

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИИ ГИПОТАЛАМО-АДРЕНОКОРТИКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ НА СТРЕСС И КОРРЕКЦИЯ СТРЕССОРНЫХ НАРУШЕНИЙ АНТИОКСИДАНТАМИ

Мамонтова Е. В.¹, Семенищева О. Е.²

¹ГОУ ВПО «Астраханский государственный университет», ²МБУЗ ГБСМП им Ленина г. Шахты

Статья посвящена исследованию влияния иммобилизационного стресса и действие α -токоферола на функциональное состояние нейроэндокринной системы гипоталамуса и надпочечников. На основании серии опытов, на 4х экспериментальных группах показано, что иммобилизационный стресс достоверно снижает функциональную активность супраоптического, паравентрикулярного, супрахиазматического и аркуатного ядер гипоталамуса. В работе показано, что применение витамина Е способствовало значительному увеличению перекисной резистентности эритроцитов, данный факт свидетельствует о выраженных антиоксидантных свойствах α -токоферола. Стресспротекторное действие α -токоферола на гипоталамические структуры наиболее ярко выражено на этапе возрастной инволюции. Результаты проведённых исследований экспериментально обосновывают принципиальное отличие в реакции кортикоцитов надпочечников и нейросекреторных клеток гипоталамуса на стресс-индуцированное повышение функциональной активности спонгиоцитов вне зависимости от возраста исследуемых объектов.

Ключевые слова: стресс, антиоксиданты.

STUDY OF THE REACTION OF THE HYPOTHALAMIC-ADRENOCORTICAL SYSTEM TO STRESS AND STRESS CORRECTION VIOLATIONS ANTIOXIDANTS

Bolohova I. L.¹, Semenishcheva O. E.²

¹ Astrakhan State University, ² MBEH SHAM Lenina, Shakhty

The article is devoted to the influence of immobilization stress and action α -tocopherol on the functional state of neuroendocrine hypothalamus and adrenal glands. Based on a series of experiments on the 4 experimental groups showed that immobilization stress significantly decreased functional activity of supraoptic, paraventricular, suprachiasmatic and arcuate nucleus of the hypothalamus. Shown that the use of vitamin E significantly increase the peroxide resistance of erythrocytes, this fact shows antioxidant properties of α -tocopherol. Stress-effect of α -tocopherol on hypothalamic structure is most pronounced at the stage of age involution. Immobilization stress leads to changes in cell unidirectional fascicular zone of the adrenal cortex in different age periods of ontogeny.

Key words: stress, antioxidants.

На сегодняшний день актуальной проблемой физиологии является изучение механизмов стресс-реактивности различных функциональных систем организма в динамике индивидуального развития и при изменении гомеостаза, определяемых возрастными особенностями окислительно-восстановительного процесса, который занимает центральное место в процессе жизнедеятельности. Окислительно-восстановительные процессы – это генерация активных форм кислорода и большого количества радикальных соединений, обладающих высокой реакционной способностью и активно включающихся в процессы жизнедеятельности клеток на любой стадии развития – от созревания до гибели [1].

В настоящее время доказано, что с возрастом происходит усиление свободнорадикальных процессов [1]. Одним из препаратов, способных поддерживать антиоксидантный статус организма и гомеостаз, является α -токоферол, которому посвящены научные публикации последних десятилетий [2, 6]. Как универсальный компонент

клеточных мембран α -токоферол принимает участие в поддержании стационарного уровня свободнорадикального окисления в биомембранах, регулирует их проницаемость, а также стимулирует биосинтез белков, а исследования последнего времени свидетельствуют о полифункциональности действия α -токоферола, непосредственно не связанного с его антиоксидантными свойствами [6].

α -Токоферол предохраняет от окисления эссенциальные жирные кислоты в различных тканях, особенно в печени и мозге. При реакции с перекисными радикалами он образует достаточно активные радикалы, способные вступать в другие обменные реакции. Радикалы, образующиеся при реакции токоферолов с перекисными радикалами выполняют роль буфера, поддерживающего скорость окисления на определенном уровне. Эту особенность можно рассматривать как регуляторную: накопление природных антиоксидантов (токоферолов) в липидах выше оптимальных концентраций приводит к интенсификации окисления липидов, ускоренной утилизации избытка антиоксидантов и возвращению окислительных реакций на исходный стационарный уровень, реагируя с пероксидными радикалами липидов, сами при этом, окисляясь, токоферолы обрывают цепь окисления [2, 4].

Пусковым механизмом нейрохимических и гуморальных процессов стресс-реакции являются моноамины, активирующие гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальную систему [5]. Таким образом, при стрессе моноамины в периферической крови появляются благодаря надпочечникам, а в портальной кровотоке – гипоталамусу, а вследствие выделения нейрогомонов снижается количество нейросекрета во всех отделах гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, увеличивается объем ядер и ядрышек нейросекреторных клеток за счет активации анаболизма [6,3].

Цель работы заключается в исследовании влияния иммобилизационного стресса и действие α -токоферола на функциональное состояние нейроэндокринной системы гипоталамуса и надпочечников у молодых и старых мышей.

В работе использованы молодые половозрелые (2,5 месяца) и старые (14 месяцев) самцы белых беспородных мышей. Животные содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении, свободном доступе к корму и воде.

Две серии опытов включали 4 экспериментальные группы, в каждой группе по 10 животных: 1 – контроль – интактные животные; 2 – стресс – иммобилизация в пластиковых пеналах по 2 часа в одно и тоже время суток в течении 3 дней; 3 – витамин Е – животные получали D,L, α -токоферолацетата (α -ТФ) в дозе 1 мг/100 г массы тела в течении 14 дней; 4 – стресс + витамин Е – животные получали α -токоферол и подвергались иммобилизационному стрессу.

Стресс-реактивность животных оценивали по изменению относительной массы надпочечников, используемой в качестве одного из критериев оценки стрессорного состояния. Критериями оценки функционального состояния организма были: динамика массы тела; относительная масса надпочечников; уровень свободнорадикального окисления липидов гипоталамуса и печени; перекисная резистентность эритроцитов.

Чтобы определить возможные сдвиги в уровне свободнорадикальных процессов при воздействии на организм животных иммобилизационным стрессом, α -токоферолом и их сочетаниями, были использованы широко применяемые в эксперименте методики. Уровень свободнорадикального окисления (СРО) определяли по скорости перекисного окисления липидов (ПОЛ) в гомогенатах печени и гипоталамуса. Основой метода является определение малонового диальдегида (МДА) – одного из наиболее важных конечных продуктов перекисного окисления липидов.

Морфометрический анализ подтвердил негативное действие иммобилизации на функциональное состояние нейросекреторных клеток супраоптического (СОЯ) и паравентрикулярного ядра (ПВЯ) вне зависимости от возраста животных, хотя и в разной степени. Так, под влиянием стрессора отмечено уменьшение площади нейросекреторных клеток СОЯ и ПВЯ гипоталамуса молодых и старых мышей. В мелкоклеточных ядрах, супрахиазматическом ядре (СХЯ) и аркуатном ядре (АЯ), при гипокинезии также отмечено существенное уменьшение размеров клеточных ядер вне зависимости от возраста, что служит доказательством торможения функциональной деятельности нейросекреторных клеток исследуемых областей гипоталамуса под влиянием стрессора.

Функциональная активность каждого нейросекреторного центра, оцениваемая по величине ядрышек нейросекреторных клеток, является величиной относительно постоянной, а появление различий между объемом ядер нейросекреторных клеток служит отражением внутренних перестроек в нейросекреторном центре. В наших экспериментах воздействие α -токоферолом в течении двух недель сопровождается пролиферацией клеток и увеличением размеров СОЯ и ПВЯ у молодых и старых мышей в сравнении с контролем, а следовательно, увеличивается выработка нейрогормонов.

Важно отметить, что под действием α -ТФ произошло значительное уменьшение площади ядер нейросекреторных клеток СХЯ и АЯ, тогда как в крупноклеточной зоне гипоталамуса в СОЯ и ПВЯ отмечается их увеличение вне зависимости от возраста животных, что определяется различиями функциональной роли моноаминергических и нонапептидергических ядер гипоталамуса.

Предваряющее стресс двухнедельное введение α -токоферола повлияло на морфологические особенности СОЯ, ПВЯ, СХЯ и АЯ молодых и старых мышей, о чем

свидетельствует улучшение цитоструктуры исследованных нами нейросекреторных клеток. Таким образом, α -токоферол проявил стресспротекторный эффект, что является доказательством более высокой чувствительности и реактивности нонапептидергических структур к воздействию стрессора у молодых мышей по сравнению со старыми (таблица 1).

Т а б л и ц а 1. Изменение площади НСК при действии мобилизационного стресса, α -токоферола и их сочетания

Эксперименталь-ные группы		СОЯ	ПВЯ	СХЯ	АЯ
Контроль	М	2,19 \pm 0,09	2,42 \pm 0,04	2,26 \pm 0,03	1,66 \pm 0,02
	С	2,23 \pm 0,11	2,51 \pm 0,07	2,44 \pm 0,099	1,69 \pm 0,055
Стресс	М	1,06 \pm 0,04***	1,78 \pm 0,05***	1,96 \pm 0,04**	1,52 \pm 0,01***
	С	1,55 \pm 0,07 ***	2,14 \pm 0,09 **	1,89 \pm 0,063***	1,41 \pm 0,071***
Витамин Е	М	2,56 \pm 0,08**	2,55 \pm 0,06	1,65 \pm 0,03***	1,51 \pm 0,009***
	С	2,72 \pm 0,12**	2,53 \pm 0,09	2,08 \pm 0,073**	1,51 \pm 0,049 **
Витамин Е + стресс	М	1,77 \pm 0,14** +++	2,38 \pm 0,08+++	2,18 \pm 0,02* +++	1,43 \pm 0,02*** +++
	С	2,16 \pm 0,06 +++	2,44 \pm 0,06 ++	2,08 \pm 0,081 ** ++	1,63 \pm 0,048

Условные обозначения (здесь и в остальных таблицах): М-молодые; С-пожилые; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – в сравнении с контролем; + – $p < 0,05$; ++ – $p < 0,01$; +++ – $p < 0,001$ – в сравнении с группой стресс.

Судя по цитоструктуре и морфометрии нейросекреторных клеток, важно отметить, что антиоксидантные свойства витамина Е в большей степени проявились у старых мышей в сравнении с молодыми. Это объясняется тем, что с возрастом происходит снижение нейросекрета в перикарионах нейросекреторных клеток, а дополнительное введение перед стрессом α -токоферола компенсирует этот недостаток, обеспечивая снижение повышенного уровня прооксидантов, особенно у старых животных (таблица 1).

Следующим шагом исследований является динамика концентрации малонового диальдегида (МДА) и скорости перекисного окисления липидов (ПОЛ) в гипоталамусе при действии иммобилизационного стресса и α -токоферола. Огромное значение интенсификация ПОЛ имеет при повреждениях в результате стресса. Результаты наших опытов показали, что скорость спонтанного ПОЛ в гомогенатах гипоталамуса стрессируемых мышей увеличилась в сравнении с контролем у молодых и старых животных. При инкубации проб гипоталамуса в присутствии аскорбата и ионов железа отмечено достоверное увеличение скорости ПОЛ под действием иммобилизации относительно контроля вне зависимости от возраста. Исходный уровень малонового диальдегида в гомогенатах гипоталамуса при иммобилизационном стрессе достоверно возрос как у молодых, так и у старых мышей в сравнении с контролем.

Подавление окислительных процессов в мембранах при увеличении уровня витамина Е в организме сопровождается значительным уменьшением физиологического уровня свободных радикалов, играющих определенную роль в генерации и проведении

возбуждения в возбудимых тканях, и способствует угнетению фоновой активности коры больших полушарий головного мозга.

Так, в экспериментах на старых мышах-самцах α -токоферол оказал характерное для него антиоксидантное действие: скорость спонтанного ПОЛ в гипоталамусе уменьшилась в сравнении с контролем и в сравнении с мышами получавшими α -токоферол и подвергавшимися стрессу, тогда как у молодых животных не отмечено достоверных различий скорости спонтанного ПОЛ в гипоталамусе относительно контроля. С возрастом у животных, как известно, происходит истощение антиоксидантной системы, таким образом α -токоферол проявил антиоксидантное действие именно у старых животных, подтверждая свободнорадикальную теорию старения.

Степень торможения аскорбатзависимого ПОЛ α -токоферолом коррелировала с показателями спонтанного ПОЛ и оказалась достоверно ниже как в сравнении с контролем, так и в сравнении с величиной аскорбатзависимого ПОЛ у животных, стрессированных после предварительного введения α -токоферола у мышей обеих возрастных групп. Воздействие витамином Е на молодых мышей привело к значительному уменьшению уровня МДА в гипоталамусе в сравнении с этим же показателем у интактных животных.

Скорость спонтанного ПОЛ гипоталамуса в группе сочетанного воздействия (α -токоферол + стресс) практически не отличалась от контроля и достоверно снизилась в сравнении с теми же показателями у стрессированных животных вне зависимости от возраста. Отмечен выраженный стресс-протекторный эффект α -токоферола после 2-х недельного воздействия на старых животных, что, возможно, объясняется тем, что с возрастом происходит накопление эндогенных антиоксидантов, в особенности в нервной ткани. У молодых животных, получавших α -токоферол перед стрессированием, исходный уровень МДА снизился в сравнении с уровнем МДА гипоталамуса стрессированных мышей, не получавших витамин Е, тогда как у старых мышей в аналогичных условиях достоверных различий с контролем не обнаружено.

Исследование динамики концентрации малонового диальдегида (МДА) и скорости перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени при действии иммобилизационного стресса и α -токоферола. Анализируя результаты определения уровня ПОЛ в печени, следует сделать заключение о том, что скорость спонтанного ПОЛ достоверно увеличилась в группе стрессированных животных. Скорость аскорбатзависимого ПОЛ в гомогенатах печени оказалась существенно выше у животных, подвергавшихся иммобилизационному стрессу. Под действием иммобилизационного стресса концентрация МДА в исходном гомогенате печени самцов достоверно увеличилась в сравнении с контролем, у старых мышей также

отмечено достоверное увеличение концентрации МДА в печени под влиянием стресса в сравнении с контролем, но выражено не столь заметно. Менее выраженные изменения свободнорадикальных процессов, индуцированных стрессом у молодых мышей, возможно объяснить более выраженной реактивностью организма молодых животных при еще недостаточной зрелости окислительного гомеостаза. Принципиально важен факт значительного снижения синтеза многих регуляторных пептидов и чувствительности к ним клеток при старении, а также ослабление рецепторного восприятия нейропептидов многими клетками и тканями-мишенями.

В исследованиях прослеживается изменение относительной массы надпочечников в ходе экспериментального воздействия. Так, иммобилизационный стресс сопровождался выраженной гипертрофией и значительным приростом относительной массы надпочечников молодых и старых мышей. Предварительное введение α -токоферола перед стрессом нивелирует стрессорные реакции и способствует приближению изученных показателей к контрольным значениям вне зависимости от возраста животных.

Данные морфометрии свидетельствуют о том, что под влиянием иммобилизационного стресса происходит достоверное увеличение объема ядер клеток пучковой зоны надпочечников у молодых и старых мышей, а также увеличение пучкового и сетчатого слоя коры надпочечников у молодых и старых животных относительно контроля.

Таким образом, реакция на стресс клеток пучковой зоны по своей направленности не имеет существенных возрастных различий и мало отличается от гистоструктуры интактных животных – как молодых, так и старых. Полученные результаты свидетельствуют о росте с возрастом энергетической и стероидопroduцирующей функции корковых эндокриноцитов.

У мышей, получавших α -ТФ предварительно перед стрессированием, также отмечено незначительное увеличение пучкового слоя в сравнении с интактными животными без явных возрастных отличий. Таким образом, иммобилизационный стресс вызвал увеличение пучковой зоны и размеров ядер кортикоцитов старых мышей, а введение α -токоферола перед стрессированием значительно нивелировало эффект увеличения коркового слоя надпочечников в сравнении с мышами, которые не получали витамин Е перед стрессированием. Таким образом, действие иммобилизации вызывало повышение активности структурных элементов коркового вещества надпочечников, особенно у молодых мышей, а введение антиоксиданта оказывало стресспротекторный эффект, заключающийся в нормализации ширины коркового слоя надпочечников животных вне зависимости от возраста (таблица 2).

Т а б л и ц а 2. Соотношение зон коркового слоя надпочечников

Экспери	М+м, мкм	%
---------	----------	---

ментальные группы		Клубочко-вая	Пучковая	Сетчатая	Клубочко-вая	Пучковая	Сетчатая
Контроль	М	3,55±0,15	12,25±0,24	4,61±0,08	17,39	60,02	22,59
	С	5,42±0,15	14,58±0,18	6,67±0,09	20,32	54,67	25,01
Стресс	М	3,34±0,25	25,07±0,19***	2,12±0,14***	17,37	59,21	23,41
	С	5,84±0,18	21,72±0,26***	4,27±0,11***	18,34	68,24	13,42
Витамин Е	М	3,71±0,18	14,15±0,21***	4,33±0,11*	16,78	63,77	19,51
	С	5,52±0,12	14,89±0,14	6,55±0,12	20,47	55,23	24,29
Витамин Е +стресс	М	3,63±0,19	12,37±0,27	4,89±0,12	17,37	59,21	23,41
	С	5,93±0,19	16,12±0,21***	6,52±0,11	20,76	56,42	22,82

Анализ экспериментального материала позволяет сделать заключение о том, что при иммобилизационном стрессе степень гемолиза эритроцитов молодых животных оказалась существенно большей в сравнении со старыми животными (79 % и 49 % соответственно). Это обстоятельство, очевидно, служит дополнительным доказательством роли недостаточной сбалансированности системы «про- и антиоксидантов» у молодых животных в сравнении со старыми, обнаруженной нами в тех же условиях в нейроэндокринных центрах гипоталамуса. Возможным объяснением повышения перекисной резистентности эритроцитов в процессе онтогенеза служит развитие компенсаторной реакции и активация образования новых эритроцитов.

Введение витамина Е способствовало значительному увеличению перекисной резистентности эритроцитов (на 58 %) как у молодых, так и старых мышей исследуемой группы в сравнении с интактными животными, что свидетельствует о выраженных антиоксидантных свойствах α -токоферола.

Исходя из полученных данных, в результате проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1. Иммобилизационный стресс достоверно снижает функциональную активность супраоптического, паравентрикулярного, супрахиазматического и аркуатного ядер гипоталамуса как у молодых, так и у старых мышей, что подтверждается результатами морфометрии и особенностями их цитоструктуры.

2. Действие α -токоферола на нейросекреторные клетки нонапептидергических и моноаминергических структур нейроэндокринных центров гипоталамуса различно: нейросекреторные клетки супраоптического ядра гипоталамуса реагируют на введение α -токоферола усилением функциональной активности. В тех же условиях, в нейросекреторных клетках супрахиазматического и аркуатного ядер происходит ослабление функциональной активности, что подтверждается соответствующими карิโอметрическими показателями.

3. Стресспротекторное действие α -токоферола на гипоталамические структуры наиболее ярко выражено на этапе возрастной инволюции, в сравнении с молодыми животными.

4. Иммуобилизационный стресс приводит к однонаправленным изменениям клеток пучковой зоны коры надпочечников в различные возрастные периоды онтогенеза.

5. Иммуобилизационный стресс вне зависимости от возраста животных вызывает интенсификацию свободнорадикальных процессов в гипоталамусе и печени при резком усилении гемолиза эритроцитов.

6. В условиях иммуобилизационного стресса α -токоферол оказывает выраженный протекторный эффект, что проявляется в повышении прочности клеточных мембран эритроцитов, преимущественно у молодых животных.

Работа выполнена в рамках Федеральной целевой программы ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы.

Список литературы

1. Дубинина Е. Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение) // Физиологические и клинко-биохимические аспекты. – СПб.: Медицинская пресса, 2006. – С. 400.
2. Котельников А. В., Теплый Д. Л., Влияние витамина Е на содержание продуктов перекисного окисления липидов плазмы крови в постнатальном онтогенезе / УСПЕХИ ГЕРОНТОЛОГИИ. – ВЫП. 17. – 2005. – С. 61-66.
3. Красновская И. А. Реакция гомориположительной пшоталамо-пшофизарной нейросекреторной системы крысы на однократное введение тиролиберина / И. А. Красновская, Т. В. Тавровская // Проблемы эндокринологии. – 1981. – Т. 27, № 3. – С. 48-51.
4. Jargar J. G., Yendigeri S. M., Hattiwale S. H., Dhundasi S. A. Das K.K. α -Tocopherol ameliorates nickel induced testicular oxidative and nitrosative stress in albino rats / J Basic Clin Physiol Pharmacol. 2012; 23(2):77-82. doi: 10.1515/jbcpp-2012-0013.
5. Miklós I. H., Kovács K. J., Functional heterogeneity of the responses of histaminergic neuron subpopulations to various stress challenges / European Journal of Neuroscience. Volume 18, Issue 11, pages 3069–3079, December 2003.
6. Miwa K., Fujita M. Fluctuation of serum vitamin E (α -tocopherol) concentrations during exacerbation and remission phases in patients with chronic fatigue syndrome. Heart and Vessels 25(4):319-323, 2010.

Рецензенты:

Сарвилина Ирина Владиславовна, д-р мед. наук, ген. директор медицинского центра «Новомедицина», ведущий научный сотрудник ЗАО НПО «Европа-Биофарм», г. Ростов-на-Дону.

Макляков Юрий Степанович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой «Фармакология и клиническая фармакология» ГБОУ ВПО «РостГМУ» Минздрава России, Ростов-на-Дону.