

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

РОЛЬ ГАМК-ЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ МОЗКУ В МЕХАНІЗМАХ ОБМЕЖЕННЯ СТРЕС-РЕАКЦІЇ У ІНТАКТНИХ ТА ПРЕНАТАЛЬНО СТРЕСОВАНИХ САМЦІВ ЩУРІВ

Кафедра медичної біології, генетики та паразитології (зав. – проф. В.П. Пішак),
кафедра нормальної фізіології (зав. - д.м.н. О.Л. Кухарчук),
Кафедра патологічної фізіології і медичної фізики (зав. — проф. В. Ф. Мислицький)

Ключові слова: пренатальний стрес, ГАМК, мусцимол, баклофен, кортикостерон.

Резюме. Досліджено особливості ГАМК-ергічної регуляції стрес-індукованої секреції кортикостерону у інтактних та пренатально стресованих самців щурів. Встановлено, що у інтактних тварин ГАМК обмежує підвищення кортикостерону в плазмі крові через ГАМК_A та ГАМК_B рецептори. У пренатально стресованих самців порушується обмеження секреції кортикостерону через ГАМК_A рецептори.

Вступ. Важливою ланкою в механізмах термінової адаптації організму до стресових впливів є включення стрес-лімітуючої дії ГАМК-ергічної системи головного мозку [1].

Дані літератури свідчать про значну роль різних складових ланок ГАМК-ергічної системи, особливо її рецепторних структур, у контролі кортикотропної функції аденогіпофіза як в нормі, так і за умов стресу [1, 5, 8]. Порушення функціонування ГАМК-ергічної системи гіпоталамуса, лімбічних структур мозку, аденогіпофіза за умов сильного стресу у взаємодії з порушеннями інших нейромедіаторних систем лежать в основі стресорних пошкоджень центральної нервової системи, серця, імунної системи тощо. Особливо небезпечними можуть бути такі порушення на ранніх етапах онтогенезу. В цей час навіть відносно слабкі впливи, які не викликають видимих морфологічних пошкоджень, часто супроводжуються тривалими, або й постійними порушеннями стрес-реактивності [2, 3].

Мета дослідження. Дослідити можливі віддалені модифікації ГАМК-ергічної регуляції секреції кортикостероїдів у самців щурів, які перенесли материнський стрес.

Матеріал і методи. Дослідження проведені на дорослих самцях білих щурів, народжених самками, яких упродовж останнього тижня вагітності (з 15-ї по 21-у добу) щоденно іммобілізували впродовж однієї години. Контрольні групи представлені самцями того ж віку, отриманими від інтактних самок. Досліджувані препарати вводили інтрацистернально в дозах: баклофен – 2,5 мг, мусцимол – 2 мкг в 10 мкл розчинника. Контрольним тваринам вводили фізіологічний розчин в адекватному об'ємі.

Кортикостерон в плазмі крові визначали радіоімунним методом наборами фірми "DRG International", США. Експериментальні дані оброблені статистично з використанням критерію Стюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Базальні рівні кортикостерону у інтактних та пренатально стресованих щурів практично не відрізнялися (рис. 1, 2).

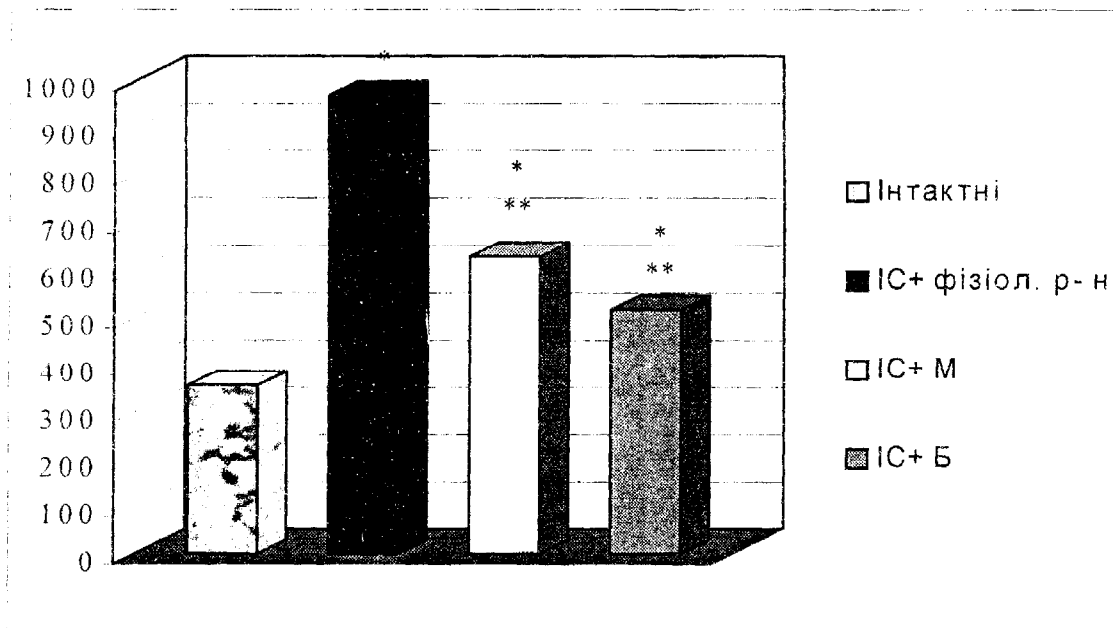


Рис. 1. Вплив мусцимолу та баклофену на стрес-індукований рівень кортикостерону в плазмі крові інтактних щурів.

Примітка. ІС – іммобілізаційний стрес;
 М – мусцимол;
 Б – баклофен;
 * – вірогідність змін в порівнянні з інтактними тваринами;
 ** – вірогідність змін в порівнянні з іммобілізаційним стресом в межах кожної групи тварин.

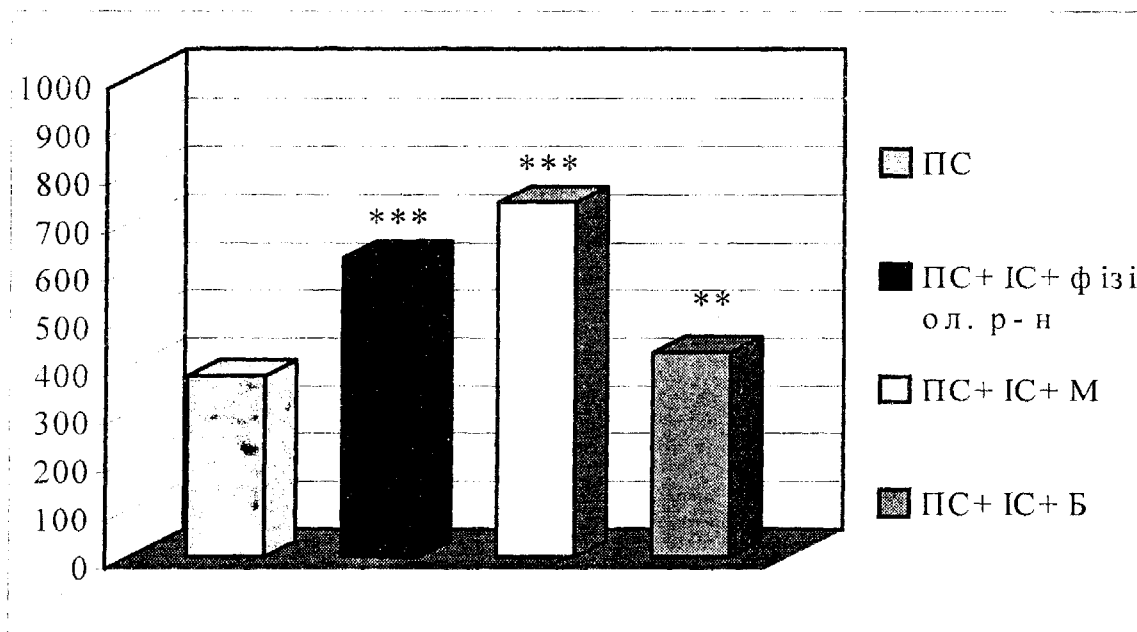


Рис. 2. Вплив мусцимолу та баклофену на стрес-індукований рівень кортикостерону в плазмі крові пренатально стресованих щурів.

Примітка. ПС – пренатальний стрес;
 *** – вірогідність змін в порівнянні з пренатально стресованими тваринами.

Імобілізація після введення фізіологічного розчину призвела до зростання рівнів кортикостерону плазми крові у тварин обох груп, хоча у щурів, які перенесли материнський стрес, цей показник був значно нижчим, ніж у інтактних ($p < 0,005$), що відповідає даним літератури про зниження стрес-реактивності гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи у пренатально стресованих тварин [2, 3].

Інтрацистернальне введення агоніста ГАМК_A рецепторів мусцимолу значно зменшувало у контрольних тварин рівень кортикостерону, ініційований стресом, хоча він і залишався вищим від базального. Подібний результат мав місце і після введення агоніста ГАМК_B рецепторів баклофену, однак в цьому випадку ефект був більш значним, ніж після введення мусцимолу ($p < 0,05$). Отже, отримані нами дані свідчать, що в регуляції секреції кортикостерону при емоційному стресі беруть участь як ГАМК_A, так і ГАМК_B типи рецепторів.

Інтрацистернальне введення препаратів виключає їх периферичну дію, тому можна вважати, що ефекти, які мали місце в наших дослідженнях, зумовлені змінами секреції кортиколіберину та/або кортикотропіну.

Сучасна концепція ГАМК-ергічної регуляції кортикотропної функції виходить в основному з того, що вплив ГАМК на секрецію АКТГ опосередкований її дією на кортиколіберин, хоча не виключається безпосередня дія медіатора на рівні аденогіпофіза [1, 7, 8].

Згідно з даними літератури, основними ланками, які залучаються до реалізації механізмів ГАМК-ергічного контролю кортикотропної функції аденогіпофіза за умов порушення функціонування системи гіпоталамус-гіпофіз, є власне ГАМК_A рецептори, ГАМК_A-бензодіазепінові рецептори, барбітурат-пікротоксинова одиниця ГАМК_A рецепторів та ГАМК_B рецептори структур мозку, що беруть участь у регуляції функції гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи та власні ГАМК рецептори аденогіпофіза [1].

Про це свідчать досліди, в яких введення ГАМК в шлуночки мозку призводило до зниження базального вмісту 11-ОКС в крові [9] та запобігало підвищенню вмісту кортикостерону після оперативного втручання [8]. Цей ефект ГАМК усувався пікротоксином — антагоністом барбітурат-пікротоксинової одиниці ГАМК_A рецепторів. Бікукулін, антагоніст ГАМК_A рецепторів, в разі внутрішньошлуночкового введення збільшував рівень АКТГ та кортикостерону [7]. Введення ГАМК в туберо-інфундибулярну або преоптичну ділянки гіпоталамуса щурів знижувало підвищений стресом рівень кортикостерону. В дослідях *in vitro*, з використанням культур тканин гіпоталамуса та аденогіпофіза, внесення в середовище баклофену запобігало вивільненню кортиколіберину [5].

В цілому результати наших досліджень узгоджуються з даними літератури щодо обмежуючого впливу ГАМК на стрес-індукований стероїдогенез в наднирниках.

Більшість дослідників вважають, що провідна роль в ГАМК-ергічній регуляції активності гіпофізарно-гіпоталамо-наднирникової системи належить різним субодиницям ГАМК_A рецепторів [1, 9].

Отримані ж нами дані свідчать, що саме агоніст ГАМК_B рецепторів баклофен мав більш виражений обмежуючий вплив на секрецію кортикостерону.

Що стосується тварин, які перенесли материнський стрес, у них мала місце дещо інша картина. Введення мусцимолу не впливало на індукований стресом рівень кортикостерону. Ефект введення баклофену був практично таким же, як і у контрольних тварин.

Таким чином, складається враження, що у пренатально стресованих тварин ГАМК_A рецептори втрачають здатність відповідати активацією на стрес. За цих умов логічно було б очікувати значного зростання рівня кортикостерону внаслідок стресу в порівнянні з інтактними тваринами, однак, як вже було зазначено, він залишається значно нижчим. Очевидно, в даному випадку має місце порушення зворотного зв'язку між ГАМК_A рецепторами та кортикостероїдами, функціонування якого було доведено дослідженнями [1].

При аналізі можливих механізмів порушення функціонування ГАМК_A рецепторів, що мають місце у пренатально стресованих щурів, варто звернутися до онтогенетичного розвитку ГАМК-ергічної системи. Про важливе значення цієї медіаторної системи для ЦНС свідчить те, що в ембріональному мозку ГАМК знаходять вже з 15-ї доби [10]. Розвиток ГАМК – рецепторів починається теж з цього дня з формування субодиниць саме ГАМК_A рецепторів [6,11], а за умовами наших дослідів якраз з 15-ї доби тварини зазнавали дії материнського стресу.

Як відомо [3], під час стресу материнські стероїди наднирників частково проникають через плаценту. Згідно з даними цих же авторів, гіпоталамічний регуляторний механізм, який контролює секрецію АКТГ, формується на 16,5–17,5 день пренатального періоду, а кортиколіберин гіпоталамуса відповідає на материнський стрес на 20-й день внутрішньоутробного розвитку, призводячи до посиленого виділення з наднирників кортикостероїдів. Все це створює високу концентрацію кортикостероїдів в крові плода. За даними літератури [1], порушення рівнів кортикостероїдів та кортикотропіну призводить за принципом зворотного зв'язку до змін спрямованості та інтенсивності метаболізму ГАМК в гіпоталамусі та гіпокампі.

Як показано в роботі [4], в ембріональному періоді та впродовж першого тижня після народження ГАМК відіграє роль збудливого медіатора в нейронах практично всіх структур мозку, які розвиваються. Цей збудливий ефект здійснюється через ГАМК_A рецептори і є необхідним для нормального синаптогенезу, формування нейронної сітки, міжклітинної взаємодії та синаптичної пластичності [10]. Тому цілком природньо, що порушення обміну ГАМК материнськими та власними кортикостероїдами, маючи згубний вплив на формування ГАМК-ергічної системи, і, в першу чергу, ГАМК_A рецепторів, зворотного зв'язку в системі кортикостероїди - ГАМК, може мати наслідки для нормального розвитку нейронів та їх диференціювання, становлення та модуляцію синапсів тощо.

Висновки.

1. У інтактних самців щурів ГАМК обмежує підвищення рівня кортикостерону в плазмі крові, ініційоване стресом через системи ГАМК_A та ГАМК_B рецепторів.

2. У самців, які перенесли материнський стрес, порушується функціонування ГАМК_A рецепторів, що проявляється нездатністю обмежувати

стрес-індуковане підвищення кортикостерону через систему цих рецепторів.

Література. 1. Мишунина Т.М., Кононенко В.Я. Участь гамма-аміномасляної кислоти в регуляції функції гіпоталамус-гіпофіз-кора надниркових залоз // *Ендокринологія*. -1997.- Т.2, №2. – С.83-93. 2. Резніков О.Г., Носенко Н.Д., Тарасенко Л.В., Сініцин П.В. та ін. Морфологічні та функціональні зміни нейроендокринної системи у пренатально стресованих щурів // *Буковинський мед.вісник*. – 1998. - №2. – С.47-51. 3. Роде В., Окава Т., Штал Ф., Гетц Ф. и др. Изменения нейроэндокринной системы плодов крыс при остром стрессе в конце беременности//Онтогенетические и генетико-эволюционные аспекты нейроэндокринной регуляции стресса. – Новосибирск: Наука, 1990. – С.28-40. 4. Хазитов Р.И., Зедиров А.Л., Бен-Ари Е. ГАМК – основной медиатор возбуждения на ранних этапах развития гиппокампа // *Успехи физиол.наук*. – Т.29, №3. –С.55-67. 5. Callogero A., Gallucci W., Chrousos G. et al. Interaction between GABA-ergic neurotransmission and rat hypothalamic corticotropin-releasing hormone secretion in vitro//*Brain Res.* – 1988. - V.463, N1. – P. 28– 36. 6. Ma V., Barker J.L. Complementary expressions of transcripts encoding Gad(67) and GABA (A) receptor alpha – 4, beta – 1, and gamma – 1 subunits in the proliferative zone of the embryonic rat central nervous system//*J.Neurosci.* – 1995.- V.15, N3. – P.2547-2560. 7. Majewska M., Bisslerbe J.-C., Eskay R. Glucocorticoids are modulators of GABA receptors in brain // *Brain Res.* – 1985. – V.339, N1. – P.178-182. 8. Makara G., Stark E. Effect of gamma-aminobutyric acid (GABA) and GABA antagonists drugs on ACTH release//*Neuroendocrinology*. – 1974.—V.16, N 3-4. – P.178-190. 9. Miques I., Aldeguende M. Effect of gamma-aminobutyric acid on corticosterone secretion: involvement of the noradrenergic system//*Life Sci.* – 1990.- V.46, N 12. – P. 875-880. 10. Vandenberg A.N., Obrian K., Cao V., Trombley P.Q. Embryonic hypothalamic expression of functional glutamate receptors//*Neurosci.* – 1995. – V. 67, N2. – P.419-439. 11. Van den C.G., Parmar R., Lichtensteiger W., Schlumpf M. Laminar distribution of GABA (A) receptor alpha (1), beta(2), and gamma (2) subunit messenger - RNAs in the granular and agranular frontal cortex of the rat during prenatal and postnatal development//*Cereb.Cort.* –1995. – V.5, N 3. – P. 234-246.

THE ROLE OF BRAIN GABA-ERGIC SYSTEM IN STRESS-REACTION LIMITATION MECHANISMS IN INTACT AND PRENATALLY STRESSED RATS

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

Abstract. The peculiarities of stress-induced corticosterone secretion GABA-ergic regulation were investigated on intact and prenatally stressed male rats. It was ascertained that GABA limited corticosterone increases in the blood plasma with GABA_A and GABA_B receptors. The corticosterone secretion limitation with GABA_A receptors was not observed in prenatally stressed rats.

Key words: prenatal stress, GABA, muscimol, baclofen, corticosterone.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi).