

## **ВЛИЯНИЕ ТОКСИЧЕСКОГО СТРЕССА НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СУПРАХИАЗМАТИЧЕСКОГО ЯДРА ГИПОТАЛАМУСА БЕЛЫХ КРЫС В РАЗНЫЕ СЕЗОНЫ ГОДА**

**Котельникова С.В., Котельников А.В.**

*ФГОУ ВПО «Астраханский государственный технический университет», Астрахань, Россия, e-mail: [kotas@inbox.ru](mailto:kotas@inbox.ru)*

---

Изучены объемы ядер и ядрышек нейронов супрахиазматического ядра (СХЯ) гипоталамуса самцов и самок крыс в разные сезоны года в норме и на фоне токсического стресса, вызванного хлоридом кадмия (2 мг/100 г массы тела, ежедневно, в течение 15 дней, перорально). Максимальные объемы ядер нейронов СХЯ наблюдали в летний период у самцов и осенний у самок, в то время как максимальные объемы ядрышек и максимальная доля ядрышка в ядре были зимой у животных обоего пола. Половые отличия в объемах ядер и ядрышек нейросекреторных клеток СХЯ характерны только для «переходных» сезонов – весны и осени, причем морфометрические показатели самок превышают таковые самцов. Соль кадмия приводит к снижению ритмической активности СХЯ, уменьшая объем ядрышек зимой и увеличивая его летом у животных обоего пола.

---

Ключевые слова: супрахиазматическое ядро гипоталамуса, сезоны года, кадмий.

## **INFLUENCE OF TOXIC STRESS ON MORPHOMETRIC PARAMETERS OF HYPOTHALAMIC SUPRACHIASMATIC NUCLEUS OF WHITE RATS DURING DIFFERENT SEASONS OF YEAR**

S.V. Kotelnikova, A.V. Kotelnikov

*Astrakhan state technical university, Astrakhan, Russia, e-mail: [kotas@inbox.ru](mailto:kotas@inbox.ru)*

Volumes of neuron's nuclei and nucleoli in hypothalamic suprachiasmatic nucleus (SCN) of male and females rats during different seasons of year in norm and on a background of the toxic stress caused by chloride of cadmium (2 mg/100 g weights of a body, daily, within 15 days, per os) are studied. The maximal volumes of neuron SCN nuclei observed during the summer period at males and autumn at female while the maximal volumes of nucleoli and the maximal the nucleolus/nucleus relation were in the winter at animals both of sex. Sexual differences in volumes of nuclei and nucleoli of SCN neurosecretory cells are characteristic only for "transitive" seasons - spring and autumn, and morphometric parameters of females exceed those of males. Salt of cadmium leads to decrease in rhythmic activity of SCN, reducing volume of nucleoli in the winter and increasing its in summer at animals both of sex.

Keywords: hypothalamic suprachiasmatic nucleus, seasons of year, cadmium.

В настоящее время кадмий является одним из экополлютантов, содержание которого в окружающей среде постоянно возрастает. Одним из основных неспецифических механизмов токсического действия кадмия на клеточном уровне является связывание сульфгидрильных групп глутатиона и белков, в результате чего происходит активизация процессов перекисного окисления липидов клеточных мембран [7]. Нарушения перекисного окисления липидов рассматриваются как общее патогенетическое звено ряда заболеваний.

Размеры ядер и ядерных структур в значительной мере определяются функциональным состоянием клетки. Изменения ядер и ядрышек нейронов гипоталамуса отражают различные функциональные состояния этого нервного центра – как

адаптационные, так и дистрофические, вызванные токсическим стрессом. Нейроны супрахиазматического ядра (СХЯ) являются одной из структур, ответственных за адаптацию организма к цирканнуальным и циркадианным ритмам.

Процессы адаптации к сезонным колебаниям среды протекают не одинаково у животных разного пола, так как и уровни половых гормонов испытывают колебания в течение года. Так, уровень гонадотропных гормонов в плазме крови выше весной, тестостерона – в августе [2].

У женщин сезонные изменения концентрации гонадотропинов и гонадных стероидов тесно связаны с синтезом мелатонина. Мелатонин определяет время наступления половой зрелости и время наступления овуляции [8].

В связи с вышеизложенным целью исследования было выяснение роли сезонов в реакции нейронов супрахиазматического ядра гипоталамуса на токсический стресс, вызванный введением соли кадмия.

**Материалы и методы исследования.** Исследования выполнены на 104 половозрелых белых беспородных крысах обоего пола. Средний вес животных к началу каждой серии эксперимента составлял 180 г. Животные содержались при свободном доступе к воде и пище, самцы и самки отдельно. При проведении экспериментов животных каждого пола делили на 2 группы: контрольную и опытную.

Исследования выполнены в четыре сезона года: зима (январь), весна (апрель), лето (июль) и осень (октябрь).

Токсический стресс моделировали введением per os хлорида кадмия ( $\text{CdCl}_2$ ) в дозе 2 мг на 100 г массы тела животного ежедневно в течение 15 дней. Общая доза составила 30 мг/100 г массы тела, что составляет  $\frac{1}{3}$  от  $\text{LD}_{50}$ . Известно, что при введении солей кадмия через желудочно-кишечный тракт высасывается около 5% от вводимой дозы [1]. Подобный тип токсического стресса можно характеризовать как полухронический, при этом ни одно животное не погибло до окончания эксперимента.

По окончании эксперимента животных декапитировали под хлоралгидратным наркозом (25 мг/100 г массы тела, внутривентриально). Гипоталамус фиксировали в смеси Буэна, заливали в парафин и изготавливали серийные срезы, толщиной 5–7 мкм. Препараты окрашивали гематоксилин-эозином и фотографировали при увеличении  $900\times$ .

Морфометрию ядра и ядрышка проводили с помощью измерения двух перпендикулярных диаметров ядра (ядрышка)  $d_1$  и  $d_2$  ( $d_1 > d_2$ ), с последующим определением объема по формуле эллипсоидовращения:

$$V = \frac{\pi}{6} d_1 \cdot d_2^2.$$

Полученные данные обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента.

**Результаты и их обсуждение.** Наибольший объем ядер нейронов супрахиазматического ядра у самцов отмечался в летний период ( $12,03 \pm 0,313$  мкм<sup>3</sup>, таблица 1), постепенно уменьшаясь вплоть до весны (минимальный объем,  $10,47 \pm 0,234$  мкм<sup>3</sup>). Таким образом, именно между весной и летом наблюдалось максимальное отличие между последовательно сменяющимися друг друга сезонами ( $p < 0,01$ ). Разница между контрастными сезонами составляла 13% между зимой и летом и 12% между весной и осенью ( $p < 0,01$  для обоих случаев).

Цикл изменения объемов ядер был несколько сдвинут у самок по сравнению с самцами: максимальные размеры характерны для осени ( $12,81 \pm 0,297$  мкм<sup>3</sup>), а минимальные – для зимы ( $10,16 \pm 0,281$  мкм<sup>3</sup>). Именно между этими сезонами создается наибольшая разница в размерах ядер – на 26% ( $p < 0,001$ ). Как и у самцов, у самок сохраняются достоверные различия между контрастными сезонами года: зимой объем ядер на 11% меньше, чем летом, а осенью на 9% больше, чем весной ( $p < 0,01$  для обоих случаев). Динамика изменения размеров ядер клеток СХЯ самок соответствует отмеченной E. Peschke с соавторами [6], которые выявили максимальные размеры ядер нейронов СХЯ в весенний и осенний периоды, а минимальные – в летний и зимний.

Половые отличия в объемах ядер нейросекреторных клеток оказались характерны только для «переходных» сезонов, причем в обоих случаях объемы ядер самок превышали таковые самцов (на 12% весной,  $p < 0,01$  и на 9% осенью,  $p < 0,05$ ). В то же время в «стабильные» теплый и холодный периоды размеры ядер нейронов СХЯ самцов и самок практически не отличались.

Таблица 1 – Объемы ядер, ядрышек и ядрышко-ядерное отношение нейронов супрахиазматического ядра гипоталамуса, мкм<sup>3</sup>

Группа	Пол	Объемы ядер	Объемы ядрышек	Ядрышко-ядерное отношение, $\times 10^{-3}$
<b>Зима</b>				
Контроль	Самцы	$10,63 \pm 0,266$	$0,079 \pm 0,0050$	$7,65 \pm 0,431$
	Самки	$10,16 \pm 0,281$	$0,084 \pm 0,0050$	$8,76 \pm 0,493$
Кадмий	Самцы	$10,63 \pm 0,219$	$0,039 \pm 0,0020^{***}$	$3,78 \pm 0,177^{***}$
	Самки	$9,69 \pm 0,266$	$0,045 \pm 0,0020^{***}$	$5,00 \pm 0,231^{***}$
<b>Весна</b>				
Контроль	Самцы	$10,47 \pm 0,234$	$0,062 \pm 0,0025$	$6,10 \pm 0,217$
	Самки	$11,72 \pm 0,266^{++}$	$0,073 \pm 0,0025^{++}$	$6,59 \pm 0,234$
Кадмий	Самцы	$10,78 \pm 0,234$	$0,059 \pm 0,0025$	$5,57 \pm 0,189$
	Самки	$11,25 \pm 0,250$	$0,065 \pm 0,0026$	$6,07 \pm 0,236$
<b>Лето</b>				
Контроль	Самцы	$12,03 \pm 0,313$	$0,068 \pm 0,0041$	$5,99 \pm 0,436$
	Самки	$11,25 \pm 0,281$	$0,063 \pm 0,0036$	$6,26 \pm 0,604$
Кадмий	Самцы	$10,78 \pm 0,203^*$	$0,085 \pm 0,0042^*$	$8,10 \pm 0,381^{**}$
	Самки	$12,19 \pm 0,266^*$	$0,092 \pm 0,0048^{***}$	$7,66 \pm 0,395$
<b>Осень</b>				

Контроль	Самцы	11,72±0,313	0,060±0,0029	5,42±0,266
	Самки	12,81±0,297 <sup>+</sup>	0,070±0,0032 <sup>+</sup>	5,51±0,203
Кадмий	Самцы	10,00±0,219**	0,058±0,0025	5,91±0,262
	Самки	10,31±0,219***	0,055±0,0027**	5,45±0,256

Примечание: \* – отличия кадмиевых групп от контроля в соответствующий сезон, \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ; <sup>+</sup> – отличия по полу, <sup>+</sup> –  $p < 0,05$ ; <sup>++</sup> –  $p < 0,01$ .

Как у самцов, так и у самок реактивность объемов ядер по отношению к соли кадмия проявлялась только в осенний и летний периоды. В оба эти сезона у самцов и осенью у самок токсикант вызывал уменьшение объемов ядер, в то время как летом у самок происходило их незначительное увеличение (на 8%).

Для сезонной динамики объемов ядрышек нейросекреторных клеток СХЯ было характерно достоверное увеличение их в зимний период как у самцов, так и у самок подопытных животных ( $0,079 \pm 0,0050$  мкм<sup>3</sup> и  $0,084 \pm 0,0050$  мкм<sup>3</sup> соответственно). Так, зимой объем ядрышек у самцов превышал на 25% таковой осенью ( $p < 0,01$ ) и на 22% – весной ( $p < 0,05$ ). Минимальные объемы ядрышек у самцов были обнаружены в осенний период ( $0,060 \pm 0,0029$  мкм<sup>3</sup>).

У самок зимой объем ядрышек на 14% превышал весенние размеры, и на 17% – осенние ( $p < 0,05$  для обоих случаев). Минимальные размеры у самок были зарегистрированы в летний период ( $0,063 \pm 0,0036$  мкм<sup>3</sup>).

Также как и для объемов ядер нейросекреторных клеток, половые различия в размерах ядрышек были достоверны только в «переходные» сезоны года, и объемы ядрышек самок превышали таковые самцов (на 17% весной,  $p < 0,01$  и на 18% осенью,  $p < 0,05$ ).

Токсикант влиял на размеры ядрышек больше в «стабильные» сезоны года. Причем в холодный сезон его введение приводило к уменьшению объемов, а в теплый – к увеличению как у самцов, так и у самок.

Ядрышко-ядерное отношение, позволяющее оценить соразмерность изменений ядра и ядрышка, имело сходную сезонную динамику у самцов и самок контрольных групп. Максимальная доля ядрышка в объеме ядра была отмечена в зимний период ( $7,65 \cdot 10^{-3}$  для самцов и  $8,76 \cdot 10^{-3}$  для самок), затем шло постепенное снижение ядрышко-ядерного отношения вплоть до минимальных значений осени ( $5,42 \cdot 10^{-3}$  для самцов и  $5,51 \cdot 10^{-3}$  для самок).

Половых различий в ядрышко-ядерном отношении у животных контрольных групп не выявлено ни в один из изученных сезонов.

Наибольшая реактивность по отношению к соли кадмия была отмечена в зимний период, когда под влиянием токсиканта ядрышко-ядерное отношение снижалось на 50% у самцов и 43% у самок ( $p < 0,001$  для обоих случаев). Напротив, в контрастный летний сезон введение кадмия сопровождалось увеличением ядрышко-ядерного соотношения у самцов (на 35%,  $p < 0,01$ ) и отсутствием реакции со стороны самок.

Ни весной, ни осенью токсикант не изменял отношения объемов ядрышек к объемам ядер нейросекреторных клеток СХЯ.

Нейроны супрахиазматического ядра являются одной из признанных структур «водителей ритма», ответственных за адаптацию организма к сезонности.

Уменьшение ядра в размерах, также как и выраженная конденсация ядрышкового хроматина рассматриваются как процессы, отражающие торможение ядрышковой транскрипции вследствие энергетического дефицита клетки.

Мы вправе констатировать отсутствие пропорциональности изменений размеров ядер и ядрышек по сезонам года.

Размеры и структура ядрышек в большинстве случаев коррелируют с объемом клеточного белкового синтеза, выявляемого биохимическими методами [3]. Действительно, в ритмических изменениях объемов ядрышек как у самцов, так и у самок выявляется акрофаза, приходящаяся на темный зимний период, и ортофаза, у самок приходящаяся на самый светлый из сезонов – лето, а у самцов – на осень. Показано, что ключевым эффектом мелатонина на уровне гипоталамуса является снижение метаболизма светочувствительных нейронов СХЯ, иннервирующих и активирующих все центры нейроэндокринного гипоталамуса [4]. В таком случае повышенный уровень секреции нейронов СХЯ в зимний период – компенсаторная реакция в ответ на усиленное подавление биосинтеза мелатонином.

Однако изменения объемов ядер СХЯ не столь однозначны. В нашем эксперименте акрофаза их объемов приходилась на лето у самцов и осень у самок, в то время как минимальные объемы фиксировались весной у самцов и зимой у самок. Очевидно, что на коллоидное содержимое ядра нейроцитов может оказывать влияние общий гормональный профиль, неодинаковый в разные сезоны года.

Выявленные половые различия в «переходные» сезоны, скорее всего, свидетельствуют о различных скоростях перестройки организма с зимнего на летний уровень функционирования и обратно у самцов и самок.

Интересно, что хлорид кадмия вызывает значимые изменения размеров ядрышек только в стабильные сезоны года. Более того, он приводит к разнонаправленным изменениям объемов ядрышек в холодный и теплый сезоны года. Очевидно, что действие кадмия на секреторную активность клеток СХЯ не прямое, а опосредовано теми процессами, которые токсикант вызывает в организме, зачастую приводящими к энергетическому дефициту.

В результате действия токсиканта развивается десинхроноз: кадмий нивелирует естественные ритмы нейроцитов СХЯ, в зимний период снижая их активность, а в летний, напротив, повышая ее. Возможно, что для поддержания ритмической активности в условиях поступления токсиканта клетке не хватает энергетических резервов, и процесс «усредняется». Это предположение отчасти подтверждается результатами, полученными Perreau-Lenz S. с соавторами [5]. Авторами отмечено исчезновение с разрушением СХЯ

гипоталамуса не только тормозящих, но и стимулирующих влияний гипоталамуса на выработку мелатонина эпифизом.

### **Выводы**

1. Половые отличия в объемах ядер и ядрышек нейросекреторных клеток СХЯ характерны только для «переходных» сезонов – весны и осени, причем морфометрические показатели самок превышают таковые самцов. Половых различий в ядрышко-ядерном отношении у животных контрольных групп не выявлено ни в один из изученных сезонов.
2. Наибольший объем ядер нейронов СХЯ у самцов отмечен в летний период, минимальный – весной. У самок максимальные размеры ядер характерны для осени, а минимальные – для зимы. Для сезонной динамики объемов ядрышек нейросекреторных клеток СХЯ было характерно их увеличение в зимний период у животных обоего пола. Минимальные объемы ядрышек у самцов были отмечены в осенний период, а у самок – в летний. Ядрышко-ядерное отношение имело сходную сезонную динамику у самцов и самок. Максимальные отношения были отмечены в зимний период, минимальные – осенью.
3. В осенний и летний периоды у самцов и осенью у самок введение соли кадмия вызывает уменьшение объемов ядер клеток СХЯ, в то время как летом у самок происходит их увеличение. На размеры ядрышек токсикант влияет больше в «стабильные» сезоны года, причем зимой его введение приводит к уменьшению объемов, а летом – к увеличению как у самцов, так и у самок. В результате ядрышко-ядерное отношение в зимний период под влиянием соли кадмия снижается у животных обоего пола, а летом увеличивается, но только у самцов.

### **Список литературы**

1. Абдурахманов Г.М., Зайцев И.В. Экологические особенности содержания микроэлементов в организме животных и человека. – М.: Наука, 2004. – С. 187.
2. Ашофф Ю. Обзор биоритмов. // Биологические ритмы: в 2 т. / под ред. Ю. Ашоффа. – М.: Мир, 1984. – Т. 1. – С. 12–21.
3. Струков А.И., Серов В.В. Патологическая анатомия. – М.: Медицина, 1993. – С. 91–93.
4. Чернышева М.П. Гормоны животных. Введение в физиологическую эндокринологию: учебное пособие. – СПб.: Глаголь, 1995. – С. 114.
5. Perreau-Lenz S., Kalsbeek A., Garidou M.L., Wortel J., van der Vliet J., van Heijningen C., Simonneaux V., PГ©vet P., Buijs R.M. Suprachiasmatic control of melatonin synthesis in rats: inhibitory and stimulatory mechanisms // *Eur J Neurosci.* – 2003. – V. 17. – № 2. – P. 221–228.
6. Peschke E., Peschke D., Huhn C. Circannual morphometric investigations of the rat suprachiasmatic nucleus after pinealectomy, ganglionectomy and thyroidectomy // *Brain Res.* –

1996. – V. 740. – № 18. – P. 81–88.
7. Skoczynska A. Peroksydacja lipidow w toksycznym dzialaniu olowiu i kadmu // Med-Pr. – 1997. – V. 48. – № 2. – P. 197–203.
  8. Yalyn O., Arman F., Erdogan F., Kula M. A comparison of the circadian rhythms and the levels of melatonin in patients with diurnal and nocturnal complex partial seizures // Epilepsy & Behavior. – 2006. – V. 8. – № 3. – С. 542–546.

**Рецензенты:**

Горст В.Р., д.б.н., профессор кафедры нормальной физиологии ГОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», г. Астрахань.

Кондратенко Е.И., д.б.н., профессор, зав. кафедрой биохимии, биофизики и молекулярной биологии ГОУ ВПО «Астраханский государственный университет», г. Астрахань.

**Работа получена 31.08.2011**