

УДК 612.822.43/45.015.38:612.6.618.2:616-092.19

С.С. Ткачук
В.П. Пішак
В.Ф. Мислицький

Буковинська державна медична академія
м. Чернівці

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ПІДТВЕРДЖЕННЯ РОЛІ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ПАТОГЕНЕЗІ СИНДРОМУ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕСУ

Ключові слова: оксидативний стрес, пренатальний стрес, простагландини.

Резюме. Досліджена роль оксидативного стресу як можливої ланки патогенезу синдрому пренатального стресу. На основі радіоімуного визначення рівнів ПГЕ₂, ПГФ_{2α}, 6-кето-ПГФ_{1α} та ТxB₂ у перегородці мозку, преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі, мигдалеподібному комплексі мозку контрольних та пренатально стресованих тварин. Доведено модифікуючий вплив пренатального стресу на участь простаноїдів у механізмах стрес-реактивності. Ймовірно причиною цих порушень є оксидативна інактивація циклоксигенази.

Вступ

Попередніми нашими дослідженнями встановлено, що пренатальний стрес викликає довготривале стійке зміщення окисно-антиоксидантної рівноваги в бік посилення вільнорадикальних реакцій [4, 5]. Про це свідчить послаблення антиоксидантного захисту та накопичення окисдованих форм протеїнів у лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку дорослих самців шурів, котрі зазнали впливу гестаційного стресу [5]. Разом з тим відомо, що з активацією окиснювального стресу спряжені певні етапи синтезу ПГФ_{2α} та тромбоксану, а антиоксиданти збільшують синтез ПГЕ₂ та простагліну і пригнічують синтез тромбоксану [1, 11]. Підсилення процесів пероксидного окиснення ліпідів є сильним інгібітором простаглінінсинтази [6].

Продукція простаглінінів у мозку та їх реакція на дію несприятливих впливів починається ще в період ембріонального розвитку [13], тому згідно теорії гормон-медіаторного імпринтингу [2] оксидативний стрес у цей період може суттєво вплинути на участь простаноїдів у формуванні та перебігу стрес-реакції.

Мета дослідження

Вивчити наслідки посилення вільнорадикальних процесів у мозку пренатально стресованих тварин для функціональної активності ейкозаноїдів у лімбіко-гіпоталамічних структурах.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Дослідження проведено на дорослих самцях білих шурів, матері яких під час останнього триместру вагітності щоденно зазнавали впливу одногодинного жорсткого іммобілізаційного стресу. Визначення ПГЕ₂, ПГФ_{2α}, 6-кето-ПГФ_{1α} та

ТxB₂ проводили наборами фірми "Amersham" (Англія). Для зупинки спонтанного біосинтезу простаглінінів до фосфатного буферу, в якому гомогенізували наважки, додавали інгібітор простаглінінсинтази індометацин (2,5 мг/100 мл). Екстракцію простаглінінів проводили на мікроколонках Ampreg C₈ ("Amersham" Англія). Для елюації простаглінінів із сорбенту мікроколонок використовували етилацетат. Кількість простаглінінів виражали в нг на г тканини.

Евтаназію тварин виконували шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Мозок швидко виймали на холоді й одразу занурювали в рідкий азот. Робили криостатні зрізи товщиною 300 мкм, виділяли перегородку мозку (ПМ), преоптичну ділянку (ПОД), медіобазальний гіпоталамус (МБГ) та мигдалеподібний комплекс (МК) за методом [8], звіряючись з атласом стереотаксичних координат [7].

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Пренатальний стрес призвів до значного зменшення рівня досліджуваних простаноїдів у всіх вивчених структурах, за винятком ПГЕ₂ мигдалеподібного комплексу, в якому спостерігалось значне його збільшення та рівня ПГФ_{2α} в ядрах септального комплексу, де він залишався незмінним (табл. 1–4).

Іммобілізація інтактних тварин мала наслідком зростання вмісту простаноїдів майже в усіх досліджуваних структурах (табл. 1–4), що відповідає даним літератури про активувальний вплив стресу на синтез простаглінінів [1]. У той же час іммобілізаційний стрес у пренатально стресованих тварин практично не впливав на вміст простаноїдів.

Таблиця 1

Вміст ПГЕ₂ (нг/г тканини) в структурах мозку інтактних та пренатально стресованих щурів після іммобілізації (M±m)

Характер впливу	Досліджувана структура			
	ПМ	ПОД	МБГ	МК
Інтактні	71,58±5,30	89,73±6,87	67,02±5,76	15,64±0,95
Іммобілізація інтактних	101,89±2,09 p ₁ <0,05	123,33±1,6 p ₁ <0,005	107,37±5,24 p ₁ <0,005	98,22±4,18 p ₁ <0,005
Пренатально стресовані	42,86±3,55 p ₁ <0,005	37,30±3,13 p ₁ <0,005	46,21±3,0 p ₁ <0,01	46,53±3,05 p ₁ <0,005
Іммобілізація пренатально стресованих	38,46±2,98	41,82±4,78	50,48±4,32	42,37±3,14

Примітка. Тут і далі в таблицях: p₁ – вірогідність змін стосовно інтактних тварин (p<0,05). У решті випадків зміни невірогідні.

Таблиця 2

Вміст ПГГ_{2α} (нг/г тканини) в структурах мозку інтактних та пренатально стресованих щурів після іммобілізації (M±m)

Характер впливу	Досліджувана структура			
	ПМ	ПОД	МБГ	МК
Інтактні	9,78±0,84	11,00±0,66	7,75±0,62	16,74±0,90
Іммобілізація інтактних	12,49±0,80 p ₁ <0,05	10,45±1,04	15,19±1,10 p ₁ <0,005	19,99±0,90 p ₁ <0,05
Пренатально стресовані	9,31±0,78	5,91±0,39 p ₁ <0,005	5,65±0,41 p ₁ <0,025	11,93±0,74 p ₁ <0,005
Іммобілізація пренатально стресованих	10,83±0,63	5,65±4,10	5,51±0,37	13,16±1,12

Таблиця 3

Вміст β-кето-ПГГ₁₀ (нг/г тканини) в структурах мозку інтактних та пренатально стресованих щурів після іммобілізації (M±m)

Характер впливу	Досліджувана структура			
	ПМ	ПОД	МБГ	МК
Інтактні	7,10±0,43	5,33±0,34	6,43±0,22	6,20±0,33
Іммобілізація інтактних	9,17±0,70 p ₁ <0,05	6,37±0,23 p ₁ <0,025	8,76±0,528 p ₁ <0,005	8,67±0,51 p ₁ <0,005
Пренатально стресовані	1,23±0,09 p ₁ <0,005	0,026±0,002 p ₁ <0,005	0,053±0,004 p ₁ <0,005	0,041±0,002 p ₁ <0,005
Іммобілізація пренатально стресованих	1,30±0,08	0,025±0,002	0,049±0,0031	0,040±0,002

Таблиця 4

Вміст Тх В₂ (нг/г тканини) в структурах мозку інтактних та пренатально стресованих щурів після іммобілізації (M±m)

Характер впливу	Досліджувана структура			
	ПМ	ПОД	МБГ	МК
Інтактні	4,45±0,25	6,95±0,57	7,17±0,57	15,18±0,84
Іммобілізація інтактних	7,47±0,33 p ₁ <0,005	11,34±0,39 p ₁ <0,005	10,78±0,74 p ₁ <0,005	17,05±0,87
Пренатально стресовані	3,35±0,22 p ₁ <0,01	3,196±0,14 p ₁ <0,005	3,25±0,10 p ₁ <0,005	5,96±0,55 p ₁ <0,005
Іммобілізація пренатально стресованих	3,40±0,18	3,41±0,21	3,31±0,16	6,06±0,49

Ймовірність аутомоделізації конститутивних та індукційних рівнів простагландинів пренатальними чинниками дістає підтвердження у здатності фетального мозку реагувати на несприятливі впливи зростанням їх вмісту [12]. Ембріональний мозок реагує також на інфузію плодам екзогенного ПГЕ₂ змінами термогенезу [9] та секреції АКТГ і кортикостероїдів [6], що дає підставу думати про функціональну спроможність системи центральні простагландини – гіпоталамо-гіпофізарно-надниркова вісь з початку функціонування останньої.

Згідно даних літератури материнські катехоламіни у високих, нефізіологічних дозах, які мають місце під час стресу, проникають через плаценту і зменшують у ній кровообіг, що призводить до тимчасової плацентарної недостатності та гіпоксії плодів [3]. Одним з дуже серйозних наслідків цього є зміна метаболізму арахідонової кислоти та продуктів її окиснення [12]

Судячи з отриманих нами сталих віддалених наслідків, у фетальному мозку під час пренатального стресу відбувається стійке пошкодження ферментативної активності. Найбільш ймовірним механізмом такого пошкодження є окиснювальна модифікація ферментів синтезу простагландинів [10].

Літературні дані свідчать, що окислювальний стрес має пошкоджуючий вплив на вміст простагландинів в ембріональних тканинах і спричиняє підвищення ембріонального рівня 8-епі-ПГФ_{2α} (як індикатора інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів) та незворотну down-регуляцію ембріональної експресії генів циклооксигенази-2 [14].

Виходячи з провідної ролі окислювального стресу в пошкодженні активності циклооксигенази-2, можна думати про аналогічний механізм тривалої модифікації вмісту простагландинів пренатальним стресом.

Висновок

У контрольних тварин за умов іммобілізації має місце зростання як стрес-протекторних (ПГЕ₂ та 6-кето-ПГФ_{1α}), так і простресорних (ПГФ_{2α} та ТхВ₂) форм простагландинів, що свідчить про паралельну активацію стрес-реалізуючої та стрес-лімітуючої систем. Пренатальний стрес знижує активність обох систем, зменшуючи конститутивний рівень всіх простагландинів та усуваючи їх реакцію на іммобілізацію, ймовірно, за рахунок інактивування впливу окислювального стресу на циклооксигеназу-2.

Література. 1. Пшенникова М.Г., Кузнецова Б.А., Шимкович М.В., Продіус П.А. Адаптація к фізической нагрузке увеличивает активность системы простагландинов группы E и I₂ и уменьшает стресс-реакцию // Биол. эксперим. биол. и мед. – 1996. – Т.122, №12. – С.622–624. 2. Резніков О.Г., Носенко Н.Д., Тарасенко Л.В. та ін. Патологічні механізми порушень регуляції репродукції та адаптації внаслідок пренатального стресу // Ендокринологія. – 1996. – Т.1, №1. – С.14–24. 3. Родс В., Окава Т., Шталл Ф. и др. Изменения нейротендинной системы плодов крыс при остром стрессе в конце бере-

менности // Онтогенетические и генетико-эволюционные аспекты нейротендинной регуляции стресса. – Новосибирск: Наука, 1990. – С.28–40. 4. Ткачук С.С. Влияние мелатонину на стан процесів пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантної системи в дискретних структурах мозку інтактних та пренатально стресованих шурів // Бук. мед. вісник. – 1998. – Т.2, №4. – С.178–188. 5. Ткачук С.С. Тривала модифікація окисно-антиоксидантних процесів в окремих структурах лімбічної системи мозку пренатальними стресорними впливами // Вісник проблем біол. і мед. – 1999. – вип. 7. – С.73–79. 6. Edwards M.J. Apoptosis, the heat shock response, hyperthermia, birth defects, disease and cancer. Where are the common links // Cell. Stress. Chaperones. – 1998. – V.3, N4. – P.213–220. 7. König J.F., Klippel P.A. The rat brain. A stereotaxic atlas of forebrain and lower part of the brain stem. – Baltimore: The Williams and Wilkins Company, 1963. – 162 p. 8. Palkovits M. Isolated removal of hypothalamic or other brain nuclei of the rat // Brain. Res. – 1973. – V.59, N1. – P.449–450. 9. Schroder H.J., Power G.G. Engine and radiator: fetal and placental interactions for heat dissipation // Exp. Physiol. – 1997. – V.82, N2. – P.403–414. 10. Stadman E.R., Oliver C.N. Metal-catalyzed oxidation of protein // J.Biol.Chem. – 1991. – V.266, N4. – P.2055–2068. 11. Suto G., Kiraly A., Plourde V., Tache Y. Intravenous interleukin-1-beta-induced inhibition of gastric-emptying – involvement of central corticotropin-releasing factor and prostaglandin pathways in rats // Digestion. – 1996. – V.57, N2. – P.135–140. 12. Yavin E., Goldin E., Magal A. et al. Ischemia stress and arachidonic acid metabolites in the fetal brain // Arachidonic Acid in the Nervous System. Physiological and pathological significance // Ann. of the New York Academy of Sci. – 1989. – V.559. – P.248–258. 13. Young L.R., Deayton J.M., Hollingworth S.A., Thorburn G.D. Continuous intrafetal infusion of prostaglandin E₂ prematurely activates the hypothalamo-pituitary-adrenal axis and induces parturition in sheep // Endocrinology. – 1996. – V.137, N6. – P.2424–2431. 14. Wentzel P., Welsh N., Eriksson U. Developmental damage, increased lipid peroxidation, diminished cyclooxygenase-2 gene expression, and lowered prostaglandin F₂ levels in rat embryos to a diabetic environment // Diabetes. – 1999. – V.48, N4. – P.813–820.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ РОЛИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В ПАТОГЕНЕЗЕ СИНДРОМА ПРЕПАТАЛЬНОГО СТРЕССА

С.С. Ткачук, В.П. Пишак, В.Ф. Мыслицкий

Резюме. Исследована роль окислительного стресса как возможного звена патогенеза синдрома пренатального стресса. На основании радиоиммунного определения уровней ПГЕ₂, ПГФ_{2α}, 6-кето-ПГФ_{1α} и ТхВ₂ в перегородке мозга, преоптической области, медиобазальном гипоталамусе, миндалевидном комплексе мозга контрольных и пренатально стрессированных животных сделан вывод о модифицирующем влиянии пренатального стресса на участие простагландинов в механизмах стресс-реактивности. Вероятной причиной этих нарушений является окислительная инактивация циклооксигеназы.

Ключевые слова: окислительный стресс, пренатальный стресс, простагландины.

THE EXPERIMENTAL CONFIRMATION OF THE OXYDATIVE STRESS PARTICIPATION IN THE PATHOGENESIS OF THE PRENATALLY STRESS SYNDROM

S.S. Tkachuk, V.P. Pishak, V.F. Mystytsky

Abstract. The role of the oxidative stress as a possible link of the pathogenesis of the prenatally stress syndrom was investigated. On the basis of the radioimmunoassay of the PGE₂, PGF_{2α}, 6-keto-PGF_{1α} and TxV₂ levels in the septum, preoptic area, mediobasal hypothalamus and amygdala of the control and prenatally stressed animals brain made conclusion about prenatal stress modification influence on prostaglandins participation in the stress-reactivity mechanisms has been made. A probable cause of this disturbances is an oxidative inactivation of the cyclooxygenase.

Key words: oxidation stress, prenatal stress, prostaglandins.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. – 2002. – Vol.1, №2. – P.47–49.

Надійшла до редакції 20.12.2002