

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 577.158.2+616.895.84+612.821.7

©Н.Н.Войтенко

МОНОАМИНОКСИДАЗА МОЗГА ПРИ СТАРЕНИИ У ПРЕЖДЕВРЕМЕННО СТАРЕЮЩИХ КРЫС ЛИНИИ OXYS

Н.Н.ВОЙТЕНКО

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской
Академии наук, 630090, Новосибирск, проспект Лаврентьева 10;
Факс (3832)331278

Изучались крысы линии OXYS с генетически детерминированными признаками преждевременного старения и крысы линии OXYR без таковых признаков. 8-ми месячные крысы линий OXYS и OXYR характеризовались сходной активностью и регуляцией активности на уровне транскрипции А и Б типов МАО в стволе мозга. В полушариях 8-ми месячных крыс линии OXYS активность МАО А была выше, чем у крыс OXYR. Эмоциональный стресс не влиял ни на МАО А, ни на МАО Б ствола мозга крыс обеих линий и понижал активность МАО А в полушариях крыс линии OXYS.

Ключевые слова: мозг, моноаминоксидаза, старение, преждевременно стареющие крысы OXYS.

ВВЕДЕНИЕ. Работа, выполненная нами ранее на животных разных генотипов, показала, что старение МАО мозга зависит от генотипа особи, регулируется на уровне транскрипции, а в позднем онтогенезе происходит смена генетических программ молекулярных механизмов регуляции активности МАО мозга [1].

Эти данные были получены на животных с типичным для вида темпом старения. Как изменяется МАО мозга при старении у особей, обладающих признаками преждевременного старения [2], известно не было. Предыдущие

работы [3] показали, что молодые 4-х месячные крысы OXYS [4] с признаками преждевременного старения отличаются от физиологически стареющих крыс Вистар [5] тем, что у них не отмечено повышения активности МАО Б в мозге, характерного для физиологически стареющих крыс Вистар.

Линия крыс OXYS с признаками преждевременного старения [2] явилась перспективной моделью для изучения влияния старения на МАО мозга в сравнении с крысами OXYR [4], не обладающими признаками преждевременного старения.

Цель настоящей работы заключалась в том, чтобы, во-первых, выявить влияние старения на активность А и Б типов МАО в стволе и в полушариях мозга у преждеременно стареющих крыс линии OXYS в сравнении с крысами линии OXYR без признаков преждевременного старения. Во-вторых, изучить у преждеременно стареющих крыс OXYS в период старения в возрасте 8 мес влияние стресса на А и Б типы МАО, а также на регуляцию активности А и Б типов МАО на уровне транскрипции в стволе и в полушариях мозга в покое и при эмоциональном стрессе.

МЕТОДИКА. Изучались самцы крыс линии OXYS с признаками преждевременного старения в сравнении с крысами OXYR без признаков преждевременного старения, селекционированные в ИЦиГ СО РАН [2]. Преждеременно стареющие крысы OXYS селекционировались из аутбредной линии крыс Вистар по признаку высокой чувствительности к катарактогенному действию богатой галактозой диеты и вначале рассматривались как модель генетически детерминированной галактоземии [2]. Одновременно проводили селекцию по противоположному признаку - устойчивости к катарактогенному действию высокого содержания галактозы в диете. После того, как было показано, что преждеременно стареющие крысы характеризовались повышенной генерацией свободных гидроксильных радикалов [2], эта линия крыс была зарегистрирована под названием OXYS, а контрольная линия крыс, не проявлявшая признаков преждевременного старения, была зарегистрирована под названием OXYR [4]. С 1996 г [4] преждеременно стареющие крысы, чувствительные (sensitive) к высокому содержанию галактозы в диете, называются OXYS, а крысы, устойчивые (resistant) к высокому содержанию, галактозы в диете называются OXYR [4].

В первой серии экспериментов изучали активность А и Б типов МАО в стволе и в полушариях мозга у интактных 4 мес. крыс линии OXYS и OXYR в сравнении с интактными 8 мес крысами этих линий для выявления влияния старения на активность А и Б типов МАО. В другой серии экспериментов на крысах OXYS и OXYR линий изучали влияние стресса на активность А и Б типов МАО, регуляцию активности на уровне транскрипции А и Б типов МАО в стволе и в полушариях мозга 8 мес крыс OXYS и OXYR линий в покое и при эмоциональном стрессе. Возраст крыс 8 месяцев был выбран как возраст старения крыс, когда появляются необратимые изменения в работе половых желез и в механизмах регуляции этих желез [6]. Животные содержались в индивидуальных клетках в течение 48 ч перед экспериментом при свободном доступе к воде и корму. Световой режим соответствовал сезону. Опыты проводились в 8-9 ч. Эмоциональный стресс вызывали содержанием крыс в тесных пластиковых клетках в течение 60 мин [7]. Контролем служили крысы, находившиеся в это

время в своих домашних клетках. В параллельной серии экспериментов за 60 мин до помещения крыс в тесную клетку экспериментальным животным внутрибрюшинно вводили 10 мкг на 100 г массы тела [8] актиномицин Д "Fluka", (Германия). Контролем служили крысы, получавшие актиномицин Д без последующего ограничения подвижности. Крыс декапитировали. Мозг быстро выделяли на холоде. Методом дифференциального центрифугирования гомогената ткани мозга в 0,32 М сахарозе выделяли суммарную фракцию митохондрий P2, содержащую MAO. Активность MAO определяли по образованному в процессе дезаминирования моноаминов аммиаку [9]. Субстратом MAO А служил 1 мМ серотонин, а субстратом MAO Б – 1 мМ бензиламин. Активность MAO выражали в нмоль аммиака на мг белка за минуту. Белок определяли по методу Лоури. Статистическую обработку результатов проводили по Стьюденту.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Полученные в настоящем исследовании данные (рис.), как и предыдущие [3], свидетельствуют о том, что преждевременно стареющие крысы OXYS в возрасте 4-х месяцев обладают более низкой активностью MAO А в стволе мозга по сравнению с крысами OXYR (рис.), не обладающими признаками преждевременного старения. С возрастом это соотношение изменяется и у 8-ми месячных крыс стирается различие в активности MAO А в стволе мозга между OXYS и OXYR крысами. У 8-ми месячных крыс OXYS активность MAO А в полушариях становится повышенной по сравнению с крысами OXYR (рис.).

Активность MAO Б в стволе и в полушариях мозга у крыс OXYS и OXYR не различалась ни в молодом возрасте, ни в период старения в возрасте 8-ми месяцев.

Актиномицин Д (ингибитор ДНК-зависимой РНК-полимеразы) понижал активность MAO А в стволе как у крыс линии OXYR, так и у крыс линии OXYS (табл.). Кроме того, актиномицин Д понижал активность MAO А у крыс OXYS еще и в полушариях мозга (табл.).

Действие актиномицина Д на MAO Б ствола мозга крыс OXYR и OXYS было сходным: актиномицин Д понижал активность MAO Б как у преждевременно стареющих крыс OXYS, так и у крыс OXYR без признаков преждевременного старения (табл.). Наряду с этим актиномицин Д повышал активность MAO Б в полушариях у крыс OXYR (табл.)

Эмоциональный стресс не оказывал существенного влияния на активность MAO А и Б ствола мозга обеих линий крыс (табл.). В полушариях мозга эмоциональный стресс понижал активность MAO А у крыс OXYS и не влиял на MAO А у крыс OXYR (табл.). Необходимо отметить, что актиномицин Д предотвращал ингибирующее действие стресса на MAO А в полушариях OXYS крыс (табл.).

Полученные данные показали, что характерной особенностью 8 месячных крыс OXYS, обладающих признаками преждевременного старения, и контрольных крыс линии OXYR, не обладающих признаками преждевременного старения, является то, что у этих двух линий крыс активность MAO Б с возрастом не повышалась (рис.), как у крыс Вистар [5], поскольку MAO типа Б у 4 и 8 мес. крыс линий OXYS и OXYR в стволе и в полушариях мозга была сходной.

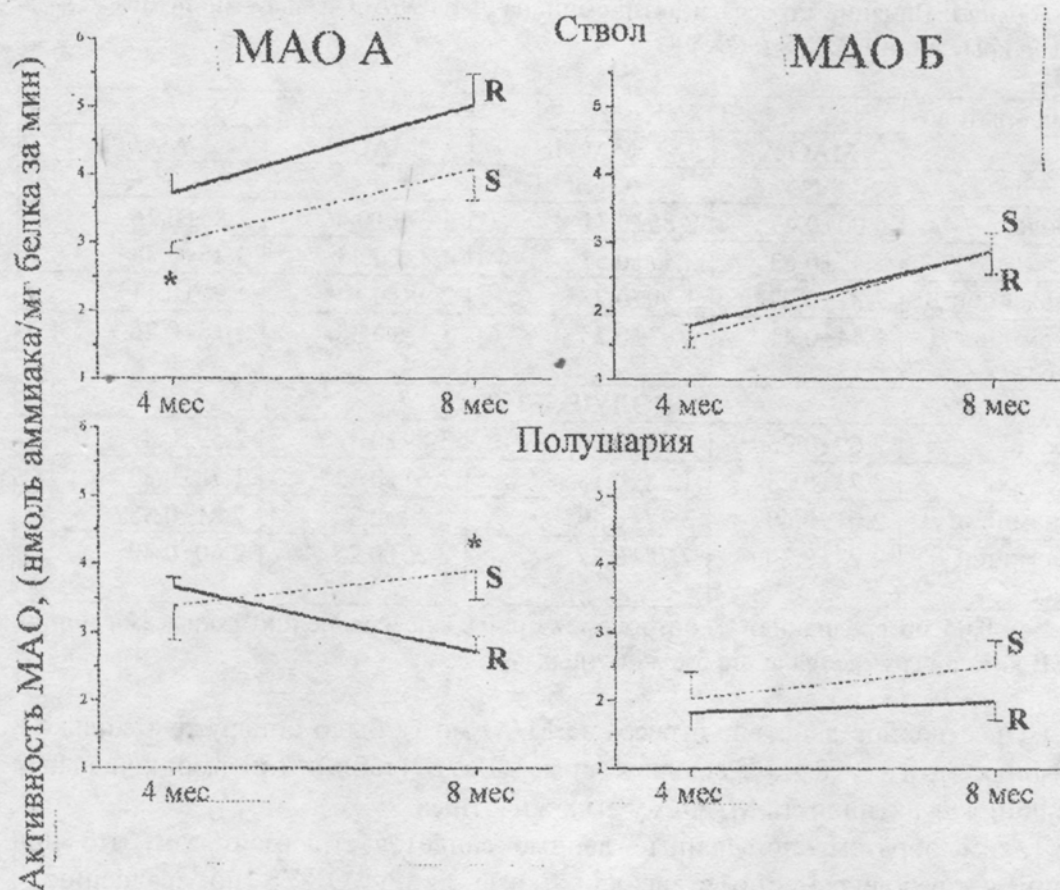


Рисунок.

Активность MAOA и MAOB мозга 4-х и 8-ми месячных крыс линий OXYs и OXYR. R - крысы OXYR линии с типичным для вида темпом старения. S- крысы OXYs линии с признаками преждевременного старения. * - $p < 0,05$ по сравнению с крысами линии OXYR. В каждой серии было по 6 животных.

Сходство активности MAO B в стволе мозга у 8-ми месячных крыс OXYR и OXYs линий может отражать сходство механизмов регуляции активности MAO B на уровне транскрипции (табл.). Так, актиномицин Д понижал активность MAO B в стволе мозга обеих линий крыс. Эти данные дают основание предположить, что актиномицин Д тормозил синтез мРНК, кодирующей белок-активатор гена конститутивной MAO B как у OXYs, так и у OXYR линий крыс, в результате чего под влиянием актиномицина Д снижалась активность MAO B в стволе мозга [10-13].

В то же время разнонаправленность вызванных актиномицином Д сдвигов активности MAO B в полушариях и стволе мозга OXYR требует дальнейших исследований.

Итак, при старении (в возрасте 8-ми месяцев) между крысами OXYs с признаками преждевременного старения и крысами OXYR без признаков преждевременного старения сгладились различия в активности MAO A в стволе и появились в полушариях - активность MAO A у крыс OXYR стала ниже, чем у крыс OXYs. Различия в активности MAO B между крысами OXYs и OXYR в возрасте 8-ми месяцев замечены не были ни в стволе, ни в полушариях мозга.

Таблица. Влияние стресса и актиномицина Д на МАО А и Б типов мозга 8-ми месячных крыс линий OXYR и OXYS.

Серии опытов	OXYR		OXYS	
	МАО А	МАО Б	МАО А	МАО Б
СТВОЛ				
Контроль	5,00±0,47	2,85±0,31	4,07±0,46	2,89±0,26
Стресс	4,47±0,63	3,47±0,51	4,82±0,45	3,25±0,33
Актиномицин Д	2,81±0,27*	1,90±0,23*	2,98±0,14*	1,90±0,11*
Актиномицин Д + стресс	3,44±0,41	1,93±0,25	3,38±0,38	2,18±0,26
ПОЛУШАРИЯ				
Контроль	2,69±0,25#	1,98±0,26	3,89±0,42	2,52±0,37
Стресс	2,73±0,25	1,68±0,18	2,61±0,32*	1,78±0,28
Актиномицин Д	2,01±0,49	3,27±0,49*	2,32±0,32*	2,81±0,35
Актиномицин Д + стресс	2,23±0,20	2,78±0,27	2,25±0,25	2,60±0,42

*-p<0,05 по сравнению с контролем. #- p<0,05 по сравнению с крысами линии OXYR. В каждой группе было по 5-6 животных.

Существенное действие стресса на МАО мозга было обнаружено только в полушариях мозга у 8-ми месячных крыс OXYS (табл.), т.к. эмоциональный стресс снижал активность МАО А у этих животных.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что при старении у преждевременно стареющих крыс линии OXYS по сравнению с контрольными крысами OXYR без признаков преждевременного старения происходят изменения в активности только МАО А, которые выражаются в исчезновении различия в активности МАО А в стволе и в появлении различия в полушариях. Кроме того, крысы OXYS реагируют на эмоциональный стресс снижением активности МАО А, в то время как у крыс OXYR активность МАО А при стрессе оставалась неизменной. В отличие от 8-ми месячных крыс OXYS введение актиномицина Д 8-ми месячным крысам OXYR приводило к парадоксальному увеличению активности МАО Б в полушариях.

В заключение следует сказать, что в имеющихся литературных источниках о старении МАО мозга не учитывались влияния генотипа особи, фенотип которого реализуется патологическим состоянием организма, на активность и регуляцию активности на уровне транскрипции МАО мозга. Наши данные настоящего исследования и предыдущие данные [1], полученные на крысах Вистар, селекционированных из крыс Вистар крысах РМ+ с генетически детерминированными стереотипными маятникообразными движениями головы и плечевого пояса и крысах РМ- без таковой генетически детерминированной стереотипии, впервые выявили существенную роль генотипа изучавшихся особей в неоднородном изменении активности МАО мозга при старении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Войтенко Н.Н., Барыкина Н.Н., Колпаков В.Г. (1999) Вопросы мед.химии, **3**, 216-222.
2. Salganik R.I., Solovyova N.A., Dikalov S.I., (1994) Biochem. Biophys. Res. Commun., **199**, 726-733.
3. Войтенко Н.Н., Попова Н.К., Соловьева Н.А и др. (1997) Нейрохимия. **14**, 273-278.
4. Salganik R.I. (1996) Rat Genome, **2**, N2, 52-54.
5. Войтенко Н.Н., Попова Н.К. (1991) Вопросы мед.химии, **37**, 29-31
6. Meites J.(1988) Exper.Gerontology. **23**, 349-358. .
7. Попова Н.К., Войтенко Н.Н., Маслова Л.Н. (1989) Вопр. мед.химии. **35**, N4, 114-119.
8. Gandhi B.C., Kanungo M.S. (1974).Indian J.Biochem.Biophys. **11**, 102-104
9. Горкин В.З., Веревкина И.В.,Гриднева Л.И. и др.(1968) Современные методы в биохимии, М. Медицина, с. 155-177.
10. Jahng J.W., Houpt T.A., Wessel T.C. (1997) Synapse, **25**, 30-36
11. Luque J.M., Kwan S.-W., Abell C.W. (1995) The J.Comp. Neurology, **363**, 665-680.
12. Luque J.M., Bleuel L. Hendricson A. (1996) Mol.Brain Res., **36**, 357-360.
13. Умрюхин П.Е. (2000) Успехи физиол. наук, **31**, N1, 54-70.

Поступила 8.11.00

BRAIN MONOAMINE OXIDASE IN PREMATURELY AGING OXYS RATS.

VOITENKO N.N.

Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Acad.Sci.,
Lavrenteva 10 av., 630090, Novosibirsk, Russia. Fax:(3832)331278

Rats OXYS with manifestations of genetically determined premature aging and OXYR free from these manifestation were studied. Eight month old OXYS and OXYR rats were characterized by similar brain stem MAO A and MAO B activities and their control at the transcription level. In hemispheres of 8 month old OXYS rats MAO A activity was higher than in OXYR. Emotional stress did not affect either MAO A or MAO B in brain stem of the two strains, and lowered MAO A activity in hemispheres of OXYS rats.

Key words: brain, monoamine oxidase, aging, premature aging.