

*С.С. Ткачук***Аналіз стану деяких компонентів стрес-лімітуючої системи мозку пренатально стресованих самців білих щурів**Кафедра нормальної фізіології (зав. — д.м.н. О.Л. Кухарчук)  
Буковинської державної медичної академії**Ключові слова:** пренатальний стрес,  $\alpha$ -ПНП, ПГЕ<sub>2</sub>, ПГФ<sub>2 $\alpha$</sub> , ТхВ<sub>2</sub>, 6-кето-ПГФ<sub>1 $\alpha$</sub> , мозок.**Резюме.** Вивчено вплив пренатального стресу на вміст  $\alpha$ -ПНП, ПГЕ<sub>2</sub>, ПГФ<sub>2 $\alpha$</sub> , ТхВ<sub>2</sub>, 6-кето-ПГФ<sub>1 $\alpha$</sub>  в преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі, перегородці та мигдалеподібному комплексу мозку. Встановлена наявність віддалених наслідків стресу на рівні досліджених факторів у всіх вищезазначених структурах мозку та різна чутливість цих структур до дії пренатального стресу, що свідчить про їх функціональну гетерогенність в системі нейроендокринної регуляції фетального мозку.**Вступ.** Невід'ємним компонентом цілісної реакції організму на дію стресора є активація нейросекреторних центрів мозку з одночасною продукцією відповідних нейрохімічних активаторів, що створюють в системі нейроендокринної регуляції стресу своєрідний активаційний контур гормонального та вегетативного забезпечення функцій.В своїй динамічній взаємодії він врівноважується складноорганізованим стрес-лімітуючим регуляторним контуром, спрямованим на підтримання гомеостатичних параметрів. На сучасному етапі до цієї системи відносять ГАМК, дофамін,  $\beta$ -ендорфін, простагландини, а також сильний інгібітор гіпофізарно-адренкортикальної системи натрійуретичний пептид [1, 4]. Всі вони здатні виділятися одночасно не лише в кров, а й паракринно, в міжклітинний простір, створюючи локальні вогнища впливу в гіпофізі, гіпоталамусі, а також в інших структурах мозку, віднесених до єдиної системи нейроендокринного контролю стресорних реакцій.Стрес, на думку цілого ряду дослідників [2, 3], виконує роль посередника між середовищем та генетичним апаратом. Для організмів в період ембріонального розвитку це особливо важливо, бо їх медіаторні і нейроендокринні системи надто вразливі до дії гормонів та факторів середовища, що впливають на організм матері. Виходячи з вищезазначеного ми поставили за мету вивчити стан окремих, найменш досліджених, компонентів стрес-лімітуючої системи мозку пренатально стресованих самців щурів —  $\alpha$ -передсердного натрійуретичного пептиду ( $\alpha$ -ПНП) та деяких ейкозаноїдів.**Матеріали і методи.** Дослідження проведені на дорослих самцях безпородних білих щурів віком 90 діб, матері яких на протязі останнього триместру вагітності (15-21 день) підлягали дії жорсткого імобілізаційного

стресу на протязі 1 години щоденно. Контрольні групи представлені самцями того ж віку, отриманими від інтактних самок.

Декапітацію щурів проводили під легким ефірним наркозом, мозок швидко виймали на холоді і одразу занурювали в зріджений азот. Робили зрізи, виділяли преоптичну ділянку гіпоталамуса, медіобазальний гіпоталамус, перегородку та мигдалеподібний комплекс, звіряючись з атласом стереотаксичних координат [ 9 ].

Для подальшого дослідження об'єднували структури від 3 тварин. Гомогенізацію проводили в охолодженому (2-4°C) фосфатному буфері (рН 7,4) за допомогою скляного гомогенізатора. Екстракцію проводили на мікроколонках Ampreg C<sub>8</sub> ("Amersham", Англія) використовуючи для елюації ейкозаноїдів етилацетат,  $\alpha$ -ПНП — ацетонітрил. Визначення ейкозаноїдів та  $\alpha$ -ПНП проводили наборами фірми "Amersham" (Англія), у відповідності до інструкцій, які додавалися до наборів. Статистичну обробку даних проводили по t-критерію Стьюдента.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Аналіз розподілу  $\alpha$ -ПНП в досліджених структурах мозку інтактних самців продемонстрував найвищі його рівні в ядрах перегородки, найнижчі — в медіобазальному гіпоталамусі, хоча в цілому амплітуда коливань в межах даних структур не була особливо вираженою. Визначені нами рівні  $\alpha$ -ПНП практично відповідають рівням препронатрійуретичного пептида визначеного [ 14 ] в дискретних структурах мозку.

У пренатально стресованих тварин спостерігалася тенденція до

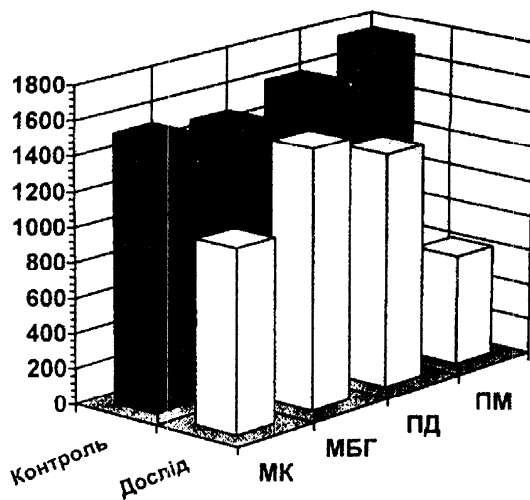


Рис. 1. Вплив пренатального стресу на рівні  $\alpha$ -ПНП, ф/моль/г.  
ПМ-перегородка мозку  
ПД-медіобазальний гіпоталамус  
МК-мигдалеподібний комплекс.

загального зменшення рівня  $\alpha$ -ПНП, за виключенням медіобазального гіпоталамуса, де він залишався сталим (рис. 1).

Найбільш виражене зменшення  $\alpha$ -ПНП спостерігалася в перегородці мозку та мигдалеподібному комплексі. Таким чином, очевидно, що пренатальний стрес має неодинаковий вплив на рівні  $\alpha$ -ПНП у досліджених нами структурах. Цей факт може мати декілька пояснень.

По-перше, внутрішньоутробна експресія  $\alpha$ -ПНП в різних структурах мозку відбувається неодноразово, починаючи з 9,5 дня пренатального життя [ 6 ]. Експресія  $\alpha$ -ПНП в перегородці мозку співпадає з періодом пренатального стресування, що, очевидно, призводить до більш грубих її порушень. По-друге, цілком ймовірно, що дана картина відображає ступінь участі різних нейроендокринних центрів в реакції на пренатальний стрес. Адже відомо, що ПНП може лімітувати стрес-реакції шляхом різних механізмів. Найбільш вивченим є механізм обмеження стрес-реакції на рівні регуляції секреції АКТГ гіпофізом. Декотрі автори вважають, що ПНП, синтезуючись в гіпоталамусі, проникає в портальну систему гіпофіза, де пригнічує його реакцію на кортиколіберин [ 1 ]. Інші ж дослідники дотримуються точки зору, згідно якій ПНП може безпосередньо стримувати активацію кортиколіберинергічної системи мозку на рівні конкретних структур [ 5 ]. Якщо брати до уваги, що з усіх досліджених нами структур саме в ядрах перегородки та мигдалеподібного комплексу сконцентровані кортиколіберин-продукуючі елементи, а згідно з дослідженнями [ 3 ] кортиколіберин фетального мозку щура починає продукуватися уже з 15 доби ембріонального розвитку, стає зрозумілим, чому саме ці структури є найбільш чутливими до коливань  $\alpha$ -ПНП, викликаними впливом пренатального стресу. Таким чином, отримані нами дані в більшій мірі узгоджуються з роботами [ 3 ]. Що стосується розподілу досліджених ейкозаноїдів в вищезазначених структурах мозку, то він характеризується досить вираженою кількісною неоднорідністю (рис. 2, 3, 4). Так, рівень ПГЕ<sub>2</sub> виявився найвищим в преоптичній ділянці, найнижчим — в мигдалеподібному комплексі (рис. 2), в той час як найвищі рівні ПГФ<sub>2 $\alpha$</sub>  визначалися в мигдалеподібному комплексі. В інших структурах цей ейкозаноїд розподілявся досить рівномірно (рис. 3).

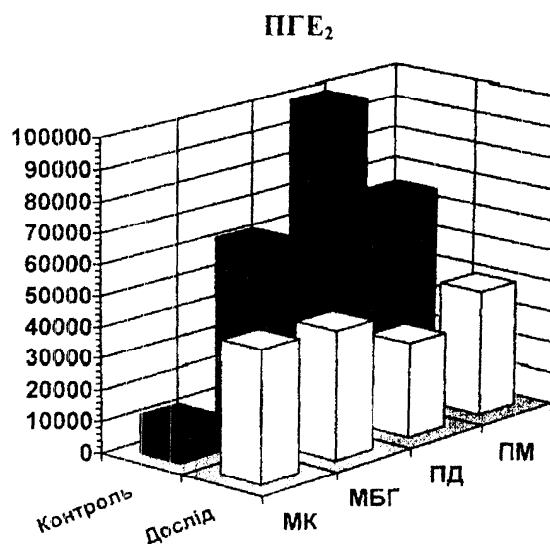


Рис.2. Вплив пренатального стресу на рівні ПГЕ<sub>2</sub>, пг/г тканини. Позначення аналогічні рис. 1.

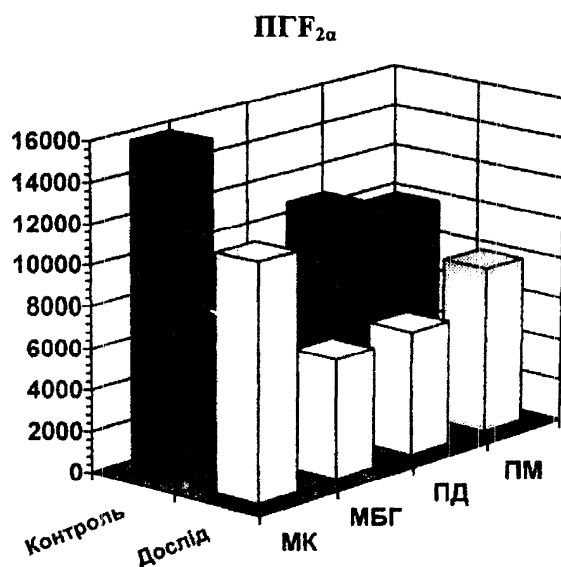


Рис.3. Вплив пренатального стресу на рівні ПГЕ<sub>2α</sub>, пг/г тканини. Позначення аналогічні рис.1.

Найвищі рівні ТхВ<sub>2</sub> знову ж таки спостерігалися в мигдалеподібному комплексі (рис. 4), а розподіл 6-кетоПГФ<sub>1α</sub> у всіх досліджених структурах був рівномірним.

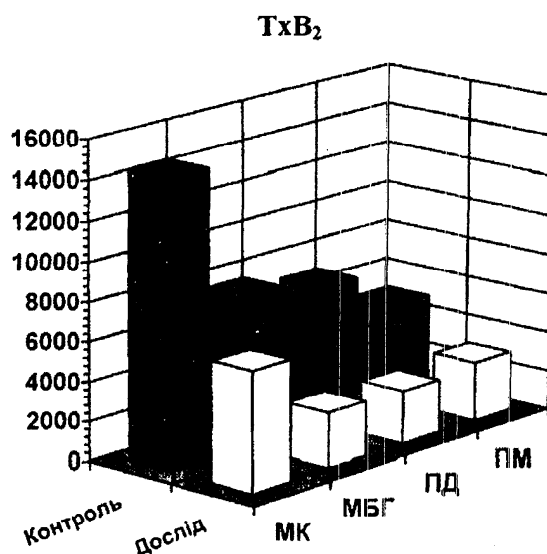


Рис. 4. Вплив пренатального стресу на рівні ТхВ<sub>2</sub>, пг/г тканини. Позначення аналогічні рис. 1

Пренатальний стрес призвів до значного зменшення рівня ПГЕ<sub>2</sub> у всіх вивчених структурах, за виключенням мигдалеподібного комплексу, причому найбільш вираженим зниження було в преоптичній ділянці. Реакція мигдалеподібного комплексу на пренатальний стрес була своєрідною — спостерігалось значне збільшення рівня ПГЕ<sub>2</sub>.

Рівень ПГФ<sub>2α</sub> у пренатально стресованих тварин також зменшувався. Лише в ядрах септального комплексу він залишався незмінним.

Реакція на пренатальний стрес  $\text{TxV}_2$  та 6-кето- $\text{PGF}_{1\alpha}$  була однозначною — у всіх досліджених структурах спостерігалось зменшення їх рівнів. Звертає на себе увагу надзвичайна вираженість цього зниження стосовно 6-кето- $\text{PGF}_{1\alpha}$ . Наприклад, в преоптичній ділянці рівень його став в 2  $0_2$  рази нижчим, ніж у інтактних тварин.

Наведені дані свідчать, що біохімічні зміни в фетальному мозкові, викликані пренатальним стресом, мають стійкі віддалені наслідки.

Згідно даним літератури материнські катехоламіни в високих, нефізіологічних дозах, які мають місце при стресі, здатні проникати через плаценту та зменшувати в ній кровообіг, що призводить до тимчасової плацентарної недостатності та гіпоксії у плодів [ 3 ]. Одним з дуже серйозних наслідків цього є зміни в метаболізмі арахідонової кислоти та продуктів її окиснення [13, 15]. Показано, що при штучно створеній плацентарній гіпоксії рівень  $\text{PGE}_2$  в фетальному мозкові зростає вдвічі, а  $\text{TxV}_2$  та 6-кето- $\text{PGF}_{1\alpha}$  — в 4,5 та 2,5 рази відповідно в порівнянні з контрольними плодами, наближаючись до базального рівня лише через 2 доби [13, 15]. Однак найцікавішим в цих дослідженнях було те, що після завершення періоду плацентарної недостатності і плацента і фетальний мозок втрачали здатність метаболізувати екзогенну надбавку арахідонової кислоти в ейкозаноїди, що свідчить про пошкодження метаболічних механізмів, відповідальних за конверсію арахідонової кислоти в ейкозаноїди в мозкові та плаценті. Така недостатність ензиматичної активності, на думку авторів, може мати 3 причини: 1) попереднє надмірне утворення простаноїдів; 2) накопичення специфічних інгібіторів; 3) пошкодження ензимів утвореними за цих умов вільними радикалами [4, 10, 11]. Судячи з отриманих нами стійких віддалених наслідків, в фетальному мозкові під час пренатального стресу відбувається стійке пошкодження ферментативної активності.

Якщо проаналізувати вираженість змін, які ми спостерігали як наслідок пренатального стресу, то можна побачити, що по відношенню до  $\alpha$ -ПНП найбільш чутливою є перегородка мозку. В той же час порушення метаболізму арахідонової кислоти після такого втручання в перегородці мозку були найменшими, а найбільшу вираженість вони мали в мигдалеподібному комплексі. Це єдина структура, яка у пренатально стресованих самців у випадку  $\text{PGE}_2$  реагувала підвищенням рівня, а зменшення  $\text{TxV}_2$  та 6-кето- $\text{PGF}_{1\alpha}$  було найбільш вираженим саме в цьому комплексі ядер. Така неоднозначність в реакції різних структур спростовує розповсюджену думку про те, що здатність фетального мозку генерувати власні ейкозаноїди і ПНП необхідна виключно для регуляції фетальної церебральної циркуляції [8, 13]. Ми вважаємо, що наші дані узгоджуються з даними [6, 12, 15], згідно яким, крім вказаної функції, ці речовини виконують при стресі важливу нейромодуляторну роль, подібну до тієї, яка має місце в дорослому мозкові, а різниця в чутливості окремих структур до дії пренатального стресу свідчить про їх функціональну гетерогенність в системі нейроендокринної регуляції фетального мозку.

Література.1.Вундер П.А., Хохлова О.Н., Андропов Е.В. Значение натрийуретического гормона сердечного и мозгового происхождения в гормональной регуляции // Успехи соврем. биол. – 1997.- 117, вып. 1.– С. 68-82. 2.Науменко Е.В., Дыгало Н.Н., Маслова Л.Н. Длительная модификация

стрессорной реактивности воздействиями в пренатальном онтогенезе // Онтогенетические и генетико-эволюционные аспекты нейроэндокринной регуляции стресса.– Новосибирск: Наука, Сибирское отделение, 1990.– С. 40-54. 3.Роде В., Окава Т., Шталл Ф. и др. Изменения нейроэндокринной системы плодов крыс при остром стрессе в конце беременности // Онтогенетические и генетико-эволюционные аспекты нейроэндокринной регуляции стресса.– Новосибирск: Наука, Сибирское отделение, 1990.– С. 28-40. 4.Шаляпина В.Г. Функциональные качели в нейроэндокринной регуляции стресса // Физиол. ж. им. И.М. Сеченова.– 1996.- 82, №4.–С. 9-14. 5.Biro E., Gardi J., Vecsernyes M. et al. The effects of atrial-natriuretic-peptide (ANP(1-28)) on corticotropin-releasing factor in brain of rats // Life Sci.–1996.–16-P.1351-1356. 6.Cameron V.A., Aitken G.D., Ellmers L.J. et al. The sites of gene-expression of atrial, brain, and C-type natriuretic peptides in mouse fetal development - temporal changes in embryos and placenta // Endocrinol. – 1996.–№3.-P. 817-824. 7.Dobbing J. Vulnerable periods in developing brain // Applied Neurochemistry.–Oxford, 1963.-P.287-316. 8.Iton H., Sagawa R. Umbilical venous guanosine 3',5' – cyclic phosphate (CGMP) concentration increase in asphyxiated newborn // Reprod. Fert.–1996.– №6.–P. 1515-1519. 9.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. 10.Lands W.E., Kulmacz R.Z., Marshall P.J. Lipid peroxide actions in the regulation of prostaglandin biosynthesis // Free Radicals in Biology.– San Diego, 1984.–P. 39-61. 11.Mead F.J. Free Radical mechanisms of lipid damage and consequences for cellular membranes // Free Radical in Biology.– New York, 1976.-P 51-68. 12.Mitchell M.D., Brenneke S.P., Saeed S.A. et al. Arachidonic acid metabolism in the fetus and neonate // Biological Protection with Prostaglandins, 1985.–Vol. 1. –P. 27-44. 13.Rudolph A.M. Effects of prostaglandin and synthetase inhibitor on fetal circulation // Proc. of the Firth Symposium of the Royal Col. on Obst and. Gynecol.–London, 1977.–P. 231-242. 14.Ryan M.C., Gundlach A.. Anatomical localisation of preproatrial natriuretic peptide messenger-RNA in the rat - brain by in situ hybridisation histochemistry–novel identification in olfactory regions // J. Comp. Neur.–1995.– №2.–P.168-182. 15.Yavin E., Goldin E., Magal E. et al. Ischemia stress and Arachidonic Acid Metabolites in the Fetal Braine // – Arachidonic Acid in the Nervous System.–1989.-Vol.559.–P.249-258.

### **An analysis of condition of some brain stress-limited system components of prenatal stressed albino male rats**

***S.S.Tkachuk***

**Abstract.** The prenatal stress influence on  $\alpha$ -ANF, PGE<sub>2</sub>, 6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  and TxB<sub>2</sub> levels in preoptic area, mediobasal hypothalamus, septum and amygdala of rat brain was investigated. It was ascertained existence of prenatal stress results on investigated factors levels in all above mentioned brain structures and different sensitivities of these structures to prenatal stress which means their functional heterogeneous in fetal brain neuroendocrine regulation system.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsy).