Нагрузку продолжали до момента достижения субмаксимальной частоты сердечных сокращений (ЧСС) для данного возраста (200 — возраст) при условии отсутствия клинических и электрокардиографических признаков ее неадекватности. В исходном состоянии, в первые секунды после окончания нагрузки и в восстановительный период регистрировали МОК с помощью тетраполярной реографии на аппарате РПГ 2-02 по методике Kubicek в модификации Пушкаря и соавт. [6]. Показатели внешнего дыхания и газообмена изучали на автоматическом газовом анализаторе «Оксикон-4» (фирма «Minhardt», Нидерланды).

При изучении влияния бета-адренергической блокады на гормональное обеспечение физической нагрузки велоэргометрию проводили дважды. На первом этапе определяли исходную толерантность испытуемого к физической нагрузке. Забор венозной крови для определения содержания кортизола и АКТГ осуществляли в покое, на максимуме стандартной нагрузки (55 Вт) и на пике субмаксимальной нагрузки. На втором этапе велоэргометрию повторяли через 2 ч после приема 40 мг анаприлина. Забор венозной крови проводили перед нагрузкой, на пике стандартной нагрузки (55 Вт) и на пике субмаксимальной нагрузки. Содержание гормонов в плазме крови определяли радиоиммунологически наборами фирмы «Sea Sorin» (АКТГ) и Минским набором «Стерон-К-1» (кортизол).

Фармакокинетику анаприлина изучали методом жидкостной хроматографии [11]. Забор венозной крови для определения концентрации бета-адреноблокатора производили через 0,5, 1, 2, 3, 4, 6 и 10 ч после приема 40 мг анаприлина.

Результаты и их обсуждение

При старении изменяется ответная реакция вегетативной регуляции сердечно-сосудистой системы на бета-адренергическую блокаду и бета-адренергическую стимуляцию. С возрастом усиливается отрицательное влияние бета-адренергической блокады на интенсивность симпатических влияний на сердце (табл. 1), что может быть следствием повышения чувствительности бета-адренорецепторов к антагонистам в этот период [7, 9]. Наоборот, ответная реакция симпатического звена вегетативной регуляции сердца на бета-адренергическую стимуляцию с возрастом ослабляется (см. табл. 1), что, по-видимому, связано с возрастным уменьшением числа и снижением активности бета-адренорецепторов [10, 14].

Гемодинамическое и энергетическое обеспечение физической нагрузки у людей пожилого возраста в значительной мере определялось исходным состоянием адренергического звена нейрогуморальной регуляции. В случае преобладания в исходном состоянии тонуса симпатического отдела вегетативной нервной системы чрезмерная активация адренергических механизмов наблюдалась уже при нагрузках небольшой интенсивности, что обуславливало более выраженную реакцию гемодинамики у этих людей. Предельное напряжение регуляторных систем организма влекло за собой, в таком случае, уменьшение значений показателей физической работоспособности. Блокада бета-адренергических структур, наоборот, вызывала отчетливую экономию работы кислородтранспортных систем организма. При этом более выраженный эффект отмечался в группе людей пожилого возраста с высоким

Таблица 1. Периодическая структура сердечного ритма до и после приема анаприлина (А—40 мг внутрь) и изадрина (И—10 мг сублингвально) у людей разного возраста

Состояние человека	Относительный вклад дисперсии, %			
	медленных волн сердечного ритма 1-го и 2-го порядков		дыхательных волн сердечного ритма	
	А	И	А	
Исходное				
20—34 года	53,9±3,9	44,5±3,0	46,1±3,3	55,5±4,0
60—74 года	82,2±5,3	74,6±5,2	17,8±2,8	26,4±2,3
75—89 лет	79,0±3,9	72,0±4,1	21,0±4,5**	28,0±2,3
На пике действия препарата				
20—34 года	47,6±4,1	67,3±3,8***	52,4±3,5*	33,7±2,5**
60—74 года	62,9±5,1***	82,1±5,0*	37,8±2,8***	17,9±1,9**
75—89 лет	51,0±4,8***	80,2±4,3*	49,0±5,2***	19,8±2,1*

Примечание. Здесь и в табл. 2 достоверность различия значения показателя по сравнению с исходным: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

тонусом симпатической адренорецепторов при высокой нагрузке и кислородном дефиците. При отсутствии эффекта экзотических препаратов, был выражен мезотический физический эффект, что, несмотря на более выраженные признаки утом-

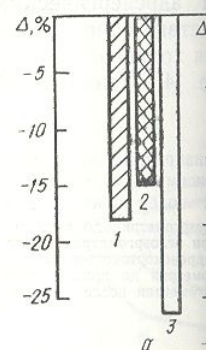


Рис. 1. Изменения частоты сердечного ритма (Δ%), под влиянием физической нагрузки (2), под влиянием усталости (3) и в группе молодых людей (1).

и истощением резервов организма по кислороду.

Блокада бета-адренергических структур приводит к снижению напряжения симпатического звена вегетативной нервной системы при физической нагрузке у пожилых людей. Это приводит к более выраженной реакции гипотензивно-напряженного перенапряжения из механизмов, обеспечивающих адренорецепторов при физической нагрузке.

Блокада и стимуляция бета-адренергических структур оказывают отчетливое влияние на ритм сердца. По результатам ЭЭГ, отмечался четкий синхронизм типа электрической активности реакции на нагрузку. У людей старшего типа реакции, характерной для β-ритмов и снижением активности через гематоэнцефалический барьер, влияющие на адренергическую область. У молодых анаприлина приводило к более выраженному эффекту. У старшего типа реакции, характерной для холинергических систем, существенно активизируются адренергические системы.

Анализ кардиальных показателей с возрастом увеличивалось влияние бета-адренергической блокады на ритм сердца.

тонусом симпатической нервной системы (рис. 1). У них блокада бета-адренорецепторов приводила к повышению толерантности к физической нагрузке и кислородсберегающему эффекту на уровне всего организма. При отсутствии чрезмерного напряжения регуляторных систем организма эффект экономии, свойственный блокаде бета-адренорецепторов, был выражен меньше. В этом случае увеличения значений показателей физической работоспособности не произошло в связи с тем, что, несмотря на более экономную работу системы гемодинамики, развились признаки утомления, связанные со снижением прироста МОК

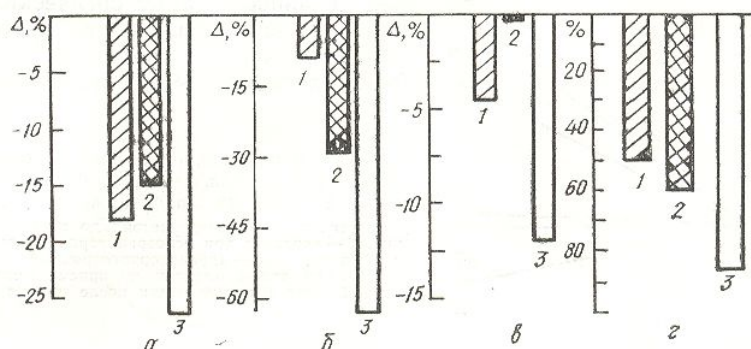


Рис. 1. Изменения частоты сердечных сокращений (а), уровня систолического артериального давления (б), потребления кислорода (в), относительного вклада дисперсий медленных волн сердечного ритма 1-го и 2-го порядков (г) под влиянием анаприлина (40 мг) на высоте стандартной нагрузки 75 Вт в зависимости от исходного тонуса симпатической нервной системы:

1 — в группе молодых людей, 2 — в группе пожилых людей с неизменившейся толерантностью к физической нагрузке под влиянием анаприлина, 3 — в группе пожилых людей с повысившейся толерантностью к физической нагрузке под влиянием анаприлина.

и истощением резерва, способного увеличить артериовенозную разность по кислороду.

Блокада бета-адренергических структур приводила также к подавлению напряжения системы гипофиз — кора надпочечников при физической нагрузке у пожилых людей (рис. 2). Это свидетельствует о том, что бета-адренергические механизмы играют важную роль в активации гипофизарно-надпочечниковой системы при стрессе. Снятие гормонального перенапряжения этой системы, по-видимому, является одним из механизмов, обеспечивающих эффект экономии блокады бета-адренорецепторов при физической нагрузке.

Блокада и стимуляция бета-адренергических структур оказывала отчетливое влияние и на функциональное состояние головного мозга. По результатам ЭЭГ, у молодых людей после приема анаприлина отмечался четкий синхронизирующий эффект. У пожилых — направленность типа электрических реакций в целом была аналогичной, однако выраженность реакции не была четкой и носила более асимметричный характер. У людей старческого возраста наблюдался качественно иной тип реакции, характеризующийся увеличением мощности и частоты α -, β -ритмов и снижением мощности θ -диапазона. Следовательно, проникая через гематоэнцефалический барьер, бета-адреноблокатор оказывал влияние на адренергические зоны гипоталамо-лимбико-мезэнцефальной области. У молодых людей бета-адреноблокирующее действие анаприлина приводило к опосредованному, вероятно, холиномиметическому эффекту. У старых людей в результате возрастного снижения активности холинергических тормозных механизмов проявлялся преимущественно активирующий эффект действия анаприлина на центральные адренергические системы мозга.

Анализ кардиальных эффектов действия анаприлина показал, что с возрастом увеличивается выраженность и продолжительность отрицательного влияния бета-адренергической блокады на насосную, ино-

тропную и диастолическую функции сердца; более продолжительным становится отрицательный хронотропный эффект адренергической блокады (табл. 2). Усиление отрицательного влияния блокады бета-адренорецепторов на инотропную функцию сердца обусловлено рядом причин, в частности возрастными морфофункциональными изменениями сердца, перестройкой адренергических регуляторных механизмов, изменениями фармакокинетики [3, 8, 15].

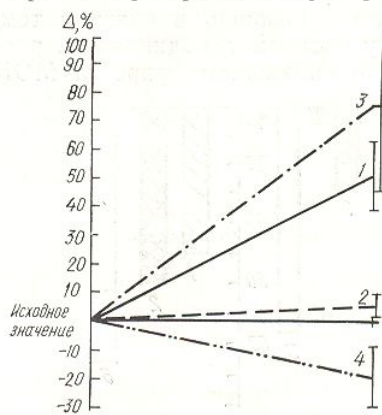


Рис. 2. Влияние анаприлина на гормональные сдвиги при субмаксимальной физической нагрузке у здоровых людей пожилого возраста: 1 — кортизол при велоэргометрии до приема анаприлина, 2 — кортизол при велоэргометрии после приема анаприлина, 3 — адренокортикотропный гормон (АКТГ) при велоэргометрии до приема анаприлина, 4 — АКТГ при велоэргометрии после приема анаприлина.

ложить, что выключение этих механизмов приведет к более значительному снижению инотропной и насосной функций сердца у людей старшего возраста. Действительно, у молодых людей, имевших в исходном состоянии, как правило, превалирование тонуса парасимпатической нервной системы, после приема бета-адреноблокатора отмечалось менее значительное ослабление симпатических влияний и менее выраженное снижение МОК. В группах пожилых и старых людей, у большинства из которых в исходном состоянии преобладала активность симпатического звена вегетативной регуляции, на пике действия анаприлина наблюдалось выраженное ослабление тонуса симпатической нервной системы, сопровождавшееся продолжительным и более значительным уменьшением значений показателей насосной, инотропной и диастолической функций сердца. Полученные результаты могут свидетельствовать о компенсаторном характере наблюдаемого в старости превалирования адренергических механизмов.

Наряду с этим, при старении уменьшается реакционная способность бета-адренергических механизмов, на что указывает возрастное

Таблица 2. Показатели насосной, инотропной и диастолической функции сердца до и на пике действия анаприлина (А—40 мг, И—20 мг) у здоровых людей разного возраста

Показатель	Препарат	Возрастная	
		20—34 лет	
		Исходное значение	Пик действия препарата
Минутный объем кровообращения л	А	5,5±0,3	4,2±0,2**
	И	5,1±0,3	6,9±0,3**
Скорость циркулярного укорочения волокон миокарда, с ⁻¹	А	1,28±0,02	1,10±0,02**
	И	1,24±0,02	1,56±0,03**
НОСК $\frac{1}{3}$ И, с ⁻¹	А	3,15±0,04	2,70±0,05**
	И	3,04±0,04	4,12±0,11**
Пик скорости расслабления, мм/с	А	138,5±5,1	129,3±5,0*
	И	122,0±3,5	163,0±6,9**
Частота сердечных сокращений, мин ⁻¹	А	70,0±2,3	55,9±2,2**
	И	63,4±2,1	70,9±1,8**

Примечание. НОСК $\frac{1}{3}$ И — нормализованная объемная скорость кровотока в первую треть фазы изгнания.

ослабление ответа сердца изадрина: у пожилых и старших людей. Желательное влияние бета-адренергических препаратов связано не только с влиянием на инотропную и диастолическую функции сердца, но и с перестройкой регуляторных механизмов фармакокинетики.

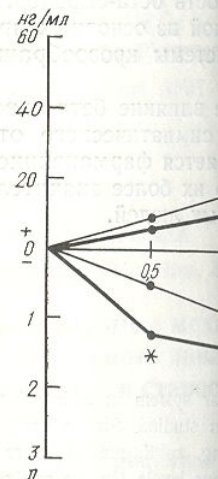


Рис. 3. Изменения содержания норадреналина (НА) в крови (нмг/мл) после приема внутрь: 1 — группа молодых людей, 2 — группа пожилых (P<0,05).

На примере анаприлина видно, что всасывание бета-адреноблокатора связано с чем-то его максимума после приема (рис. 3). У молодых людей в течение первых 2 часов после приема анаприлина более заметное снижение содержания норадреналина в крови. Это может свидетельствовать о более активном к бета-адреноблокаторам процессе в почках и печени.

Таблица 3. Показатели насосной, инотропной и диастолической функции сердца до и на пике действия анаприлина (А—40 мг, И—20 мг) у здоровых людей разного возраста

Показатель	Препарат	Возрастная	
		60—74 лет	
		Исходное значение	Пик действия препарата
Минутный объем кровообращения л	А	5,2±0,2	3,8±0,5**
	И	5,0±0,2	6,3±0,2**
Скорость циркулярного укорочения волокон миокарда, с ⁻¹	А	1,01±0,01	0,80±0,03
	И	1,00±0,02	1,22±0,03
НОСК $\frac{1}{3}$ И, с ⁻¹	А	2,08±0,03	1,54±0,03
	И	2,18±0,05	2,66±0,07
Пик скорости расслабления, мм/с	А	97,0±2,5	80,9±2,6*
	И	99,9±1,9	116,0±2,1
Частота сердечных сокращений, мин ⁻¹	А	65,9±2,5	53,7±2,0*
	И	63,3±1,3	70,9±2,1

Примечание. НОСК $\frac{1}{3}$ И — нормализованная объемная скорость кровотока в первую треть фазы изгнания.

ослабление ответа сердечно-сосудистой системы на однократный прием изадрина: у пожилых и старых людей менее значительным было положительное влияние бета-адреностимулятора на хронотропную, насосную, инотропную и диастолическую функции сердца (см. табл. 2).

Возрастные изменения фармакодинамики бета-адренергических препаратов связаны не только с морфофункциональными изменениями сердца и перестройкой нейрогуморальных механизмов, но и с особенностями фармакокинетики этих препаратов у людей старшего возраста.

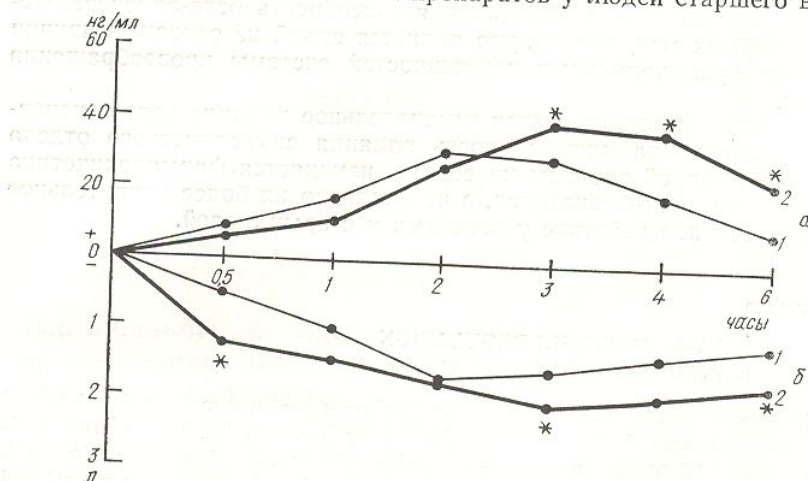


Рис. 3. Изменения содержания анаприлина (а) в плазме крови и минутного объема крови (б) после приема внутрь нагрузочной дозы бета-адреноблокатора (0,6 мг/кг): 1 — группа молодых людей, 2 — группа пожилых людей. Звездочкой обозначена достоверность различий ($P < 0,05$).

На примере анаприлина нами показано, что в старости замедляется всасывание бета-адреноблокатора из желудочно-кишечного тракта, в связи с чем его максимальная концентрация в крови бывает через 3 ч после приема (рис. 3). Однако уже небольшие концентрации анаприлина в течение первых 2 ч оказывали в группах людей старшего возраста более заметное кардиодепрессивное действие, чем у молодых. Это может свидетельствовать о повышении чувствительности сердца к бета-адреноблокаторам в старости. Возрастные изменения обменных процессов в почках и печени влияют на метаболизм и выведение ана-

пике действия анаприлина (А—40 мг внутрь) и изадрина (И—10 мг сублингвально) у людей

группа			
60—74 лет		75—89 лет	
Исходное значение	Пик действия препарата	Исходное значение	Пик действия препарата
5,2±0,2	3,8±0,5**	4,6±0,2	3,2±0,2**
5,0±0,2	6,3±0,2**	4,7±0,2	5,2±0,2**
1,01±0,01	0,80±0,03*	0,90±0,01	0,67±0,01***
1,00±0,02	1,22±0,02**	0,93±0,01	1,02±0,02*
2,08±0,03	1,54±0,02***	1,61±0,03	1,11±0,02***
2,18±0,05	2,66±0,07**	1,63±0,02	1,83±0,03**
97,0±2,5	80,9±2,6**	84,0±1,5	67,0±2,0**
99,9±1,9	116,0±2,1**	84,1±2,3	93,0±2,3*
65,9±2,5	53,7±2,0**	67,1±2,1	53,0±2,1**
63,3±1,3	70,9±2,1**	66,8±2,4	69,3±2,2*

фазы изгнания.

прилины из организма. Так, полученные нами результаты указывают на снижение темпа элиминации бета-адреноблокатора у людей старшего возраста, что, по-видимому, и обуславливает более продолжительное отрицательное влияние бета-адренергической блокады на основные функции сердца у этой категории людей.

Выводы

1. С возрастом снижается реакционная способность бета-адренергических регуляторных механизмов, что является одной из основных причин ограничения функциональных возможностей системы кровообращения в старости.

2. При старении усиливается отрицательное влияние бета-адренергической блокады на интенсивность влияния симпатического отдела вегетативной нервной системы на сердце, изменяется фармакокинетика бета-адренергических блокаторов, с чем связано их более значительное кардиодепрессивное действие у пожилых и старых людей.

O. V. Korkushko

CHANGES IN BETA-ADRENERGIC REGULATION OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM IN AGING

Changes in beta-adrenergic regulation of the cardiovascular system in aging involved 40 healthy subjects aged 20-34, 60-74 and 75-89 have been studied. Single drug loads with propranolol (0.6 mg/kg, per os) and isadrin (10 mg, sublingually) were used. With aging, the beta-adrenergic regulation of heart at various levels (in the central and autonomic vegetative nervous system, the ACTH-cortisol system) changes. The negative effect of beta-adrenergic blockade on the cardiovascular system enhances, that is a result of a more significant suppression of the sympathetic effects on the heart and peculiarities of the propranolol pharmacokinetics in old age. The reactivity of beta-adrenergic mechanisms in response to their stimulation decreases as well. Blockade of the beta-adrenoreceptors produces a distinct saving effect on the performance of the cardio-respiratory system under conditions of physical loading, that is due to a suppression of sympathetic hyperactivity and elimination of excess strain in the ACTH-cortisol system at the peak submaximal physical loading.

Institute of Gerontology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ сердечного ритма / Под ред. Д. Жемайте, Л. Телькснис. — Вильнюс: Моклас, 1982. — 130 с.
2. Атьков О. Ю., Беленков Ю. Н., Затушевский И. Ф. Компьютерный анализ эхокардиограмм у больных с различными видами нарушения функции левого желудочка // Терап. архив. — 1979. — № 5. — С. 27—34.
3. Коркушко О. В. Сердечно-сосудистая система и возраст. — М.: Медицина, 1983. — 178 с.
4. Коркушко О. В., Шатило В. Б., Бутенко А. Г. Возрастные изменения вегетативной регуляции сердечного ритма у здоровых пожилых и старых людей // Физиол. журн. — 1988. — 34, № 1. — С. 12—17.
5. Мухарьямов Н. М., Беленков Ю. Н. Ультразвуковая диагностика в кардиологии. — М.: Медицина, 1981. — 160 с.
6. Пушкарь Ю. Т., Большов В. М., Елизаров Н. А. и др. Определение сердечного выброса методом тетраполярной грудной реографии и его метрологические возможности // Кардиология. — 1977. — № 7. — С. 85—90.
7. Фролькис В. В. Старение. Нейрогуморальные механизмы. — Киев: Наук. думка, 1981. — 320 с.
8. Фролькис В. В., Безруков В. В., Шевчук В. Г. Кровообращение и старение. — Л.: Наука, 1984. — 215 с.
9. Шевчук В. Г. Влияние стимуляции и блокады адренорецепторов на гемодинамические показатели у животных разного возраста // Фармакология и токсикология. — 1977. — 37, № 3. — С. 322—325.
10. Ebstein R. P., Stessman J., Eliakim R. The effect of age on adrenergic function in man: a review // Isr. J. Med. Sci. — 1985. — 21, N 3. — P. 302—311.

11. Degen P. H., Ervik H. liquid chromatography.
12. Lakatta E. G. Age-related stress // Fed. Proc.
13. Scarpace P. J. Decrease in 1986. — 45, N 1. — P. 51.
14. Schoken D. D., Roth C. 1977. — 267. — P. 856—88.
15. Simpkins J. N., Field J. 1977. — 267. — P. 233—238.
16. Vestal R. E., Wood A. elderly // Clin. Pharmacol.

Ин-т геронтологии АМН

УДК 616.12—008.331.1—053.9

А. В. Токарь, Л. М. Ена,

Гормональные механизмы артериального давления в старости

Возрастная динамика повышения систолического и диастолического давления. С точки зрения патофизиологии АД — нарастание частоты и амплитуды колебаний АД (ВОЗ), преимущественно специфической артериальной гипертензии [9]. Следующие значения АД у пожилых и старых людей изменяются в сторону повышения общего периферического сопротивления. Снижение способности удерживать практически здоровых людей в состоянии водно-солевого обмена регуляции АД. Центральная гемодинамика, сопряжена с бо- телей таких гуморальных, простагландин- вазопрессина [7].

Цель нашего исследования — выявить тенденции возрастной в условиях нормотензии сдвигов в гипотензивных системах, характеристика факторов ре-

Методика

Обследовали 36 практиче- II степени и 33 больных с

© А. В. ТОКАРЬ, Л. М. ЕНА

Физиол. журн., 1990, т.

11. Degen P. H., Ervik H. Determination of propranolol in plasma and urine by gas-liquid chromatography // J. Chromatogr. Biomed. Appl.—222.—P. 437—444.
12. Lakatta E. G. Age-related alterations in the cardiovascular response to adrenergic mediated stress // Fed. Proc.—1980.—39, N 14.—P. 3173.
13. Scarpace P. J. Decreased β -adrenergic responsiveness during senescence // Fed. Proc.—1986.—45, N 1.—P. 51—54.
14. Schoken D. D., Roth G. S. Reduced adrenergic receptors in aging man // Nature.—1977.—267.—P. 856—858.
15. Simpkins J. N., Field F. P., Hess H. J. Age-related decline in adrenergic responsiveness of the kidney, heart and aorta of male rats // Neurobiol. Aging.—1983.—4, N 3.—P. 233—238.
16. Vestal R. E., Wood A. J. J., Shand D. G. Reduced β -adrenoceptor sensitivity in the elderly // Clin. Pharmacol. Ther.—1979.—26, N 2.—P. 181—186.

Ин-т геронтологии АМН СССР, Киев

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

УДК 616.12—008.331.1—053.9

А. В. Токарь, Л. М. Ена, Л. В. Магдич

Гормональные механизмы регуляции уровня артериального давления и его гемодинамической структуры в старости

Возрастная динамика артериального давления (АД) характеризуется повышением систолического АД на фоне менее существенного повышения диастолического, увеличением при этом амплитуды давления. С точки зрения патологии существенная сторона возрастной динамики АД — нарастание частоты гипертензивных состояний (согласно критериям ВОЗ), преимущественно гипертонической болезни, а также развитие специфической именно для периода позднего онтогенеза формы артериальной гипертензии — систолической (атеросклеротической) гипертензии [9]. Следует, однако, отметить, что даже в рамках нормальных значений АД у практически здоровых людей пожилого и старческого возрастов изменяется его гемодинамическая структура: увеличивается общее периферическое сопротивление (ОПС) и повышается роль общего эластического сопротивления артериальной системы в его формировании. Снижение минутного объема крови (МОК) в этих условиях способствует удержанию АД в рамках нормальных значений. АД у практически здоровых людей поддерживается на фоне отчетливых возрастных изменений гормональных систем, участвующих в регуляции водно-солевого обмена и кровообращения. В условиях стойкого нарушения регуляции АД у больных артериальной гипертензией выраженность центрально-гемодинамических нарушений, в частности гипертензии, сопряжена с большей выраженностью сдвигов отдельных показателей таких гуморальных систем, как ренин-ангиотензин-альдостероновой, простагландиновой [2, 5], и с повышением концентрации вазопрессина [7].

Цель нашего исследования — выяснение наиболее существенных тенденций возрастной динамики АД и его гемодинамической структуры в условиях нормотензии и гипертензии, сопряженных с этими состояниями сдвигов в гипофизарно-надпочечниковой и ренин-альдостероновой системах, характера взаимоотношений гемодинамических и гормональных факторов регуляции АД.

Методика

Обследовали 36 практически здоровых людей, 51 больных гипертонической болезнью II степени и 33 больных систолической гипертензией. Возраст обследованных в первых

© А. В. ТОКАРЬ, Л. М. ЕНА, Л. В. МАГДИЧ, 1990.

двух группах колебался от 45 до 89 лет (средний возраст $70,9 \pm 1,5$ и $67,2 \pm 1,7$ лет соответственно); людей, больных систолической гипертензией — от 60 до 89 лет (средний возраст $73,4 \pm 1,2$ года).

АД измеряли методом аускультации тонов Короткова. Центральную гемодинамику изучали методом разведения красителя кардиографа в модификации «обескровленного уха» на кардиокомпьютере MLC-4100 (фирма «Nihon Kohden», Япония). Концентрацию гормонов — вазопрессина, адренокортикотропного гормона (АКТГ), альдостерона, кортизола, а также активность ренина плазмы (РП) определяли радиоиммунным методом с помощью коммерческих наборов фирм «Cea Sorin» (Франция — Италия), «Buhlmann Laboratories» (Швейцария).

Исследования проводили на 5—6-е сутки пребывания пациентов в стационаре, на фоне 2—3-недельной отмены гипотензивных средств (если они ранее применялись), стандартной диеты № 10 по Певзнеру с потреблением поваренной соли 8—10 г/сут и свободном питьевом режиме, в условиях, максимально приближенных к основному обмену (утром, натощак, в положении лежа).

Результаты и их обсуждение

В исследуемой выборке уровень систолического АД у практически здоровых людей пожилого (60—74 лет) и старческого (75—89 лет) возрастов превышал его уровень у людей среднего (45—59 лет) возраста (табл. 1). Подобных возрастных различий не было в группах больных гипертонической болезнью и систолической гипертензией. У практически здоровых людей с возрастом повышалась роль ОПС и уменьшалась — МОК. У больных гипертонической болезнью не было возрастных различий МОК, а ОПС у них повышалось. У людей, больных систолической гипертензией, значения гемодинамических параметров в пожилом возрасте не отличались от таковых в старческом.

Корреляционный анализ всей выборки показал достоверную корреляцию: отрицательную — между возрастом и диастолическим АД ($r = -0,291$; $P < 0,003$) и МОК ($r = -0,242$; $P < 0,02$), положительную — между возрастом и ОПС ($r = 0,412$; $P < 0,001$). В группе практически здоровых людей наблюдалась положительная корреляция между возрастом и ОПС ($r = 0,403$; $P < 0,05$), систолическим АД и ОПС

Таблица 1. Показатели центральной гемодинамики у здоровых людей и больных гипертонической болезнью и систолической (атеросклеротической) гипертензией разного возраста

Группа обследованных	Артериальное давление, мм, рт. ст.		Минутный объем крови, л/мин	Общее периферическое сопротивление, $\text{гПа} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$
	систолическое	диастолическое		
Здоровые люди				
в целом по группе	$139,6 \pm 2,6$	$83,1 \pm 1,5$	$5,71 \pm 0,34$	$148,0 \pm 8,7$
45—59 лет	$127,2 \pm 3,4$	$81,3 \pm 2,6$	$6,36 \pm 0,31$	$111,8 \pm 17,5$
60—74 лет	$140,0 \pm 3,3^2$	$85,7 \pm 2,0$	$6,36 \pm 0,45$	$129,9 \pm 10,0$
75—89 лет	$139,1 \pm 4,1^4$	$80,0 \pm 1,7$	$4,93 \pm 0,41^{3,4}$	$169,4 \pm 12,5^{3,4}$
Больные гипертонической болезнью				
в целом по группе	$195,4 \pm 3,9^1$	$107,5 \pm 3,7^1$	$6,09 \pm 0,17$	$194,1 \pm 7,6^1$
45—59 лет	$182,8 \pm 8,2^1$	$110,7 \pm 3,7^1$	$6,32 \pm 0,36$	$169,9 \pm 11,9^1$
60—74 лет	$192,9 \pm 4,6^1$	$103,6 \pm 1,4^1$	$6,04 \pm 0,21$	$194,1 \pm 8,9^1$
75—89 лет	$213,1 \pm 6,5^1$	$110,7 \pm 6,2^1$	$5,93 \pm 0,41^1$	$224,7 \pm 13,5^{1,3,4}$
Больные систолической гипертензией				
в целом по группе	$180,5 \pm 2,7^1$	$85,6 \pm 1,3$	$5,54 \pm 0,17$	$204,2 \pm 7,1^1$
60—74 лет	$178,6 \pm 5,2^1$	$87,3 \pm 2,2$	$5,85 \pm 0,27$	$189,8 \pm 9,7^1$
75—89 лет	$181,1 \pm 3,1^1$	$80,6 \pm 1,6$	$5,32 \pm 0,33$	$214,6 \pm 9,5^1$

Примечание. Достоверность различий ($P < 0,05$) между: ¹ здоровыми и больными соответствующего возраста; ² возрастными группами 45—59 и 60—74 лет, ³ возрастными группами 60—74 и 75—89 лет, ⁴ возрастными группами 45—59 и 75—89 лет.

($r = 0,461$; $P < 0,03$). была отчетливо выражена ($r = 0,518$; $P < 0,002$), в старческого АД с ОПС (и систолической гипертензией) возраста и гемодинамики выявлено. ОПС ($r = 0,361$; $P < 0,05$).

Таким образом, с корреляционного анализа тенденцией возраста выступает повышение увеличения значимости логики. Уменьшение с и неизменность этого гипертензией, неосложненное предшествующие д формирования повышения «выброса» рассматривания, но и компенсации.

Из представленных данных концентрации что наиболее законом артериальной гипертензии в отношении этой болезни. В отечественной выборке мы не у больных гипертонической болезни тенденция РП в среднем пожилого, оказалась у здоровых людей. Подобно, что отражает соотношение различий между старости [4, 6]. Концентрацию у больных с показателем у практи-

Таблица 2. Концентрация артериальной гипертензией

Группа обследованных	АД
Здоровые люди	
в целом по группе	120
45—59 лет	111
60—74 лет	140
75—89 лет	117
Больные гипертонической болезнью	
в целом по группе	233
45—59 лет	211
60—74 лет	257
75—89 лет	214
Больные систолической гипертензией	
в целом по группе	208
60—74 лет	221
75—89 лет	196

Примечание. Достоверность различий ($P < 0,05$) между: ¹ здоровыми и больными соответствующего возраста; ² между возрастными группами 45—59 и 75—89 лет.

($r=0,461$; $P<0,03$). В группе больных гипертонической болезнью была отчетливо выражена связь возраста с систолическим АД ($r=0,518$; $P<0,002$), возраста с ОПС ($r=0,470$; $P<0,001$), систолического АД с ОПС ($r=0,541$; $P<0,0001$). В группе людей, больных систолической гипертензией, не было статистически значимой корреляции возраста и гемодинамических параметров, как и в двух предыдущих группах выявлялась взаимозависимость систолического АД и ОПС ($r=0,361$; $P<0,05$).

Таким образом, сопоставление средних значений и результаты корреляционного анализа позволяют говорить о том, что наиболее общей тенденцией возрастных изменений гемодинамических параметров выступает повышение ОПС (при изменении его структуры в сторону увеличения значимости эластического компонента) в норме и при патологии. Уменьшение с возрастом МОК у практически здоровых людей и неизменность этого показателя у больных стабильной артериальной гипертензией, неосложненной сердечной недостаточностью, подтверждало предшествующие данные о повышении роли сердечного выброса в формировании повышенного уровня АД в старости, где сама гипертензия «выброса» рассматривается с позиций не только нарушения регуляции, но и компенсации [4].

Из представленных в табл. 2 результатов, полученных при исследовании концентрации некоторых гормонов в плазме крови, очевидно, что наиболее закономерно повышение концентрации АКТГ у больных артериальной гипертензией вне зависимости от ее формы: в количественном отношении эта тенденция превалирует у больных гипертонической болезнью. В отличие от ранее полученных данных [5], в настоящей выборке мы не отметили повышения концентрации альдостерона у больных гипертонической болезнью. Более того, в старческом возрасте намечалась тенденция к ее снижению ($P<0,1$), при этом активность РП в среднем по группе людей старческого возраста, а также пожилого, оказалась повышенной по сравнению с таковой у нормотензивных людей. Подобных различий в старческом возрасте не наблюдалось, что отражает отмеченное некоторыми исследователями нивелирование различий многих показателей между нормой и патологией в старости [4, 6]. Концентрация кортизола проявляла тенденцию к снижению у больных с артериальной гипертензией по сравнению с этим показателем у практически здоровых в пожилом возрасте.

Таблица 2. Концентрация гормонов в плазме крови у здоровых людей и больных артериальной гипертензией разного возраста

Группа обследованных	АКТГ, нг/л	Вазопрессин, нг/л	Альдостерон, нмоль/л	Кортизол, нмоль/л	Активность ренина плазмы, нг·л ⁻¹ ·с ⁻¹
Здоровые люди					
в целом по группе	120,7±29,1	4,26±0,61	100,2±12,6	381,7±29,8	1,61±0,53
45—59 лет	111,3±27,6	3,12±0,71	108,3±14,0	404,3±33,7	1,50±1,03
60—74 лет	140,1±43,3	4,20±0,85	98,3±19,4	428,5±41,8	0,74±0,19
75—89 лет	117,4±39,6	15,90±1,17	112,7±18,4	340,8±39,0 ²	3,49±1,62 ²
Больные гипертонической болезнью					
в целом по группе	233,0±26,8 ¹	4,99±1,16	82,3±14,4	365,1±32,3	4,94±1,30 ¹
45—59 лет	211,4±60,2	3,88±0,99	113,0±31,0	510,2±78,1	5,52±1,97
60—74 лет	257,1±43,3 ¹	4,20±1,21	76,5±8,6	302,5±34,6 ¹	7,01±2,89 ¹
75—89 лет	214,5±33,4 ¹	8,69±3,26	68,8±14,2	332,0±48,6	1,45±0,61 ³
Больные систолической гипертензией					
в целом по группе	208,0±25,1 ¹	2,87±0,36 ¹	88,8±16,1	319,0±37,5	3,41±0,88 ¹
60—74 лет	220,4±41,9 ¹	2,62±0,52	112,2±39,3	346,3±70,7	3,98±1,06
75—89 лет	196,6±30,5	3,03±0,41 ¹	75,4±16,1	197,2±38,9 ²	3,66±1,33

Примечание. Достоверность различий ($P<0,5$):¹ по сравнению с возрастным контролем, ² между возрастными группами 60—74 и 75—89 лет, ³ между возрастными группами 45—59 и 75—89 лет.

ковой и ренин-ангиотензин-альдостероновой систем, а также этих систем между собой. Наибольший распад физиологических связей наблюдается в условиях нарушенной регуляции АД, особенно у больных гипертонической болезнью. Интересен вопрос о возможном участии гормональных механизмов в формировании гемодинамических типов гипертонии. При проведении корреляционного анализа всей выборки установлена прямая зависимость между систолическим АД и концентрацией вазопрессина ($r=0,255$; $P<0,05$), менее отчетливая — между концентрацией АКТГ и систолическим АД ($r=0,195$; $P<0,1$). Диастолическое АД было связано с концентрациями вазопрессина, кортизола, в меньшей мере — АКТГ ($r=0,486$; $0,240$ и $-0,193$; $P<0,001$, $<0,05$ и $<0,1$ соответственно). Прямая корреляция имела между концентрацией вазопрессина и МОК ($r=0,284$; $P<0,02$).

В группе здоровых людей обнаружена положительная корреляция концентрации кортизола и систолического АД, концентрации альдостерона и диастолического АД ($r=0,583$ и $0,556$; $P<0,02$ и $<0,03$ соответственно). В группе больных гипертонической болезнью установлена связь концентрации вазопрессина с систолическим и диастолическим АД, МОК ($r=0,477$; $0,712$; $0,380$; $P<0,05$, $<0,005$, $<0,02$ соответственно), концентрации кортизола с диастолическим АД ($r=0,456$; $P<0,02$). У больных систолической гипертонией имела строгая корреляция МОК и концентрации АКТГ ($r=0,492$; $P<0,02$). Таким образом, у больных гипертонической болезнью увеличение концентрации вазопрессина, а у больных систолической гипертонией — АКТГ ассоциировалось с увеличением объемного кровотока и, следовательно, его роли в формировании повышенного АД. Связь между концентрацией вазопрессина и внутрисосудистым объемом обусловлена антидиуретическим эффектом этого гормона, проявляющимся при значительно меньших его концентрациях, чем вазоконстрикторный [10]. Непосредственное гипертензивное влияние АКТГ реализуется в результате задержки ионов натрия, изменения трансмембранного ионного транспорта, перераспределения воды между вне- и внутриклеточным пространством, а также повышения чувствительности гладкомышечных волокон сосудов к действию норадреналина [12, 13].

Таким образом, в настоящем исследовании подтверждены значение повышения ОПС в механизмах формирования АД в норме и при патологии, а также существенная роль системного объемного кровотока в формировании гемодинамической структуры гипертонии в старости. С возрастом и в большей мере с развивающейся с возрастом артериальной гипертонией сопряжены меж- и внутрисистемные сдвиги, происходящие в гормональных системах: ренин-ангиотензин-альдостероновой и гипофизарно-адреналовой. Формирование гемодинамических вариантов гипертонии осуществляется также в связи с характером и выраженностью гормональных сдвигов.

A. V. Tokar, L. M. Ena, L. V. Magdich

HORMONAL MECHANISMS IN REGULATION OF BLOOD PRESSURE LEVEL AND ITS HEMODYNAMICS STRUCTURE IN OLD AGE

Age-related increase of vascular resistance determines blood pressure (BP) level in normotensive and hypertensive people. Sustainment of normotension in old age is connected with a decrease of the cardiac output. Increased cardiac output is considered to be an important factor of arterial hypertension in old age. Disturbances in renin-angiotensin-aldosterone and hypophyseal-adrenal systems are observed with advanced age and their degree increases in arterial hypertension. Variability of BP within normal range is closely connected with plasma aldosterone and cortisol concentrations. BP level and increased cardiac output are related to increased plasma ACTG and vasopressine concentrations in hypertensive subjects.

Institute of Gerontology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Елисеева Ю. Е., Павлихина Л. В., Орехович В. Н. Биохимические механизмы регуляции артериального давления // Клини. мед.— 1987.— № 5.— С. 9—19.
2. Ена Л. М., Негарэ А. И. Содержание простагландинов в плазме и моче больных гипертонической болезнью различного возраста // Врачеб. дело.— 1985.— № 2.— С. 83—86.
3. Першакова Л. П., Шхвацабая И. К., Чихладзе Н. М. и др. Адренокортикотропный гормон при гипертонической болезни // Бюл. ВКНЦ АМН СССР.— 1982.— 5, № 1.— С. 12—19.
4. Токарь А. В., Ена Л. М. Артериальная гипертензия в пожилом и старческом возрасте.— Киев: Здоровье, 1989.— 221 с.
5. Токарь А. В., Ена Л. М., Рудая Э. С., Северова Н. Л. Система ренин—ангиотензин—альдостерон при артериальной гипертензии в старости // Вест. АМН СССР.— 1984.— № 3.— С. 40—45.
6. Фролькис В. В. Старение. Нейрогуморальные механизмы.— Киев: Наук. думка, 1981.— 320 с.
7. Фролькис В. В., Головченко С. Ф., Богацкая Л. Н. и др. Роль вазопрессина в развитии патологии сердечно-сосудистой системы в старости // Кардиология.— 1976.— 16, № 12.— С. 103—109.
8. Шхвацабая И. К., Устинова С. Е., Учитель И. А. и др. Низкорениновая форма гипертонической болезни: особенности функциональных соотношений прессорной системы ренин—альдостерон // Кардиология.— 1983.— 23, № 4.— С. 5—10.
9. Borhant N. O. Prevalence and prognostic significance of hypertension in the elderly // J. Amer. Geriatr. Soc.— 1986.— 34, N 2.— P. 112—114.
10. Johnson C. L., Newman M., Wood R. Role of vasopressin in cardiovascular homeostasis and hypertension // Clin. Sci.— 1981.— 61, N 2.— P. S 129—S 139.
11. Kisch E. S., Dluhy R. C., Williams G. H. Enhanced aldosterone response to angiotensin II in human hypertension // Circulat. Res.— 1976.— 38, N 6.— P. 502—505.
12. Lohmeier T. E., Carrol R. G. Chronic potentiation of vasoconstrictor hypertension by adrenocorticotrophic hormone // Hypertension.— 1982.— 2, N 3.— Suppl. 11.— P. 11—138, 11—148.
13. Scoggins B. A., Denton D. A., Whithwoorth J. A., Coghlan J. P. ACTH dependant hypertension // Clin. and Exp. Hypertens.— 1984.— A6, N 3.— P. 599—646.

Ин-т геронтологии АМН СССР, Киев

Материал поступил
в редакцию 30.02.90

УДК 612.8:574.96:612.67

В. В. Безруков, Х. К. Мурадян

Влияние адрено- и холиноблокаторов на интенсивность биосинтеза РНК и белка печени взрослых и старых крыс

Изучение возрастных особенностей регуляции генома является одним из наиболее плодотворных направлений в геронтологии [5]. Для обеспечения необходимых лабильности и диапазона регуляции генома важна информация, поступающая по гормональным и нервным путям. Между тем анализ накопленного литературного материала показывает, что основное внимание здесь уделяется изучению гормональной регуляции, и только в единичных работах сделана попытка исследования особенностей нервного контроля биосинтеза белка [6, 7]. Возрастной же аспект этой проблемы до сих пор остается практически не изученным.

Фармакологическая блокада адрено- и холинорецепторов представляется удобным подходом к изучению нервной регуляции транскрипции и трансляции. Наличие достаточно большого набора препаратов, обладающих разной специфичностью к отдельным типам рецепторов, открывает большие возможности для моделирования ослабления или «выключения» соответствующих компонентов нервной регуляции.

© В. В. БЕЗРУКОВ, Х. К. МУРАДЯН, 1990.

Все сказанное определяет введение некоторых α-индлера) и М- и Н-хол захват меченых предшест чени крыс разного возраст

Методика

Опыты проведены на взрослых самцах линии Вистар. Адрено-забой предварительно наркотизировали следующие блокаторы атропин (10 мг/кг) и бензогекс втомным вводили соответствующ

Об интенсивности захвата молекулы судили по удельной ной УА (ОУА) РНК и белка. оценки интенсивности биосинте растворимого материала к УА крысам внутрибрюшинно ввод соответственно). После забоя 10 %-ной трихлоруксусной ксл ярных продуктов производил пор 0,22 нм (фирма «Millipore» нел [4]. Радиоактивность проб

Первичную статистическую полученных результатов проводили скую значимость влияния фак действия (АВ) оценивали с п

Результаты и их обсуждение

Введение постсинаптических вызывает заметное снижение тогда как у старых жив биосинтеза белка менее снижение УА и ОУА бе 20 %, тогда как у старых несколько повышается (с помощью двухфакторной интенсивность захвата (стически значимо влияю препарата (F_в=11,1; Р свидетелствующих об обнаружена лишь тенде кады α-рецепторов с по Сопоставляя влияние ди цию, можно обнаружить пула (на 36 % у взрослых бильность ОУА (+8 и —

В следующей серии β-адреноблокатора индешественников и их вклю нок, б). Оказалось, что вие дигидроэрготоксина. жение УА пула предшес ствовать об ингибирую каналы трансмембранн данным дисперсионного статистически значимым проявляло тенденцию к

Физиол. журн., 1990, т. 36.

Все сказанное определило цель нашей работы — изучить влияние введения некоторых α - и β -адреноблокаторов (дигидроэрготоксина, индерала) и М- и Н-холинолитиков (атропина и бензогексония) на захват меченых предшественников и их включение в белки и РНК печени крыс разного возраста.

Методика

Опыты проведены на взрослых (6—8-месячных) и старых (24—26-месячных) крысах-самцах линии Вистар. Адрено- и холиноблокаторы вводили внутривентриально за 1 ч до забоя предварительно наркотизированным этиналом натрия (40 мг/кг) крысам. Использовали следующие блокаторы: дигидроэрготоксин (1,5 мг/кг), индерал (1 мг/кг), атропин (10 мг/кг) и бензогексоний (10 мг/кг). Контрольным наркотизированным животным вводили соответствующую дозу физиологического раствора.

Об интенсивности захвата меченых предшественников и их включения в макромолекулы судили по удельной активности (УА) пула предшественников и относительной УА (ОУА) РНК и белка. ОУА, являющаяся наиболее информативным критерием оценки интенсивности биосинтеза РНК и белка, определяли отношением УА кислотонерастворимого материала к УА кислоторастворимого. Для этого за 30 мин до забоя крысам внутривентриально вводили ^3H -лейцин и ^{14}C -оротовую кислоту (25 и 10 МБк/кг соответственно). После забоя ткань печени быстро взвешивали и гомогенизировали в 10 %-ной трихлоруксусной кислоте. Дальнейшее разделение высоко- и низкомолекулярных продуктов производили на нитроцеллюлозных мембранных фильтрах размером пор 0,22 мкм (фирма «Millipore», США), согласно методике, приведенной в работе Кеннел [4]. Радиоактивность проб измеряли на радиоспектрометре Mark-111 (США).

Первичную статистическую обработку и двухфакторный дисперсионный анализ полученных результатов проводили по общеизвестным зависимостям [1]. Статистическую значимость влияния факторов возраста (А), препарата (В) и их комплексного действия (АВ) оценивали с помощью соответствующих F-критериев (F_A , F_B , F_{AB}).

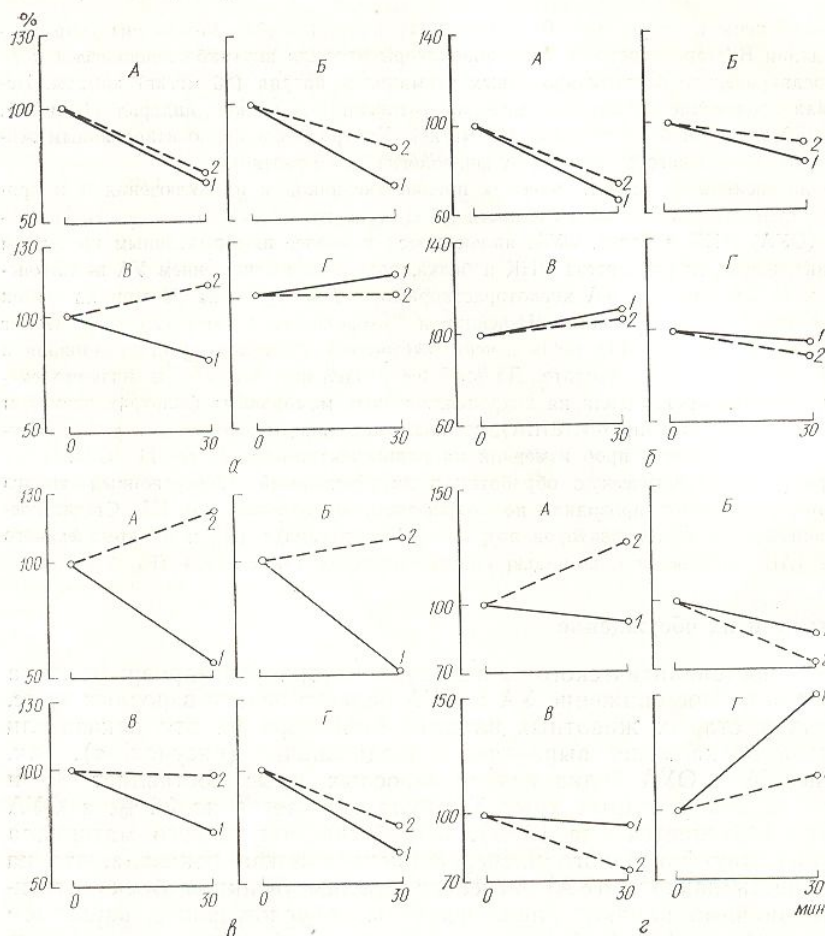
Результаты и их обсуждение

Введение постсинаптического α -адреноблокатора дигидроэрготоксина вызывает заметное снижение УА и ОУА белка в печени взрослых крыс, тогда как у старых животных влияние блокатора на эти показатели биосинтеза белка менее выражено и неоднозначно (рисунок, а). Так, снижение УА и ОУА белка печени взрослых крыс составляет 35 и 20 %, тогда как у старых крыс УА пула снижается на 30 %, а ОУА несколько повышается (на 13 %). Обработка полученного материала с помощью двухфакторного дисперсионного анализа показала, что на интенсивность захвата (УА) меченого предшественника белка статистически значимо влияют лишь факторы, обусловленные введением препарата ($F_B=11,1$; $P\leq 0,01$). Аналогичная обработка результатов, свидетельствующих об интенсивности биосинтеза белка (ОУА белка), обнаружила лишь тенденцию к статистически значимому эффекту блокады α -рецепторов с помощью дигидроэрготоксина ($F_B=3,6$; $P\leq 0,1$). Сопоставляя влияние дигидроэрготоксина на транскрипцию и трансляцию, можно обнаружить некоторое сходство — заметное снижение УА пула (на 36 % у взрослых и на 20 % у старых) и сравнительную стабильность ОУА (+8 и -1 % соответственно).

В следующей серии опытов изучали влияние постсинаптического β -адреноблокатора индерала на интенсивность захвата меченых предшественников и их включения в макромолекулы РНК и белка (рисунок, б). Оказалось, что влияние индерала во многом напоминает действие дигидроэрготоксина. В обоих случаях наблюдается заметное снижение УА пула предшественников РНК и белка, что может свидетельствовать об ингибирующем влиянии указанных адреноблокаторов на каналы трансмембранного переноса аминокислот и нуклеотидов. По данным дисперсионного анализа, влияние индерала на УА белка было статистически значимым ($F_B=6,2$; $P\leq 0,05$), а влияние на УА РНК проявляло тенденцию к значимому эффекту ($F_B=3,2$; $P\leq 0,1$).

При анализе результатов опытов с введением взрослым и старым животным α - и β -адреноблокаторов обращает на себя внимание то, что

При анализе результатов опытов с введением взрослым и старым животным α - и β -адреноблокаторов обращает на себя внимание то, что



А, Б — УА пула белка и РНК; В, Г — ОУА белка и РНК.

Значение М- и Н-холинорецепторов в регуляции функций печени обусловлено характером иннервации этого органа — наличием пара-

Значение М- и Н-холинорецепторов в регуляции функций печени обусловлено характером иннервации этого органа — наличием пара-

Поддавление захват
было обнаружено при
Согласно результатам
мым было влияние атр
бенно — ОУА РНК (F)
каде адренорецепторо
пула и ОУА белка бы
зы тканей взрослых кр
результаты позволяют
пина обусловлено неп
факторы регуляции т
интенсивности транскр
динамическими или д

Для нас особенно
атропина ОУА РНК
менялась. Более того,
от взрослых, не толь
рот, несколько повыш
РНК и белка печени
ров атропином в опр
растном ослаблении х

Интересные результаты бензогексонием блокаторов бензогексония захвата пула пренервации их включения крыс обеих групп не считались, особенно у животных этот показ тактных животных. Сивность транскрипции нервной регуляции оствия на генетически других — стимулирует блокаторов на изуча

Таким образом, что в печени взрослых эрготоксином и индолом преимущественно шестивалентных РНК влиянием атропина, свидетельствует о воле на факторы, осязании в гепатоцитах указанных блокаторов было слабо выражено факт может иметь ризучении. Одним из

Физиол. журн., 1990, т.

симпатических и симпатических волокон, идущих к печени в составе брюшных ветвей блуждающего нерва и веточек солнечного сплетения и чревных нервов. В самой печени представлены М-холинорецепторы, а Н-холинорецепторы играют важную роль в передаче нервных импульсов к печени в ганглионарном аппарате пара- и симпатической нервной системы. Известно, что блокада холинорецепторов существенно сказывается на трофике некоторых тканей [2]. В наших опытах в качестве М-холинолитика был использован атропин (10 мг/кг). У взрослых крыс введение атропина приводило к снижению значений всех исследуемых показателей захвата предшественников и синтеза РНК и белка (рисунок, в). Особенно существенным было влияние атропина на УА белка и РНК взрослых крыс, которые снижались почти вдвое по сравнению с контрольным значением.

Подавление захвата меченых аминокислот и их включения в белки было обнаружено при использовании других М-холинолитиков [3]. Согласно результатам дисперсионного анализа, статистически значимым было влияние атропина на ОУА белка ($F_b=6,1$; $P \leq 0,05$) и особенно — ОУА РНК ($F_b=9,4$; $P \leq 0,01$), чего не наблюдалось при блокаде адренорецепторов. Следует отметить, что заметное снижение УА пула и ОУА белка было обнаружено и при действии атропина на срезы тканей взрослых крыс, т. е. в условиях биосинтеза *in vitro* [3]. Эти результаты позволяют предположить, что ингибиторное действие атропина обусловлено непосредственным влиянием блокатора на клеточные факторы регуляции трансмембранного переноса предшественников и интенсивности транскрипции и трансляции, а не опосредованным гемодинамическими или другими надклеточными регуляторными системами.

Для нас особенно важным представляется то, что под влиянием атропина ОУА РНК и белка печени старых крыс существенно не изменялась. Более того, УА пула РНК и белка у старых крыс, в отличие от взрослых, не только существенно не снижалась, но, скорее наоборот, несколько повышалась. Сравнительно меньшие сдвиги УА и ОУА РНК и белка печени старых животных при блокаде М-холинорецепторов атропином в определенной мере может свидетельствовать о возрастном ослаблении холинергических нервных связей.

Интересные результаты получены в серии опытов с Н-холинолитиком бензогексонием (рисунок, г). В отличие от приведенных выше блокаторов бензогексоний вызывал сравнительно небольшие изменения захвата пула предшественников (УА) и более выраженные изменения их включения в макромолекулы (ОУА). Причем ОУА белка у крыс обеих групп несколько снижалась, а ОУА РНК, наоборот, увеличивалась, особенно у взрослых крыс (на 50 %; $P \leq 0,05$). У старых животных этот показатель практически не отличался от такового интактных животных. Стимулирующее влияние бензогексония на интенсивность транскрипции показывает, что у взрослых крыс механизмы нервной регуляции обладают возможностью разнонаправленного действия на генетический аппарат: блокада одних рецепторов подавляет, других — стимулирует биосинтез РНК и белка. У старых крыс влияние блокаторов на изучаемые показатели было менее выражено.

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что в печени взрослых крыс блокада α - и β -адренорецепторов дигидроэрготоксином и индералом, а также М- и Н-холинорецепторов атропином преимущественно приводит к ослаблению захвата меченых предшественников РНК и белка. В некоторых случаях, в частности под влиянием атропина, существенно изменяется и ОУА РНК и белка, что свидетельствует о возможном влиянии нервной регуляции непосредственно на факторы, определяющие интенсивность транскрипции и трансляции в гепатоцитах взрослых крыс. В большинстве случаев влияние указанных блокаторов на УА и ОУА РНК и белка печени старых крыс было слабо выражено или его практически не было. Этот интересный факт может иметь различное толкование и нуждается в дальнейшем изучении. Одним из возможных объяснений возрастного снижения за-

хвата предшественников и их включения в макромолекулы при фармакологической блокаде может быть ослабление нервных влияний в исходном состоянии тканей, в основе которого лежат морфологические, метаболические и функциональные изменения различных звеньев нервной регуляции стареющего организма [5]. Полученные результаты совместно с комплексом ранее полученных данных о возрастном ослаблении нервного контроля [5] могут оказаться существенными фактами для доказательства снижения адаптационных возможностей стареющего организма.

V. V. Bezrukov, Kh. K. Muradyan

EFFECTS OF ADRENO- AND CHOLINOBLOCKADE ON RNA AND PROTEIN BIOSYNTHESIS INTENSITY IN THE LIVER OF ADULT AND OLD RATS

The uptake of labelled precursors of RNA and protein and their incorporation into corresponding macromolecules were studied in the liver of adult and old rats after pharmacological blockade of the adreno- and cholinoreceptors. The data obtained suggest direct neural regulation of transcription and translation intensity as well as the weakening of these mechanisms in aging.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айвазян С. А., Енюков И. С., Мешалкин Л. Д. Прикладная статистика.— М.: Финансы и статистика, 1983.— 471 с.
2. Аничков С. В. Нейрофармакология.— Л.: Медицина, 1982.— 384 с.
3. Верхратский Н. С. Особенности влияния ацетилхолина на биосинтез белка в отделах сердца взрослых и старых крыс // *Вопр. мед. химии*.— 1978, № 5.— С. 648—651.
4. Кеннед Д. Использование фильтров для разделения радиоактивных РНК, ДНК и белка // *Методы исследования нуклеиновых кислот*.— М.: Мир, 1970.— С. 138—144.
5. Фролькис В. В. Старение. Нейрогуморальные механизмы.— Л.: Наука, 1981.— 320 с.
6. Shimazu T., Matsushita H., Ishikawa K. Hypothalamic control of liver glycogen metabolism in adult and aged rats // *Brain Res.*— 1978.— 144.— N 2.— P. 343—352.
7. Shimazu T. Changes in neural regulation of liver metabolism during aging // *Neural regulatory mechanisms during aging*.— New York, 1980.— P. 159—185.

Ин-т геронтологии АМН СССР, Киев

Материал поступил в редакцию 30.02.90

CONTENTS

Articles

- FROLKIS V. V. Gene Regulation of Pathology Development
- NIKITIN V. N. Approaches to the Study of the Role of the Nervous System in the Development of Pathology
- HORAKOVA M., DEYL Z., H. Enriched Diet and Subsequent Changes in the Liver of 344 Male Rats
- HIROKAWA K. Mechanism of the Effect of the Nervous System on the Liver
- BUTENKO G. M., KCHARAZI V. The Effect of Transplantation of the Liver on the Development of the Nervous System
- ANDRIANOVA L. F. Proliferation of Hemopoietic Stem Cells in CBA Mice
- KONEV S. V., AKSENTSEV V. I. Organization of the Brain Synthesis of the Nervous System
- SATRUSTEGUI J., BOGONNE A. Alterations in the Nervous System and Their Possible Involvement in the Development of Pathology
- ARMENYAN A. R., ARAKEVIAN A. S. Evoked Release of ³H-Norepinephrine from the Nervous System during Aging. The Role of N-Acetylcholine
- FINCH K. E. Prospects of the Study of the Nervous System in Brain Aging
- MANKOVSKY N. B., KARAKOVA N. I. Mechanisms of the Development of the Nervous System
- MEITES J. Role of the Nervous System in the Development of the Nervous System
- VERKHRATSKY N. S., DIDERIKS J. and Corticotropin Incretin in the Nervous System
- ROTH G. S. Changes in the Nervous System during Aging
- VERMEULEN A. Biological Regulation of the Nervous System
- SATO A. Sympathoadrenal System in the Nervous System
- GORBAN E. N. Effects of Carotid Denervation on Isolated Adrenal Gland
- KORKUSHKO O. V. Change in the Nervous System in Aging
- TOKAR A. V., ENA L. M., MURADYAN K. K. Blood Pressure Level and Its Regulation in the Nervous System
- BEZRUKOV V. V., MURADYAN K. K. RNA and Protein Biosynthesis in the Liver of Adult and Old Rats

Articles

FROLKIS V. V. Gene Regulatory Mechanisms of Aging as the Basis of the Age Pathology Development	3
NIKITIN V. N. Approaches to Experimental Prolongation of Life	11
HORAKOVA M., DEYL Z., HAUSMANN J., MACEK K. The Effect of Carbohydrate-Enriched Diet and Subsequent Food Restriction Upon Life Prolongation in Fischer 344 Male Rats	16
HIROKAWA K. Mechanism of Thymic Involution-Analysis of Intrinsic and Extrinsic Aspects	21
BUTENKO G. M., KCHARAZI A. I., PISHEL I. N. Influence of the Recipient Age on the Effect of Transplantation of Lymphoid Organs in Newborn Donors	27
ANDRIANOVA L. F. Proliferative and Differentiative Properties of Bone Marrow Hemopoietic Stem Cells in CBA Mice of Different Age	31
KONEV S. V., AKSENTSEV S. L., OKUN I. M., MILYUTIN A. A. Structural Reorganization of the Brain Synaptic Membranes and Aging	36
SATRUSTEGUI J., BOGONEZ E., VITORICA J., BLANCO P., MARTINEZ-SE-RRANO A. Alterations in the Calcium-Transport Systems of the Rat Brain Synaptosomes and Their Possible Involvement in the Pathophysiology of Ageing	42
ARMENYAN A. R., ARAKELYAN L. N., APRIKYAN G. V. The Uptake and K ⁺ -Evoked Release of ³ H-Norepinephrine in the Rat Mesodiencephalic Synaptosomes in Aging. The Role of N-Acetyl-L-Aspartic Acid	50
FINCH K. E. Prospects of Studies in the Modulation of Gene Activity During the Brain Aging	55
MANKOVSKY N. B., KARABAN I. N., MYALOVITSKAYA E. A. Central Mechanisms of the Development of Motor Disorders During Human Aging	62
MEITES J. Role of the Neuroendocrine System in Aging Processes	70
VERKHRATSKY N. S., DIDENKO S. O., KHARAZI L. I. Regulation of Corticoliberin and Corticotropin Incretion in Old Age	76
ROTH G. S. Changes in Hormone and Neurotransmitter Actions with Aging	82
VERMEULEN A. Biological Manifestations of the Andropause	90
SATO A. Sympathoadrenal Medullary Functions During Aging	94
GORBAN E. N. Effects of Ca ²⁺ and K ⁺ Channel Blockers on ACTH-Stimulated Steroidogenesis in Isolated Adrenal Glands of Adult and Old Rats	99
KORKUSHKO O. V. Changes in Beta-Adrenergic Regulation of the Cardiovascular System in Aging	104
TOKAR A. V., ENA L. M., MAGDICH L. V. Hormonal Mechanisms in Regulation of Blood Pressure Level and Its Hemodynamic Structure in Old Age	111
BEZRUKOV V. V., MURADYAN Kh. K. Effects of Adreno- and Cholinoblockade on RNA and Protein Biosynthesis Intensity in the Liver of Adult and Old Rats	116

УДК 577.1:612.67:616—053.9

Генорегуляторные механизмы старения — основа развития возрастной патологии / Фролькис В. В. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 5.— С. 3—11.

В зависимости от наступающих изменений активности различных генов, синтеза различных белков развивается тот или иной тип возрастной патологии. Проанализирована связь между возрастными изменениями активности различных генов и развитием атеросклероза, рака, диабета, паркинсонизма, болезни Альцгеймера. Возникновение генорегуляторных возрастных изменений в клетках нервной, эндокринной, иммунной систем определяет их участие в формировании возрастной патологии. Обосновывается перспективность генорегуляторной терапии, избирательно стимулирующей и подавляющей активность различных генов и их групп. Ил. 5. Библиогр. 28.

УДК 591.1.15

Подходы к экспериментальному продлению жизни / Никитин В. Н. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 5.— С. 11—16.

Рассмотрены современные подходы к увеличению продолжительности жизни лабораторных животных. Калорийно-ограниченная диета, увеличивающая продолжительность жизни, приводит к существенным гормональным сдвигам, изменениям активности генома, биосинтеза белка. Эти механизмы и определяют продление жизни. Библиогр. 21.

УДК 612.396:612.394:612.68

Влияние диеты, обогащенной углеводами, и последующего ограничения количества потребляемой пищи на увеличение продолжительности жизни самцов крыс линии Фишер 344 / Хоракова М., Дейл З., Хаусман Дж., Матчек К. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 5.— С. 16—21.

Увеличение количества углеводов (декстрина) в диете пролонгирует продолжительность жизни самцов крыс линии Фишер 344 только при содержании на ней животных в возрасте от 1,5 до 6 мес; при этом медиана выживания животных увеличивается на 96 сут, а десятая процентиль — в среднем на 10 сут. Дальнейшее содержание животных на этой диете дает минимальный эффект: у животных, содержащихся на такой диете всю жизнь, прирост медианы составляет 120 сут, а десятой процентиля — 41 сут. Если же этих животных в возрасте 6 мес перевести на ограниченное потребление пищи (60 %), не обогащенной углеводами, отмечается дальнейшее увеличение продолжительности жизни: медиана увеличивается на 328 сут, а десятая процентиль — на 396 сут по сравнению с контрольной группой. Содержание на углеводно-обогащенной диете от 1,5- до 6-месячного возраста с последующим переводом на ограниченную диету (60 %) имеет аддитивный эффект, т. е. получаемое при этом увеличение продолжительности жизни идентично продолжительности жизни животных, содержащихся на ограниченном до 60 % рационе всю жизнь. Табл. 3. Библиогр. 23.

УДК 612.67—017.1:612.438

Механизм инволюции тимуса (анализ внутренних и внешних аспектов) / Хирокава К. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 5.— С. 21—26.

Исследован вклад внутренних и внешних по отношению к тимусу факторов в механизмы развития его возрастной инволюции. К числу внутренних факторов отнесены: снижение числа предшественников Т-клеток (про-Т-клеток) в костном мозгу, снижение эмиграции про-Т-клеток в тимус, снижение пролиферации тимических лимфоцитов в тимусе, ослабление действия экстралимфических факторов, способствующих пролиферации тимоцитов. К числу внешних факторов, способных оказывать модулирующее влияние на функцию тимуса, отнесены гуморальные факторы гипоталамо-гипофизарного происхождения. Более доступным и перспективным подходом, направленным на восстановление инволюционирующего тимуса, является модуляция внешних по отношению к тимусу факторов, что требует дальнейшего расширения представлений о нейроэндокринных механизмах регуляции системы иммунитета. Ил. 1. Табл. 3. Библиогр. 8.

УДК 612.65:67.02:6

Влияние возрастных изменений рецепции переселения / И. Н. // Ф

В работе исследованы возрастные изменения рецепции переселения в этом внутреннем органе на фоне с возрастом, 1. Полученные результаты при старении.

УДК 612.119.017.1

Пролиферативные клетки к / Андрианова Л.

С целью изучения костного мозга СВА 3—5 и 2 ния в селезенке вводили летальное число колоний с возрастными существами их объем. колоний почти цитарные коло во клеток в к

УДК 577.355.332

Структурная / нев С. В., журн.— 1990.—

Обзор результатов существенной возрастных н

УДК 612.822.1/3

Изменения к / Витория Ж. 36, № 5.— С.

Исследованы сом мозга к мозга. Это с зависимых С браным пот ны мембраны экстрамитохондриями «нагружены» хондрий взр мозга старых Обсуждены нов, обуслов

Влияние возраста реципиента на эффект трансплантации лимфоидных органов новорожденных доноров / Бутенко Г. М., Харази А. И., Писель И. Н. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 5.— С. 27—31.

В работе исследуется развитие лимфоидных органов (тимуса и селезенки) новорожденных животных после трансплантации их под капсулу почки реципиентам молодого, среднего и старческого возрастов. Показано, что функции пересаженных органов практически полностью определяются макроокружением того организма, в котором происходит их развитие. При этом внутренняя среда молодого животного оказывает стимулирующее влияние на функции пересаженных органов, которые постепенно снижаются с возрастом, переходя у животных старше 20 мес в иммуносупрессию. Полученные результаты указывают на преимущественное значение макроокружения организма в развитии системы иммунитета и в ее изменении при старении. Табл. 1. Ил. 2. Библиогр. 14.

Пролиферативные и дифференцировочные свойства стволовых кроветворных клеток костного мозга у мышей линии СВА различного возраста / Андрианова Л. Ф. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 5.— С. 31—36.

С целью изучения возрастных особенностей стволовой кроветворной клетки костного мозга (КМ) и ее ранних предшественников у мышей линии СВА 3—5 и 23, 24 мес использовали метод экзогенного колониеобразования в селезенке. Клетки костного мозга экспериментальных животных вводили детально облученным реципиентам, после чего у них определяли число колоний в селезенке, их морфологию и объем. Общее количество колоний с возрастом не изменялось. После введения КМ старых животных существенно уменьшалось количество эритроидных колоний, снижался их объем. Количество гранулоцитарно-макрофагальных и смешанных колоний почти не изменялось, несколько уменьшался их объем. Мегакариоцитарные колонии несколько увеличивались в числе, нарастало и количество клеток в колониях. Табл. 1. Библиогр. 25.

Структурная реорганизация синаптических мембран мозга и старение / Конев С. В., Аксентев С. Л., Окунь И. М., Милютин А. А. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 5.— С. 36—42.

Обзор результатов собственных исследований и литературных данных о существенной роли структурной реорганизации синаптических мембран в возрастных нарушениях нейрональных функций. Библиогр. 23.

Изменения кальцийтранспортных систем в синапсоммах мозга крыс и их возможное участие в патофизиологии старения / Сатрустеги Д., Богонез Е., Виторика Ж., Бланко П., Мартинез-Серрано А. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 5.— С. 42—50.

Исследованы возрастные особенности Ca^{2+} -транспортных систем синапсомм мозга крыс. При старении снижается захват $^{45}\text{Ca}^{2+}$ синапсоммами мозга. Это снижение не сопряжено с изменением проводимости потенциалзависимых Ca^{2+} -каналов синапсоммальной мембраны, вызванным мембранным потенциалом. Возрастное перераспределение Ca^{2+} по обе стороны мембраны митохондрий сдвигается в сторону повышения концентрации экстрамитохондриального кальция в изолированных и синапсоммальных митохондриях. Выход Ca^{2+} из митохондрий старых крыс, предварительно «нагруженных» кальцием, снижен по сравнению с его выходом из митохондрий взрослых. Концентрация Ca^{2+} резко повышена в синапсоммах мозга старых крыс и в покое, и после K^{+} -индуцированной деполяризации. Обсуждены возможные патогенетические механизмы повреждений нейронов, обусловленные этим повышением. Ил. 6. Библиогр. 41.

Захват и K^+ -вызванное высвобождение 3H -норадреналина в мезодienceфальных синапсах белых крыс при старении. Роль *N*-ацетил-*L*-аспарагиновой кислоты / Армения А. Р., Аракелян Л. Н., Априкян Г. В. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 5.— С. 50—54.

Изучены захват и высвобождение 3H -норадреналина (3H -НА) в мезодienceфальных синапсах зрелых и старых крыс и влияние *N*-ацетил-*L*-аспарагиновой кислоты (НААК) на эти процессы. Установлено, что у старых крыс захват 3H -НА мезодienceфальными синапсами значительно ослаблен, а также сильно подавлено (на 78 %) K^+ -вызванное высвобождение из синапсом. Показано, что НААК в концентрациях 10^{-4} — $3 \cdot 10^{-3}$ моль/л не влияет на захват 3H -НА синапсами зрелых и старых крыс. Эти концентрации ингибировали вызванное высвобождение 3H -НА у взрослых, но не влияли на тот процесс у старых крыс. Ил. 3. Библиогр. 21.

Перспективы исследований модуляции активности генов при старении мозга / Финч К. Е. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 5.— С. 55—62.

Исследована роль модуляции экспрессии генов при старении мозга, а также при двух видах зависимой от возраста неврологической патологии — болезни Паркинсона и Альцгеймера. Проанализированы два основных механизма, ведущих к нарушению функции нейронов при старении: ослабление афферентных влияний, в результате которого развивается синдром деафферентации и индуцированное стероидами поражение нейронов. Высказано предположение, что большинство проявлений старения клеток мозга является следствием действия внешних факторов. Разработана концепция новых терапевтических подходов при лечении болезни Альцгеймера. Ил. 2. Табл. 1. Библиогр. 39.

Центральные механизмы развития двигательных нарушений при старении человека / Маньковский Н. Б., Карабань И. Н., Мяловицкая Е. А. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 5.— С. 62—70.

Изучены особенности функционального состояния головного мозга и его нисходящие регуляторные влияния на стволово-спинальные образования у людей старших возрастов, показана роль выявленных изменений в формировании клинического синдрома возрастной экстрапиримидной недостаточности (ЭПН) как фактора риска в развитии паркинсонизма. Обследовано 274 практически здоровых человека в возрасте 20—102 лет и 136 больных паркинсонизмом на начальных стадиях. Программа нейрофизиологического исследования включала: частотно-интегративный анализ ЭЭГ, зрительные и соматосенсорные потенциалы (ЗВП, ССВП соответственно), время простой двигательной реакции (ВР), стимуляционную электроэнцефалографию (Н-рефлекс). Установлено, что при старении и паркинсонизме происходят однонаправленные изменения функционального состояния ЦНС, формирующие возрастную и патологическую ЭПН. Комплекс нейрофизиологических показателей, отражающий регуляторные влияния ЦНС на нижележащие спинномозговые образования, дает возможность применять их для ранней диагностики двигательных нарушений в старости. Ил. 2. Табл. 3. Библиогр. 36.

Роль нейроэндокринной системы в старении / Мейтес Д. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 5.— С. 70—76.

Исследованы три аспекта нейроэндокринной регуляции функций организма при старении: ослабление репродуктивной функции; снижение секреции гормона роста и синтеза белка; снижение функциональной активности тимуса и изменение взаимоотношений нейроэндокринной и иммунной системы. Проанализирована роль возрастного снижения продукции дофамина и норадреналина нейронами гипоталамуса в указанных возрастных изменениях нейроэндокринной регуляции. Показано, что причинами возрастного снижения функции катехоламинергических нейронов гипоталамуса являются повреждающее действие на них гормонов (пролактина, глюкокортикоидов и, особенно, эстрогенов), свободных радикалов и токсинов эндогенного и экзогенного происхождения. Ограничение питания увеличивает продолжительность жизни экспериментальных животных за счет «снижения износа» нейроэндокринной системы и контролируемых ею органов и тканей. Библиогр. 50.

Регуляция и храсский Н. 36, № 5.— С.

В опытах н жается инкр реакция на рона. На эт ность к КР АКТГ, как в нем усилие предположе контроле фу Табл. 4. Биб

Изменения Физiol. жур

Рассмотрене специфическ нии. Показа торов в раз ми являютс та, и наруп возможности диаторного огр. 58.

Биологическ 1990.— 36, №

Старение м менников: у нию, суточн тостерона в Лейдига и зирующего чин через 1 стные изме тестостерон влияниям, эффе́кты за ны достига предстатель ление эндог поведении поталамус —

Симпатическ рении / Сато

Рассмотрен почечников вариабельно чечниках ж ная с 300-с расте 800— ность едини повышалась взрослых (лируемых у нивали реф ных волоко ханорецепт муляцию б рефлексорн сохранены

Регуляция инкретии кортиколиберина и кортикотропина в старости / Вехратский Н. С., Диденко С. О., Харази Л. И. // Физиол. журн.—1990.— 36, № 5.— С. 76—81.

В опытах на взрослых и старых крысах показано, что при старении снижается инкретия кортиколиберина (КРФ) в гипоталамусе, ослабляется его реакция на дексаметазон, снижается рецепторное связывание кортикостерона. На этом фоне в гипофизе старых крыс повышается чувствительность к КРФ и серотонину, при стрессе выделяется такое же количество АКТГ, как и у взрослых, он более выраженно реагирует на дексаметазон, в нем усиливается рецепторное связывание кортикостерона. Высказано предположение, что в старости возрастает роль гипофизарного звена в контроле функции коры надпочечников при стрессовых ситуациях. Ил. 2. Табл. 4. Библиогр. 9.

УДК 612.43/45+612.822]:612.67

Изменения действия гормонов и нейромедиаторов при старении / Рот Д. // Физиол. журн.—1990.— 36, № 5.— С. 82—89.

Рассмотрены механизмы взаимодействия гормонов и нейромедиаторов со специфическими рецепторами в железистой и нервной тканях при старении. Показана гетерогенность возрастных изменений разных типов рецепторов в различных типах тканей. Наиболее распространенными феноменами являются возрастное снижение числа рецепторов, но не их аффинитета, и нарушение способности мобилизации кальция. Продemonстрирована возможность коррекции возрастных изменений гормонального и нейромедиаторного действия на рецепторном и пострецепторном уровнях. Библиогр. 58.

УДК 612.616.31:612.67

Биологические проявления андропаузы / Вермюлен А. // Физиол. журн.—1990.— 36, № 5.— С. 90—93.

Старение мужчин сопровождается снижением вирильности и функции семенников: уменьшаются половая активность, способность к оплодотворению, суточная продукция и подвижность сперматозоидов, содержание тестостерона в крови и суточные колебания его концентрации, число клеток Лейдига и кровоснабжение тестикул. Исследовано содержание лютеинизирующего гормона (ЛГ) в пробах плазмы крови молодых и старых мужчин через 10-минутные интервалы на протяжении 12 ч. Выявлены возрастные изменения в гипоталамо-гипофизарном звене регуляции продукции тестостерона и повышения чувствительности гонадостата к гормональным влияниям, реализуемым по механизму обратной связи. Положительные эффекты заместительной терапии андрогенами у пожилых мужчин должны достигаться подбором доз препаратов, не вызывающих гипертрофию предстательной железы, повышение содержания липидов крови и подавление эндогенной секреции тестостерона. Определяющую роль в половом поведении пожилых мужчин играют изменения нейромедиаторов оси гипоталамус — гипофиз — тестикулы. Библиогр. 17.

УДК 612.674.520.18

Симпатическая регуляция функции мозгового слоя надпочечников при старении / Сато А. // Физиол. журн.—1990.— 36, № 5.— С. 94—99.

Рассмотрены результаты исследований симпатoadреналовой функции надпочечников при старении у наркотизированных крыс линии Вистар. При вариабельности скорости секреции адреналина и норадреналина в надпочечниках животных в покое обнаружено постепенное ее увеличение, начиная с 300-суточного возраста, с 2—4-кратным повышением секреции в возрасте 800—900 сут по сравнению со 100-суточными. Спонтанная активность единичного симпатического нервного волокна в покое при старении повышалась аналогично увеличению скорости секреции катехоламинов. У взрослых (4 мес) и старых (26 мес) крыс линии Вистар в строго контролируемых условиях анестезии, частоты дыхания, температуры тела сравнивали рефлекторные реакции суммарной активности симпатических нервных волокон надпочечника на стимуляцию барорецепторов и кожных механорецепторов. В этих условиях рефлекторное угнетение в ответ на стимуляцию барорецепторов и почесывание (поглаживание) кожи, а также рефлекторное возбуждение в ответ на пощипывание кожи были вполне сохранены у старых крыс. Ил. 4. Библиогр. 17.

Влияние блокаторов Ca^{2+} - и K^{+} -каналов на АКТГ-стимулированный стероидогенез изолированных надпочечников взрослых и старых крыс / Горбань Е. Н. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 5.— С. 99—104.

Исследовано влияние блокатора Ca^{2+} -каналов верапамила (0,2 ммоль/л) и блокатора K^{+} -каналов 2-аминопиридина (1,0; 5,0 и 10,0 ммоль/л) на реактивность изолированных надпочечников (ИН) взрослых (6—7 мес) и старых (26—28 мес) крыс-самцов на АКТГ (10 Ед/мл). Верапамил приводил к одинаковому, примерно, двукратному уменьшению АКТГ-стимулированной секреции 11-ОКС ИН животных обеих возрастных групп. 2-Аминопиридин во всех использовавшихся концентрациях не влиял на АКТГ-стимулированную секрецию 11-ОКС ИН старых крыс, но в концентрациях 5,0 и 10,0 ммоль/л достоверно снижал АКТГ-стимулированный стероидогенез ИН взрослых животных. Высказано предположение о снижении с возрастом проницаемости плазматической мембраны адренокортикоцитов пучковой зоны для ионов K^{+} . Ил. 2. Библиогр. 17.

УДК 618.19—006.6—07—039.11

Изменения бета-адренергической регуляции сердечно-сосудистой системы при старении / Коркушко О. В. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 5.— С. 104—111.

Изучены особенности бета-адренергической регуляции сердечно-сосудистой системы у 40 практических здоровых людей в возрасте от 20 до 89 лет. Использовали однократные нагрузки анаприлином (0,6 мг/кг внутрь) и изадрином (10 мг сублингвально). Установлено, что при старении усиливается бета-адренергическая регуляция функции сердца. С возрастом усиливается отрицательное влияние бета-адренергической блокады на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы, что связано с более значительным угнетением влияния симпатической нервной системы на сердце, особенностями фармакокинетики анаприлина в старости. При старении снижается реакционная способность бета-адренергических механизмов регуляции функции сердца в ответ на их стимуляцию. Блокада бета-адренорецепторов в пожилом возрасте вызывает отчетливый эффект экономии в работе кардиореспираторной системы в условиях физической нагрузки, что связано с подавлением гиперактивности симпатической нервной системы и устранением избыточного напряжения системы АКТГ — кортизол на высоте субмаксимальной физической нагрузки. Табл. 2. Ил. 3. Библиогр. 16.

УДК 616.12—008.331.1—053.9

Гормональные механизмы регуляции уровня артериального давления и его гемодинамической структуры в старости / Токарь А. В., Ена Л. М., Мадич Л. В. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 5.— С. 111—116.

С возрастом прогрессирующее повышение общего периферического сопротивления артериальной системы определяет увеличение артериального давления (АД) в норме и при артериальной гипертензии. У практически здоровых людей поддержание АД осуществляется в условиях снижения системного объемного кровотока. Роль увеличенного сердечного выброса в формировании артериальной гипертензии с возрастом повышается. С возрастом и в большей мере с развитием артериальной гипертензии сопряжены меж- и внутрисистемные сдвиги гормональных систем — ренин-ангиотензин-альдостероновой и гипоталамо-надпочечниковой. Установлена связь между АД и его гемодинамической структурой и характером и выраженностью гормональных нарушений. Индивидуальная вариабельность АД в рамках нормальных значений связана с концентрацией гормонов надпочечников — альдостерона и кортизола. При артериальной гипертензии в формировании АД и типа гемодинамических нарушений повышается значение АКТГ и вазопрессина. Табл. 2. Библиогр. 13.

УДК 612.8:574.96:612.67

Влияние адрено- и холиноблокаторов на интенсивность биосинтеза РНК и белка печени взрослых и старых крыс / Безруков В. В., Мурадян Х. К. // Физиол. журн.— 1990.— 36, № 5.— С. 116—120.

Изучено влияние внутрибрюшинного введения некоторых α - и β -адреноблокаторов (дигидроэрготоксина, индерала) и М- и Н-холинолитиков (атропина, бензогексония) на захват меченых предшественников и их включение в белки и РНК печени наркотизированных этанолом взрослых и старых крыс. Показано, что в печени взрослых крыс фармакологическая блокада адрено- и холинорецепторов приводит к ослаблению захвата меченых предшественников РНК и белка. При этом нередко существенно увеличивается интенсивность транскрипции и трансляции, что может свидетельствовать о прямой нервной регуляции активности генома. У старых крыс влияние указанных блокаторов значительно слабее или его совсем нет. Полученные результаты свидетельствуют о возрастном ослаблении нервного контроля биосинтеза белка. Ил. 1. Библиогр. 7.

Авторам про жу

«Физиологический» актуальных проблем короткі повідомлення світової фізіології ідей та наукових дослідників, крім видання, наукову.

Рукописи (ма інісьською мовою) с рінці у лівому в ініціали та прі статті.

Обсяг рукописи нок, для оглядів ючи список літератури українською.

Вступ та розділи і з необхідним зультати та їх об'єкти, якщо такі є, ках з урахування тирьох, у коротко тографії) подають рацій не повинен цем зазначте її п ра, скорочену на писі на лівому бо мули хімічні та шинці з латинськ (дублікати подаю двома рисками зн вести червоним ко

Надсилаючи ного на Ваше ім'я

Редакція над пар за експеримен

Наш журнал contents».

Просимо пере «Союздрук» — 745

Авторам про журнал

«Физиологический журнал» публікує оригінальні та оглядові статті з актуальних проблем фізіології, патофізіології та теоретичної медицини, короткі повідомлення, методики, а також статті з історії вітчизняної та світової фізіології, в яких висвітлено виникнення та еволюцію наукових ідей та наукових шкіл, подано творчі портрети відомих та призабутих дослідників, крім того — дискусійні статті, рецензії на статті та на нові видання, наукову хроніку.

Рукописи (машинодрук через два інтервали російською або українською мовою) слід надсилати у двох примірниках. На першій сторінці у лівому верхньому куті позначається шифр УДК, під ним — ініціали та прізвище (прізвища) автора (авторів), нижче — назва статті.

Обсяг рукопису не повинен перевищувати: для статей — 14 сторінок, для оглядів — 25 сторінок, для інших — до 5 сторінок (включаючи список літератури, таблиці, рисунки). Реферат (не більше 0,5 сторінки українською або російською і обов'язково англійською мовами).

Вступ та розділ «Методика» повинні бути лаконічними, зрозумілими і з необхідними покликаннями на наукові джерела. У розділі «Результати та їх обговорення» слід уникати прямих повторень даних таблиць, якщо такі є. Таблиці мають бути надруковані на окремих сторінках з урахуванням загальноприйнятих вимог. У статті — не більше чотирьох, у короткому повідомленні — один — два рисунки. Рисунки (фотографії) подаються чіткими і контрастними. Другий екземпляр ілюстрацій не повинен мати позначень. На звороті кожної ілюстрації олівцем зазначте її порядковий номер за текстом, прізвище першого автора, скорочену назву статті; на мікрофото — його верх і низ. У рукописі на лівому боці сторінки позначте місце таблиць і рисунків. Формули хімічні та математичні бажано подавати надрукованими на машинці з латинським шрифтом або чітко вписати чорним кольором (дублікати подаються на окремій сторінці); великі літери позначити двома рисками знизу (V, M), малі — зверху (v, m); літери грецькі обвести червоним кольором.

Надсилаючи рукопис до редакції, вкладіть конверта, заадресованого на Ваше ім'я.

Редакція надсилає авторам відбитки опублікованих статей. Гонорар за експериментальні статті не виплачується.

Наш журнал індексує міжнародне довідкове видання «Current contents».

Просимо передплатити наш і Ваш журнал. Його індекс у каталозі «Союздрук» — 74523.

ПЕЧЕНЬ И ИММУНИТЕТ
С. И. Павлович,

В книге обобщены данные о реактивности и ее генерации. Авторы рассуждают о мнении иммунной этиологии (обеспечения). Простота ответа, гиперчувствительности селезенки и лимфоидными структурами на реактивности при

Для медики

МИОГЛОБИН: С
родуб, В. Н. Ко

В монографии и белков. Приведе пекте, Обсуждае уделено молеку процесса в инта логи. Предложн ей среды с уча

Для биохимических исследований, аспирантов, студентов.
Заказать эти препараты можно по телефону 044-453-11-11.
Киев-1, ул. Кирова, 10. Оплата наличными или банковским платежом.

Индивидуал
где указывается
земпляров и ад
низации и пред
Прием пре
месяца до выхо
Своевремен
шей Вас книги.

Відень

Дата: Жовтень 21—25, 1990

Мова: англійська, німецька, українська

Registration: Ingrid Rauch, 1st Department of Surgery, University of Vienna, Alser
Strabe 4, A-1090 Vienna, Tel. (0222) 40400/4004 Fax: 48 72 45

ПЕЧЕНЬ И ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКТИВНОСТЬ / И. Н. Алексеева, Т. М. Брызгина, С. И. Павлович, Н. В. Ильевич.— 12 л.— 2 р. 60 коп. План 1991 № 494 (3 кв.).

В книге обобщены данные литературы о путях влияния печени на иммунологическую реактивность и об участии иммунных механизмов в повреждении печени и ее регенерации. Авторы представляют также результаты собственных исследований об изменении иммунореактивности при экспериментальном повреждении печени различными этиологиями (токсическом, иммунном, вызванном нарушением воротного кровоснабжения). Проанализированы изменения различных звеньев гуморального иммунного ответа, гиперчувствительности замедленного типа, а также гистоструктуры тимуса, селезенки и лимфоузлов. Изменения иммунных показателей соотносились с гистоструктурными нарушениями в печени. Обсуждаются механизмы изменения иммунореактивности при патологии печени.

Для медиков, биологов, физиологов, патофизиологов, иммунологов, гепатологов.

МИОГЛОБИН: СТРУКТУРА, СВОЙСТВА, СИНТЕЗ, БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ / Н. Ф. Стародуб, В. Н. Коробов, В. И. Назаренко.— 20 л.— 4 р. 30 к. План 1991. № 320 (III кв.).

В монографии изложены сведения о методах и средствах анализа гемсодержащих белков. Приведены данные о структуре, свойствах миоглобина в эволюционном аспекте. Обсуждается роль его в обеспечении тканей кислородом. Особое внимание уделено молекулярно-биологическим аспектам синтеза миоглобина, регуляции этого процесса в интактном организме, в условиях недостаточности кислорода и при патологии. Предложен механизм биохимической адаптации организма к условиям внешней среды с участием дыхательных белков.

Для биохимиков, молекулярных биологов, физиологов, медиков, а также преподавателей, аспирантов и студентов вузов.

Заказать эти издания можно в магазине издательства «Наукова думка» (252001 Киев-1, ул. Кирова, 4), который высылает книги иногородним заказчикам наложенным платежом.

Индивидуальные покупатели должны оформлять заказы на почтовых открытках, где указывается автор и название книги, номер по плану, необходимое число экземпляров и адрес, по которому должно быть отправлено заказное издание. Организации и предприятия оформляют заказы гарантийными письмами.

Прием предварительных заказов в магазине издательства прекращается за три месяца до выхода издания в свет.

Своевременное оформление заказов — гарантия приобретения заинтересовавшей Вас книги.

1р.40н.

ИНДЕНС 74523

мисл. 61

Физиологический журнал

ТОМ 36 5 1990

ISSN 0201-8488. Физиол. журн. 1990. Т. 36, № 5, 1—128
НАУКОВА ДУМКА