НЕЙРОХИМИЯ

т. 5, № 1, 1986

УДК 576.343:612.82:612.67

ВЛИЯНИЕ АЦЕТИЛХОЛИНА И НОРАДРЕНАЛИНА НА АКТИВНОСТЬ Na^+, K^+-АТРазы СИНАПТИЧЕСКИХ МЕМБРАН ГОЛОВНОГО МОЗГА ВЗРОСЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС

ПОТАПЕНКО Р. И.

Институт геронтологии АМН СССР, Киев

Изучение возрастных особенностей функционирования транспортной Na^+, K^+-АТРазы (КФ 3.6.1.3) синаптических мембран (СМ) имеет важное значение для раскрытия механизмов изменения функциональной активности головного мозга в старости [1]. Это объясняется тем, что Na^+, K^+ -АТРаза связана с передачей нервных импульсов, процессами возбуждения и торможения. Имеющиеся данные об активности Na^+, K^+-АТРазы СМ в старости малочисленны и противоречивы [2—4]. В литературе нет сведений о каких-либо возрастных особенностях регуляции активности АТРазы нейромедиаторами, с которыми она находится в сложном взаимодействии. Вместе с тем, имеются указания на существенные изменения при старении нейромедиаторных систем, выражающиеся в снижении синтеза, выделения и обратного захвата медиаторов [5, 6].

Целью настоящего исследования явилось определение активности Na^+, K^+-АТРазы СМ коры больших полушарий и ствола головного мозга взрослых и старых крыс и изучение влияния на неё АХ и норадреналина (НА).

В работе использовали 7—8-месячных (взрослые) и 26—27-месячных (старые) беспородных крыс-самцов. Синаптосомы выделяли из 10%-ных гомогенатов коры и ствола мозга на 0,32 М сахарозе, содержащей 0,01 М трис и 0,005 М ЭДТА (pH 7,5) по методу Hajos [7]. СМ получали, подвергнув синаптосомы гипотоническому шоку путем инкубации в деионизированной воде (0°, 30 мин). Белок определяли модифицированным методом Lowry и соавт. [8]. СМ замораживали при—20° и хранили не более 2-х суток. Общую АТРазную активность определяли путем инкубации в среде следующего состава (мМ): трис—50, NaCl—100, KCl—20, $MgCl_2$—3, АТР—3, pH 7,5, 50—60 мкг белка СМ. Активность Mg^{2+}-АТРазы измеряли в отсутствие ионов натрия. АХ, НА и прозерин (0,05%, 0,02 мл) вносили в пробы после преинкубации без субстрата в течение 5 мин при 37°. Об АТРазной активности судили по накоплению P_i [9]. Активность Na^+, K^+-АТРазы рассчитывали как разность между общей и Mg^{2+}-АТРазной активностями и выражали в мкмоль Pi/мг белка/ч.

Установлено, что активность Na^+, K^+-АТРазы СМ из коры больших полушарий и ствола мозга отличается по величине и с возрастом крыс существенно не изменяется (взрослые: кора—20,2±1,6, ствол—27,5±1,9; старые—соответственно 17,4±1,4 и 25,9±1,8). Характер влияния исследованных нейромедиаторов на активность Na^+, K^+-АТРазы оказался сходным и определялся их концентрацией, однако имелись и некоторые возрастные особенности. Как следует из рис. *а*, было подтверждено, что АХ в низких концентрациях (10^{-7}—10^{-3} М) активировал фермент, в высоких (10^{-2}М)—угнетал у крыс обеих возрастных групп. Однако необходимо отметить, что если ингибирующий эффект этого медиатора у взрослых и старых животных был одинаков, то активация Na^+, K^+-АТРазы под его влиянием у старых крыс была менее выражена и не зависела от концентрации в интервале

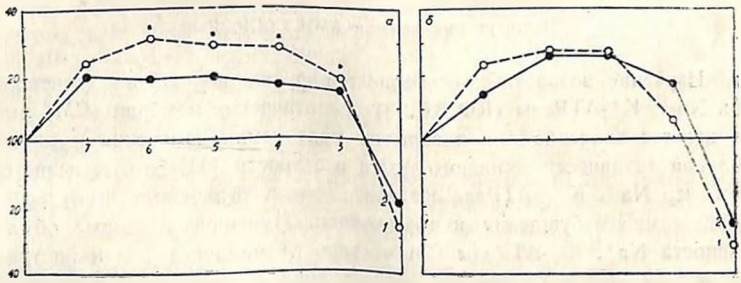

Рис. Влияние АХ (*а*) и НА (*б*) на активность Na^+, K^+-АТРазы синаптических мембран головного мозга крыс разного возраста. По оси абсцисс—lg [АХ], М (*а*) и lg [НА], М (*б*), по оси ординат—изменение активности Na^+, K^+-АТРазы в % по отношению к исходному уровню, принятому за 100%. *1*—взрослые крысы, *2*—старые крысы. *—статистически значимые различия между взрослыми и старыми животными

10^{-7}—10^{-3}М. У взрослых крыс повышение концентрации АХ в среде от 10^{-7} до 10^{-6}М сопровождалось увеличением активирующего влияния (с 24 до 31%, $p<0,05$) с последующей стабилизацией эффекта (10^{-6} — 10^{-4} АХ) и дальнейшим ослаблением активации до 21% ($p<0,05$) при концентрации АХ 10^{-3} М. В концентрации $5\cdot10^{-3}$ М АХ наряду с активацией вызывал у отдельных особей угнетение активности Na^+, K^+-АТРазы, одинаковое у взрослых и старых крыс. Результаты исследования на взрослых крысах находятся в полном соответствии с данными других авторов [10, 11].

Кривая, отражающая влияние НА на активность Na^+, K^+-АТРазы СМ из ствола мозга, как и в случае с АХ, имеет двухфазный характер (рис. *б*). В низких концентрациях НА (10^{-7}—10^{-4}М) повышал, а в высоких (10^{-3}М)—понижал ее активность. Максимальная величина активации и ингибирования Na^+, K^+-АТРазы у крыс обоих возрастов была одинаковой и составляла в среднем 30%. Некоторые возрастные особенности влияния НА были обнаружены при концентрации НА

10^{-4} М. В отличие от животных зрелого возраста, у которых активацию Na^+, K^+-АТРазы наблюдали лишь в 43% случаев, у старых крыс НА в указанной концентрации повышал активность фермента у подавляющего большинства (83%).

Таким образом, активность Na^+, K^+-АТРазы СМ из коры больших полушарий и ствола головного мозга в старости сохранялась на уровне, соответствующем крысам зрелого возраста, однако изменялись ее регуляторные свойства. Особенно существенна перестройка с возрастом регуляции АХ активности Na^+, K^+-АТРазы, выражавшаяся в ослаблении активации ее этим медиатором в старости. Это согласуется с имеющимися данными о сравнительно большем повреждении в процессе старения холинергической системы регуляции, являющейся эволюционно наиболее древней [12].

Возрастные особенности эффекта АХ на активность Na^+, K^+-АТРазы в старости могут быть обусловлены рядом причин. Анализ собственных фактических данных и данных литературы [13, 14] позволяет высказать предположение, что наиболее вероятной причиной снижения активирующего влияния АХ на Na^+, K^+-АТРазу в старости может быть уменьшение плотности мускариновых рецепторов на мембране. Вместе с тем нельзя не учитывать и изменения при старении липидного состава и свойств СМ [15, 16], с которыми, в частности, могут быть связаны и некоторые особенности регуляторного воздействия НА на АТРазу у старых крыс. Не исключено, что ослабление активирующего влияния АХ на активность Na^+, K^+-АТРазы является одной из причин, приводящих к снижению памяти и способности к обучению, наблюдаемых у старых животных [17].

EFFECT OF ACETYLCHOLINE (ACh) AND NORADRENALINE (NA) ON THE ACTIVITY OF BRAIN SYNAPTIC MEMBRANE Na^+, K^+-ATPase IN GROWN UP AND SENILE RATS

POTAPENKO R. I.

Institute of Gerontology, Academy of Medical Sciences of Ukr. SSR, Kiew

Activity of synaptic membrane Na^+, K^+-ATPase in brain cortex and truncus cerebri has not been changed on ageing. A two-step effect of neurotrasmitters on the activity of this enzyme has been detected: low doses of ACh (10^{-7}—10^{-4} M) and NA (10^{-7}—10^{-5} M) activate and high doses (10^{-2} M and 10^{-3} M respectively) inhibit Na^+, K^+-ATPase. On ageing the activating effect of ACh is diminished, but the effect of NA does not change significantly.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Фролькис В. В. Безруков В. В.* Физиол. человека, т. 4, № 4, с. 596—619, 1978.
2. *Sun A. Y., Samorajski T.* J. Neurochem., v. 24, p. 161—164, 1975.
3. *LaManna J. C., Doull G., McCraken K., Hartk S. I.* Gerontol., v. 29, № 4, p. 242—247, 1983.
4. *Calderini G., Bonetti A. Ch., Battistella A., Crews E. T., Toffano G.* Neurochem. Res., v. 8, № 4, p. 483—492, 1983.
5. *Bartus R. T., Fleming D. L., Johnson H. R.* J. Gerontol., v. 33, p. 858—871, 1978.
6. *Априкян Г. В., Шагинян В. А., Мкртчян Г. А., Паронян Ж. А., Кнарян В. А., Ахвердян Э. С.* Физиол. журн. СССР, т. 30, № 1, с. 69—73, 1984.
7. *Hajos F.* Brain Res., v. 93, № 3, p. 485—489, 1975.
8. *Markwell M. A. K., Haas S. M., Rieber L. L., Tolbert N.* Anal. Biochem., v. 87, p. 206—210, 1978.
9. *Ratbun W., Betlach V.* Anal. Biochem., v. 28, p. 436—445, 1968.
10. *Глебов Р. Н., Дмитриева Н. М.* Биохимия, т. 39, с. 822—827, 1974.
11. *Кометиани З. П., Джариашвили Т. Я., Цакадзе Л. Г.* Биохимия, т. 40, с. 1039—1046, 1975.
12. *Strong R., Hicks P., Hsu L., Bartus R. T., Enna S. J.* Neurobiol. of ageing, v. 1, № 1, p. 59—63, 1980.
13. *Болдырев А. А.* Биохимические аспекты электромеханического сопряжения. М., МГУ, 1977.
14. *Briggs R. S., Petersen M. M., Cook P. I.* Neurobiol. of ageing, v. 3, p. 259—261, 1982.
15. *Аксенцев С. Л., Милютин А. А., Беляева Е. И., Буланова К. Я., Окунь И. М., Ракович А. А., Кисилев П. А., Кирилюк А. П., Конев С. В.* Биофизика, т. 27, с. 650—652, 1982.
16. *Nagy K., Zs-Nagy V., Bertoni-Freddari C., Zs-Nagy I.* Arch. Gerontol. and geriatr., v. 2, № 1—2, p. 23—39, 1983.
17. *Le Poncin-Lafitte M., Lamproglou Y., Duterte D., Rapin J. R.* Eur. Neurol. v. 22, № 2, p. 13—14, 1983.

Поступила 20. XII. 1985.