

УДК 612.826.4.014.2-001:612.67

Т.А.Дубилей, Ю.Е.Рушкевич

ВЛИЯНИЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ВЕНТРОМЕДИАЛЬНОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА И ЛАТЕРАЛЬНОЙ ГИПОТАЛАМИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ СТАРЫХ КРЫС

Лаборатория физиологии (зав. – чл.-кор. АМН Украины В.В.Безруков)
ГУ “Институт геронтологии АМН Украины”, г. Киев

Резюме. В опытах на 20-мес. крысах-самцах Вистар изучали влияние электролитического повреждения вентромедиального ядра гипоталамуса (ВМЯ), латеральной гипоталамической области (ЛГО), а также обеих структур на возрастную динамику массы тела, концентрацию гормонов в плазме крови и остаточную продолжительность жизни (ПЖ). Повреждение ВМЯ сопровождалось избыточным приростом массы тела, гиперинсулинемией, снижением уровня ТТГ, а также уменьшением максимальной ПЖ животных. Повреждение ЛГО вызывало снижение массы тела с последующим ее повышением, увеличивало концентрацию АКТГ, а также снижало выживаемость, не изменяя максимальную ПЖ. Совместное повреждение ВМЯ и ЛГО приводило к

кратковременному увеличению массы тела с последующим ее уменьшением, снижало концентрацию инсулина и увеличивало уровень ТТГ, а также сокращало среднюю и максимальную ПЖ животных. Полученные результаты свидетельствуют о неблагоприятном влиянии повреждения ВМЯ и ЛГО на жизнеспособность старых крыс, которое может быть обусловлено развитием эндокринной патологии, специфичной для локализации повреждения.

Ключевые слова: вентромедиальное ядро гипоталамуса, латеральная гипоталамическая область, электролитическое повреждение, продолжительность жизни, крысы.

Введение. На протяжении последних пятидесяти лет гипоталамус привлекает внимание геронтологов как объект исследования центральных механизмов старения и возможных путей увеличения продолжительности жизни (ПЖ). Ключевая роль данного отдела мозга в регуляции важнейших аспектов жизнедеятельности, а также сходство клинических проявлений его патологии с возрастными морфофункциональными изменениями послужили основой для разработки ряда “гипоталамических” теорий старения. Несколько лет назад нами получены прямые экспериментальные доказательства модулирующего влияния гипоталамических структур на темп старения и ПЖ животных. Оказалось, что длительная электрическая стимуляция расположенной в латеральной гипоталамической области (ЛГО) зоны награды улучшает выживаемость и увеличивает остаточную максимальную ПЖ старых крыс, тогда как стимуляция вентромедиального ядра (ВМЯ), зоны наказания, приводит к противоположному эффекту [1]. Последствия повреждения этих структур на возрастную динамику смертности животных до настоящего времени оставались не исследованными.

Цель исследования. Изучить влияние электролитического повреждения ВМЯ, ЛГО, а также их совместного повреждения на жизнеспособность старых крыс.

Материал и методы. Опыты проведены на 20-месячных самцах крыс Вистар, разделенных на 4 группы: повреждение ВМЯ, повреждение ЛГО, повреждение обеих структур и контроль (ложная операция). Эксперименты выполнены с соблюдением международных принципов Хельсинской декларации о гуманном обращении с животными. Билатеральное электролитическое повреждение структур гипоталамуса осуществляли под нембуталовым наркозом (40 мг/кг внутривенно) пропускани-

ем в течение 20 с постоянного анодного тока силой 1 мА (для ВМЯ) либо 0,5 мА (для ЛГО). Стереотаксические координаты для ВМЯ составляли: А=-2,6; L=0,5; Н=9,6, для ЛГО, соответственно, -4,2; 1,6 и 8,8 [9]. Концентрацию АКТГ, ТТГ и инсулина определяли с помощью коммерческих радиоиммунологических наборов в плазме крови, взятой из кончика хвоста под легким эфирным наркозом через 100 сут. после операции. Максимальную ПЖ вычисляли как средний возраст 20 % наиболее долгоживущих особей в группе. Статистическую значимость различий оценивали при помощи t-критерия Стьюдента. Для сравнения кривых выживаемости использовали критерий Гехана-Бреслоу [2].

Результаты исследования и их обсуждение. Повреждение ВМЯ и ЛГО привело к уменьшению жизнеспособности старых крыс (рис. 1, табл. 1).

Так, повреждение ВМЯ уменьшило максимальную ПЖ (-13 %), практически не оказав влияния на среднюю ПЖ и выживаемость; повреждение ЛГО привело к снижению выживаемости ($\chi^2=4,71$; $P<0,05$), не оказав существенного влияния на среднюю и максимальную ПЖ; совместное повреждение ВМЯ и ЛГО вызвало снижение выживаемости ($\chi^2=5,75$; $P<0,05$), сокращение средней (-35 %) и максимальной ПЖ (-16 %).

В результате повреждения ВМЯ и ЛГО у крыс изменялись масса тела (рис. 2) и концентрация гормонов в плазме крови (табл. 2).

Повреждение ВМЯ вызвало увеличение массы тела, повышение концентрации инсулина и снижение уровня ТТГ. Повреждение ЛГО привело к уменьшению массы тела с последующим ее увеличением, а также к росту концентрации АКТГ. Совместное повреждение ВМЯ и ЛГО сопровождалось кратковременным приростом массы тела с последующим ее уменьшением, а также снижением концентрации инсулина и повышением уровня ТТГ.

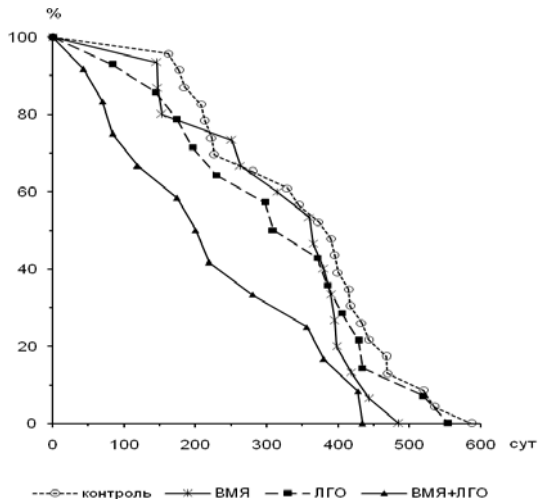


Рис. 1. Кривые выживания крыс с повреждением вентромедиального ядра гипоталамуса и латеральной гипоталамической области

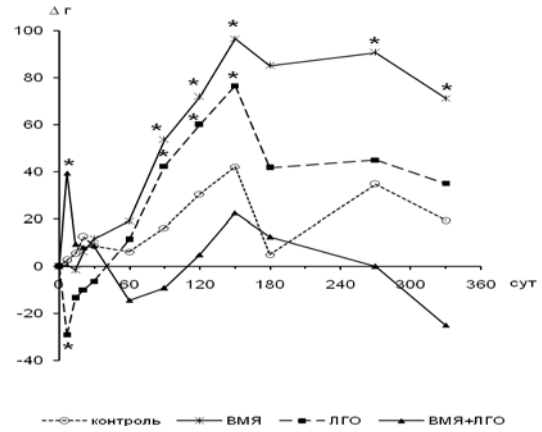


Рис. 2. Возрастная динамика массы тела крыс с повреждением вентромедиального ядра гипоталамуса и латеральной гипоталамической области

Примечание. * - $P < 0,05$ по сравнению с контрольными животными для той же временной точки

Таблица 1

Остаточная продолжительность жизни старых крыс с повреждением вентромедиального ядра гипоталамуса и латеральной гипоталамической области

Исследуемые показатели	Контроль	Повреждение		
		ВМЯ	ЛГО	ВМЯ+ЛГО
Остаточная средняя продолжительность жизни	356±26 (23)	327±29 (15)	324±38 (14)	232±41 (12) *
Остаточная максимальная продолжительность жизни	516±22 (5)	449±20 (3) *	503±36 (3)	431±3 (2) *

Примечания (здесь и в табл. 2). * - $P < 0,05$ по сравнению с контрольными крысами; в скобках указано количество животных

Таблица 2

Концентрация гормонов в плазме крови старых крыс с повреждением вентромедиального ядра гипоталамуса и латеральной гипоталамической области

Исследуемые показатели	Контроль	Повреждение		
		ВМЯ	ЛГО	ВМЯ+ЛГО
АКТГ, пг/мл	256,3±13,0 (27)	251,9±14,3 (15)	305,9±20,2* (12)	249,8±28,1 (9)
ТТГ, нг/мл	1,33±0,10 (26)	0,96±0,08* (13)	1,25±0,13 (10)	1,80±0,19* (7)
Инсулин, мкЕд/мл	27,8±2,5 (26)	51,7±4,9* (14)	25,0±4,0 (11)	18,5±3,6* (7)

Полученные нами результаты о возникающих после повреждения ВМЯ у старых крыс изменениях массы тела, концентрации инсулина и ТТГ в целом согласуются с данными других авторов. Так, показано, что деструкция ВМЯ у взрослых животных сопровождается гиперфагией, ожирением [5], активацией инсулярного аппарата с последующим его истощением [6], а также ослаблением тиротропной функции гипофиза, снижением секреторной активности щитовидной железы и нарушением метаболизма тиреоидных гормонов в тканях-мишенях. Можно предположить, что у старых крыс индуцированные повреждением ВМЯ метаболические и эндокринные расстройства формировались достаточно медленно, не оказывая существенного влияния на об-

щую динамику смертности животных. Однако в конечном итоге они могли приводить к развитию выраженной патологии – диабета и гипотиреоза – и обусловить сокращение максимальной ПЖ.

В отличие от ВМЯ, повреждение ЛГО привело к снижению выживаемости крыс на более ранних этапах, не оказав существенного влияния на максимальную ПЖ. Как известно, обширное повреждение ЛГО вызывает временную акинезию, афагию, адипсию и при отсутствии надлежащего ухода приводит к гибели животных [3]. В наших экспериментах незначительное по размерам повреждение ЛГО не имело столь драматических последствий. Сравнительно кратковременное уменьшение массы тела сменилось ее увеличением, более выраженным, чем у контрольных

животных. Тот факт, что это увеличение происходило на фоне повышения концентрации АКТГ, может свидетельствовать о развитии ожирения, характерного для синдрома Кушинга [9] и метаболического синдрома [8], оказавшего отрицательное влияние на выживаемость животных.

Наиболее неблагоприятным для жизнеспособности старых крыс оказалось совместное повреждение ВМЯ и ЛГО, поскольку после такой операции сокращались как средняя, так и максимальная ПЖ. Ускоренное вымирание животных могло быть следствием эндокринных нарушений – уменьшения секреции инсулина и повышения уровня ТТГ. Эти изменения, в свою очередь, могли быть обусловлены усилением тонуса симпатической нервной системы [4], а также снижением секреторной активности щитовидной железы, и, соответственно, ослаблением обратной связи в системе регуляции тиреотропной функции гипофиза.

Вывод

Повреждение вентромедиального ядра гипоталамуса и латеральной гипоталамической области снижает жизнеспособность старых крыс, что может быть связано с развитием эндокринной патологии, специфичной для локализации повреждения.

Литература

1. Безруков В.В. Роль эмоциогенных зон гипоталамуса в геронтогенезе / В.В.Безруков, Т.А.Дубилей, Ю.Е.Рушкевич // Пробл. старения и долголетия. – 2008. – Т. 17, № 2. – С. 115-128.
2. Ермаков С.П. Первичная статистическая обработка данных по выживаемости организмов / С.П.Ермаков, Н.С.Гаврилова // Итоги науки и техники. ВИНТИ. Общие проблемы биологии. – 1987. – Т. 6. – С. 230-276.
3. Bernardis L.L. The lateral hypothalamic area revisited: ingestive behavior / L.L.Bernardis, L.L.Bellinger // Neurosci Biobehav Rev. – 1996. – Vol. 20, № 2. – P. 189-287.
4. Kiba T. Relationships between the autonomic nervous system and the pancreas including regulation of regeneration and apoptosis: recent developments / T.Kiba // Pancreas. – 2004. – Vol. 29, № 2. – P. 51-58.
5. King D.M. The rise, fall, and resurrection of the ventromedial hypothalamus in the regulation of feeding behavior and body weight / D.M.King // Physiol. Behav. – 2006. – Vol. 87, № 2. – P. 221-244.
6. Lazaris J.A. Studies on diabetes mellitus after ventromedial hypothalamic lesions in adult and aged rats / J.A.Lazaris, R.S.Golddderg, M.P.Kozlov // Endocr. Experiment. – 1985. – Vol. 19, № 2. – P. 67-76.
7. Paxinos G. The rat brain in stereotaxic coordinates / G.Paxinos, C.Watson. – NY: Acad. Press, 1983.
8. Glucocorticoid-dependency of increased adiposity in a model of hypothalamic obesity / M.Perrelly, G.Moreno, R.C.Gaillard [et al.] // Neuro Endocrinol Lett. – 2004. – Vol. 25, № 1-2. – P. 119-126.
9. Stenzel-Poore M.P. Development of Cushing's syndrome in corticotrophin-releasing factor transgenic mice / M.P.Stenzel-Poore, V.A.Cameron, J.Vaughan [et al.] // Endocrinology. – 1992. – Vol. 130, № 6. – P. 3378-3386.

ВПЛИВ ПОШКОДЖЕННЯ ВЕНТРОМЕДІАЛЬНОГО ЯДРА ГІПОТАЛАМУСА І ЛАТЕРАЛЬНОЇ ГІПОТАЛАМІЧНОЇ ДІЛЯНКИ НА ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ СТАРИХ ЩУРІВ

Т.О.Дубілей, Ю.Є.Рушкевич

Резюме. У дослідях на 20-місячних щурах-самцях Вістар вивчали вплив електролітичного пошкодження вентромедіального ядра гіпоталамуса (ВМЯ), латеральної гіпоталамічної ділянки (ЛГД), а також обох структур на вікову динаміку маси тіла, концентрацію гормонів у плазмі крові і залишкову тривалість життя (ТЖ). Пошкодження ВМЯ супроводжувалося надлишковим приростом маси тіла, гіперінсулінемією, зниженням рівня ТТГ, а також зменшенням максимальної ТЖ тварин. Пошкодження ЛГД викликало зниження маси тіла з подальшим її підвищенням, збільшувало концентрацію АКТГ, а також знижувало виживання, не змінюючи максимальної ТЖ. Спільне пошкодження ВМЯ і ЛГД призводило до короткочасного збільшення маси тіла з подальшим її зменшенням, знижувало концентрацію інсуліну і збільшувало рівень ТТГ, а також скорочувало середню і максимальну ТЖ тварин. Отримані результати свідчать про несприятливий вплив пошкодження ВМЯ і ЛГД на життєздатність старих щурів, яке може бути зумовлене розвитком ендокринної патології, специфічної для локалізації пошкодження.

Ключові слова: вентромедіальне ядро гіпоталамуса, латеральна гіпоталамічна ділянка, електролітичне пошкодження, тривалість життя, щури.

EFFECT OF EXPERIMENTAL DAMAGE OF THE VENTROMEDIAL HYPOTHALAMIC NUCLEUS AND LATERAL HYPOTHALAMIC AREA ON THE LIFE SPAN OF OLD RATS

T.Dubilei, Yu.Rushkevich

Abstract. In experiments carried out on 20 month old male Wistar rats, the effects of a bilateral electrolytic lesion of the ventromedial hypothalamic nuclei (VMN), the lateral hypothalamic area (LHA) as well as both structures on the age-related dynamics of the body weight, blood hormone level and the remaining life span (LS) were studied. A destruction of the VMN resulted in an excess body mass gain, hyperinsulinemia, a decreased TSH level and also reduced maximal LS. Following LHA damage, the animals displayed an initial drop of the body weight followed by its elevation, an increased

ACTH level and reduced survival without essential changes in the maximal LS. A combined injury of the VMN and LHA resulted in a short-term body mass gain with its further reduction, diminished the insulin concentration and enhanced the TSH level as well as shortened the average and maximal LS of the animals. The obtained findings are indicative of an unfavorable effect of damaged VMN and LHA on the viability of old rats which may be due to the development of endocrine pathology specific to the localization of the lesion.

Key words: ventromedial hypothalamic nucleus, lateral hypothalamic area, electrolytic lesion, life span, rats.

SE Institute of Gerontology of Ukraine's AMS (Kyiv)

Рецензент – доц. Н.В.Черновська

Buk. Med. Herald. – 2009. – Vol.13, №4.–P.105-108

Надійшла до редакції 5.07.2009 року

© Т.А.Дубилей, Ю.Е.Рушкевич, 2009

УДК 612.438:612.017.1

В.В.Евстафьев, О.Г.Машанова

БИОЛОГИЧЕСКИЕ РИТМЫ РАЗМНОЖЕНИЯ ТИМОЦИТОВ

Кафедра биологии (зав. – проф. А.И.Антохин) медико-биологического факультета
Российского государственного медицинского университета, г. Москва

Резюме. В работе изучены суточные и окологасовые ритмы изменения митотического индекса тимоцитов мышей при нормальном и инвертированном фоторежиме. Установлено, что у нормальных животных во время активной фазы суточного ритма период окологасовых колебаний короче, чем во время его пассивной фазы. Фотоинверсия приводит к изменению связи периода окологасовых колебаний митотического индекса с

фазами его суточного ритма. Таким образом, если для суточной периодичности деления клеток смена освещенности в течение суток является датчиком времени, то для окологасовых колебаний митотической активности она им не является.

Ключевые слова: митотический индекс, фотоинверсия, окологасовый ритм.

Введение. Возрастные изменения тимуса играют ключевую роль в ослаблении системы клеточного и гуморального иммунитета у лиц пожилого и старческого возраста. В течение жизни тимическая ткань постепенно замещается жировой и соединительной тканью. Соответственно снижается и продукция Т-лимфоцитов. Функционирование тимуса характеризует его временная организация. Ее составной частью являются окологасовые биологические ритмы пролиферации тимоцитов, которые взаимодействуют с ритмами других периодов [2]. Совокупность разнопериодических биологических ритмов одной и той же функции обеспечивает живой системе как охват широкого частотного спектра восприятия, передачи и воспроизведения сигналов биологической информации одинаковой семантики, так, по необходимости, и дифференциальный ее выбор. К настоящему времени накоплено большое количество информации о суточных ритмах митотической активности клеток, но биологические ритмы числа митозов с другими периодами изучены мало.

Цель исследования. Изучить взаимодействие разнопериодических ритмов пролиферации тимоцитов.

Материал и методы. Эксперимент поставлен на 1900 белых беспородных мышках-самцах массой около 20 г. Половина животных содержалась при стандартном фоторежиме (С:Т – 12:12, свет с 6 до 18 ч), остальные при инвертированном (Т:С – 12:12, свет с 18 до 6 ч). Инверсия фо-

торежима проводилась после недельной адаптации мышечей к нормальному фоторежиму. Мышки забивались через 3, 7 дней и 10 суток после начала фотоинверсии. Объектом изучения являлись тимоциты и эпителий пищевода. Мазки тимуса дважды фиксировали этанолом, гидролизировали 6 мин в 1N HCl при 56⁰С, промывали водой, окрашивали метиленовым синим. Митотический индекс (МИ) в тканях вычисляли как долю делящихся клеток при просмотре 10 000 клеток от каждого животного и выражали в промилле.

Полученный цифровой материал обрабатывали на компьютере при помощи комплекса программ выявления скрытых периодичностей в биологических процессах [1]. Написанная нами программа вначале исключала тренд из временного ряда. Нахождение полиномиального тренда осуществлялось с помощью программы пошагового регрессионного анализа. Степень используемого полинома не выше двух, так как полином большей степени может включить в себя периодическую составляющую процесса.

Использование первой части программного комплекса предполагает стационарную модель биоритма. Биологический процесс рассматривался как сумма набора гармоник и случайного шума. Для нахождения частот колебаний, составляющих биоритмы, используется спектральный анализ. Периодические компоненты модели выбирались соответственно пикам спектральной плотности. Наилучшее сочетание периодов компонент выби-