

THE ANALYSIS OF ABSORBING AND SCATTERING PROPERTIES OF BLOOD PLASMA AND URINE PROTEINS

O. V. Pishak, V. P. Pishak,
S. G. Guminetsky, P. M. Grigorishin

Abstract. An analysis of the absorbing and scattering properties of blood and urine plasma proteins is presented in spectrum range 190-350 nm. We have established that in the analytical absorption range of $\lambda = 280$ nm, the absorption of albumins and globulins dissolved in distilled water are quite different. It is shown, that globulin molecules are light diffusive but the albumin solutions in the analyzed spectrum interval are optically homogenous. These properties were taken as essential principles of the optic methods of separate determination of the albumin and globulin concentration in biological media.

Key words: plasma proteins, UV-spectroscopia, albumin, globulin, light scattering.

Bukovinian State Medical Academy, Chernivtsi State University (Chernivtsi).

УДК 612.8:612.43

С. С. Ткачук

ВПЛИВ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕСУ НА ОКРЕМІ ПОКАЗНИКИ ГОРМОНАЛЬНО-МЕДІАТОРНОГО ІМПРИНТІНГУ

Кафедра нормальної фізіології (зав. — д.м.н. О. Л. Кухарчук)
Буковинської державної медичної академії

Ключові слова: пренатальний стрес, ^3H -естрадіол, моноаміни, гіпоталамус.

Резюме. Проведені дослідження показали значне підвищення зв'язування естрадіолу нейронами преоптичної ділянки та аркуатних ядер гіпоталамуса старих щурів. Ці зміни з'являлися значно раніше у пренатально стресованих самок.

Порівняльний аналіз стану моноамінергічних систем преоптико-медіальних, преоптико-латеральних, аркуатних та паравентрикулярних ядер в онтогенезі показав значне зменшення флуоресценції моноамінів в ядрах преоптичної ділянки старих самок. В аркуатних та паравентрикулярних ядрах ці зміни практично були відсутні. В паравентрикулярних ядрах пренатально стресованих самок флуоресценція моноамінів була значно нижчою на всіх етапах онтогенезу.

Вступ. Індивідуальні особливості реактивності нейроендокринної системи, як і цілого організму, залежать не тільки від спадкових факторів, але й від умов його формування в ранньому онтогенезі, коли відбувається прискорене розгортання генетичної програми та бурхливий розвиток головного мозку. В цей період організм особливо чутливий до несприятливих впливів, які залишають тривалі, а часто і постійні порушення нейроендокринної регуляції [6]. В повній мірі це стосується нейроендокринних проявів пренатального стресу, який має здатність порушувати нормальний перебіг імпринтінгу, що здійснюється гормонами статевих залоз [7].

Мета нашої роботи — дослідити вплив пренатального стресу на деякі показники гормонально-медіаторного імпринтінгу у самок щурів, в зв'язку з чим був здійснений порівняльний аналіз стану моноамінергічних та естрадіолзв'язу-

ючих систем у інтактних та пренатально стресованих самок в окремих ділянках мозку, які мають найбільш тісне відношення до здійснення нейроендокринної регуляції.

Матеріали і методи. Досліди проведені на самках білих шурів віком 3, 10, 30, 60, 90 діб, 1 та 2 роки. З моменту появи естральних циклів в дослід відбирали тварин, які знаходилися у фазі міжтітки.

2, 4, 6, 7-(³H)-естрадіол фірми "Amersham" вводили внутрішньоочеревинно з розрахунку 18,5 кБк/г маси тіла. За 24 години до введення мічених гормонів шурів кастрували. Через 1 годину після введення мічених гормонів шурів декапітували, мозок занурювали в зріджений азот. Подальшу обробку проводили по [9]: робили серійні зрізи у фронтальній площині товщиною 5 мкм, покривали фотоемulsion'ю типу "М", експонували в темряві 4-6 тижнів. Підрахунок радіоавтографів проводили по методу [11].

Моноаміни визначалися в преоптико-латеральному, преоптико-медіальному, аркуатному та паравентрикулярному ядрах гіпоталамуса. Тварин декапітували в зазначені терміни. Мозок виймали, вирізали шматочки розміром 1,5-2x3-4 мм, які містили необхідні структури, та проводили їх ліофілну сушку під вакуумом $0,66 \times 10^{-5} - 10^{-6}$ кПа.

Висушені шматочки обробляли парами параформу та вимірювали інтенсивність флуоресценції моноамінів за допомогою люмінесцентного мікроскопа МЛ-4 з мікрофотометричною насадкою ФМЕЛ-1А. В площині препарата зонд дозволяв досліджувати площу $12,5 \text{ мкм}^2$ (лінійний розмір зонду 500 мкм, об'єктів x40). В кожному з препаратів проводили 40 промірів досліджуваної структури та 40 — фону. Електричні сигнали, пропорційні флуоресценції клітин і термін алей, виводили на перфоратор. Інтенсивність флуоресценції виражали в умовних одиницях. Статистична обробка проведена за програмою, прийнятою в лабораторії структури та функції синапсів Інституту біологічної фізики РАН [3].

Результати досліджень та їх обговорення. Характер поглинання ³H-естрадіолу нейронами досліджених ядер тонічного та циклічного центру регуляції секреції гонадотропінів відрізняється як у контрольних, так і у дослідних тварин: в ядрах преоптичної ділянки з 30 доби відмічається посилення зв'язування гормону, в той час як в аркуатному ядрі до кінця 2 року воно залишається досить стабільним (табл. 1). Очевидно, ця різниця обумовлена процесами формування позитивного зв'язку на рівні циклічного центру (ядра преоптичної ділянки), який починає формуватися в даному віці [7].

При аналізі вікової динаміки звертає на себе увагу значне збільшення кількості радіоактивних міток, яке має місце в усіх ядрах наприкінці 2 року у контрольних тварин та першого року — у пренатально стресованих. Отримані результати свідчать про суттєві зміни, які виникають з віком в гіпоталамічних структурах, що беруть участь в регуляції гонадотропної функції гіпофіза у самок. В літературі є дані, отримані електрофізіологічним методом, згідно з яким у старих самок відбувається зниження чутливості нейронів аркуатної та преоптичної ділянок гіпоталамуса до естрадіолу: для підсилення їх активності у старих самок доза введеного гормону в 3-5 разів перевищувала дозу, необхідну для досягнення такого ж ефекту у тварин репродуктивного віку [2]. Цими ж дослідженнями була показана відсутність різниці в чутливості до естрадіолу нейронів аркуатної та преоптичної ділянки у старих самок, на відміну від молодих. Отримані нами дані цілком узгоджуються з результатами [2].

При порівнянні гістоауторадіографічних даних у контрольних та пренатально стресованих самок на більш ранніх етапах онтогенезу різниця не прослідковується. Однак ті зміни в спорідненості до міченого гормону, які у інтактних самок з'являються наприкінці другого року життя, у дослідних присутні уже на першому році. Складається враження, що у пренатально стресованих тварин віконі зміни нейрогормональної регуляції репродуктивної функції розвиваються значно

Вплив пренатального стресу на здатність нейронів гіпоталамуса зв'язувати ^3H -естрадіол ($X \pm Sx$)

Вік	Кількість тварин	Серія	Назва ядер		
			Преоптико-медіальне	Преоптико-латеральне	Аркуатне
3 доби	6	К	6,55±0,07	9,8±0,08	7,86±0,07
	6	Д	6,78±0,08	9,91±0,09	7,79±0,05
10 діб	6	К	4,22±0,09	6,1±0,05	6,21±0,08
	6	Д	3,95±0,09	6,0±0,08	6,09±0,08
30 діб	6	К	7,82±0,09	9,01±0,08	8,12±0,05
	6	Д	7,83±0,08	8,81±0,08	8,01±0,09
60 діб	6	К	11,17±0,09	12,81±0,09	5,98±0,03
	6	Д	10,95±0,08	12,97±0,07	6,07±0,07
90 діб	6	К	12,89±0,09	13,12±0,06	6,91±0,05
	6	Д	13,19±0,07 p<0,05	13,25±0,09 p<0,05	7,21±0,09
1 рік	6	К	11,92±0,07	12,92±0,07	6,58±0,07
	6	Д	18,45±0,09 p<0,005	17,27±0,06 p<0,005	6,49±0,05
2 роки	6	К	19,8±0,08	21,45±0,07	18,52±0,05
	6	Д	20,1±0,09 p<0,05	19,21±0,09 p<0,05	19,48±0,07 p<0,005

В усіх випадках, крім вказаних, p>0,05; К — контроль; Д — дослід.

Інтенсивність флуоресценції моноамінів в ядрах мозку в онтогенезі
(умовні одиниці флуоресценції)

Вік	Серія	Кількість тварин	Назва ядра			
			Преоптико-медіальне	Преоптико-латеральне	Аркуатне	Паравентрикулярне
3 доби	К	6	6,14±0,18	3,51±0,21	3,21±0,14	31,82±1,25
	Д	6	6,0±0,32	2,9±0,31	3,85±0,29	12,51±0,48 p<0,005
10 діб	К	6	10,11±0,31	5,48±0,32	4,82±0,19	41,32±1,48
	Д	6	9,3±0,27	6,22±0,38	3,98±0,33	29,63±0,92 p<0,005
30 діб	К	6	6,71±0,42	6,18±0,29	7,91±0,42	47,82±1,25
	Д	6	5,91±0,37	6,95±0,41	8,35±0,38	31,38±0,80 p<0,005
60 діб	К	6	12,21±0,25	9,91±0,31	16,82±0,73	51,35±1,78
	Д	6	13,1±0,11	10,61±0,50	14,93±0,95	37,29±1,68 p<0,005
90 діб	К	6	9,8±0,37	11,37±0,48	15,37±0,38	49,83±1,63
	Д	6	10,6±0,42	10,8±0,48	14,82±0,48	14,82±0,48 p<0,005
1 рік	К	6	10,3±0,41	10,92±0,37	17,21±0,42	56,31±1,97
	Д	6	10,8±0,26	9,78±0,50	18,29±0,72	39,11±1,25 p<0,005
2 роки	К	6	5,81±0,38	4,11±0,21	19,11±0,68	52,47±2,11
	Д	6	6,3±0,32	5,21±0,38	18,92±0,80	41,20±1,21 p<0,005

В усіх випадках, крім вказаних, p>0,05; К — контроль; Д — дослід.

раніше, ніж у їх інтактних ровесниць. Такі пізні онтогенетичні зміни можуть бути причиною того, що більшість дослідників не знаходили серйозних порушень репродуктивної функції у пренатально стресованих самок, на відміну від самців, яких прийнято вважати більш чутливими до стресу.

Що стосується рівня моноамінів у вищезазначених структурах як контрольних, так і дослідних самок, спостерігається досить рівномірне зростання флуоресценції з тенденцією до стабілізації у тварин двохмісячного віку. Наприкінці другого року життя в преоптико-медіальному та преоптико-латеральному ядрах рівень флуоресценції значно зменшується. Проте в аркуатних ядрах інтенсивність флуоресценції в цьому віці суттєво не змінюється. Така неоднозначність очевидно віддзеркалює функціональну гетерогенність вивчених структур. Зменшення рівня моноамінів в ядрах преоптичної ділянки можна пояснити згаданим у старих самок репродуктивної функції, яке зв'язане з поступовою втратою функціональної активності циклічного центру регуляції секреції гонадотропінів, котрий ототожнюють з даними ядрами [2, 7]. Звертає на себе увагу той факт, що флуоресценція моноамінів у паравентрикулярному ядрі відрізняється найменшими коливаннями, але на всіх досліджених етапах онтогенезу у пренатально стресованих тварин вона залишається значно нижчою.

Якщо виходити з того факту, що дане ядро є основним джерелом кортиколиберину, а його моноамінергічні системи є постійними медіаторними компонентами стресу [8], стає зрозумілим, чому старі інтактні самки тривалий час зберігають високу чутливість до фізіологічних стресів [1], які, на думку [5, 8], в силу геропротекторного ефекту глюкокортикоїдів є важливим механізмом продовження тривалості життя. Окрім того, "реакції тренування і активації", що розвиваються в умовах слабких стресів, підсилюють резистентність до сильних стресорних впливів [4].

Разом з тим, низькі рівні моноамінів у паравентрикулярному ядрі пренатально стресованих самок свідчать про їх знижену здатність до адаптації, що узгоджується з концепцією наслідків пренатального стресу [6, 7].

Аналізуючи сукупність отриманих даних, можна стверджувати, що пренатальний стрес має стійкі віддалені наслідки для функціонування нейроендокринної системи самок.

Література. 1. А н и щ е н к о Т. Г. Половые аспекты проблемы стресса и адаптации // Успехи современной биол. — 1991. — 111, вып. 3. — С. 460-475. 2. Б а б и ч е в В. Н. Нейроэндокринология пола. — М.: Наука, 1991. — С. 222. 3. Б у д а н ц е в А. Ю., Ж а р и к о в С. И., Б а р и л к о Ш. И. и др. Микроспектрофлуориметр с выводом информации на перфоратор // Цитология. — 1978. — 20, № 4. — С. 476-479. 4. Г а р к а в и Л. Х., К в а к и н а Е. Б., У к о л о в а М. А. Адаптационные реакции и резистентность организма. — Ростов н/Д, 1977. — 120 с. 5. Д и л ь м а н В. М. Большие биологические часы. Введение в интегральную медицину. — М.: Знание, 1986. — 256 с. 6. Н а у м е н к о Е. В., В и г а ш М., П о л е н о в А. Л. и др. Онтогенетические и генетико-эволюционные аспекты нейроэндокринной регуляции стресса. — Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1990. — 230 с. 7. Р е з н и к о в А. Г. Половые гормоны и дифференциация мозга. — Киев: Наукова думка, 1982. — С. 252. 8. Ф р о л ь к и с В. В., М у р а д я н Х. К. Экспериментальные пути продления жизни. — Л.: Наука, Ленингр. отд-ние, 1988. — 246 с. 9. Х р у щ е в М. Г. Функциональная цитохимия рыхлой соединительной ткани. — М.: Наука, 1969. — 246 с. 10. Э в е р л и Дж. С., Р о з е н ф е л ь д Р. Стресс: природа и лечение. — М.: Медицина, 1985. — 223 с. 11. А г н о l d А. P. Quantitative analysis of steroid autoradiograms // J. Histochem. and Cytochem. — 1981. — 29, № 1A. — P. 207-211.

PRENATAL STRESS INFLUENCE ON SOME INDICATORS OF HORMONAL-MESSENGER IMPRINTING

S. S. Tkachuk

Abstract. This research shows the great increase of estradiol-binding in the preoptic area and arcuate nuclei neurons in the aged female rats. This changes appeared more earlier in the prenatal stressed females.

The comparative analysis of the preoptic lateral, arcuate and paraventricular nuclei monoaminergic systems in ontogenesis showed a great decrease of monoamine fluorescence in the preoptic area nuclei of the aged animals and practical absence of changes in the hypothalamic arcuate and paraventricular nuclei. In the paraventricular nucleus of prenatal stressed female monoamine fluorescence was rather low during the all ontogenetic periods.

Key words: prenatal stress, ^3H -estradiol, monoamines, hypothalamus.
Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi).
