

С.С.Ткачук

ВПЛИВ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕСУ НА ВМІСТ ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ У СТРУКТУРАХ МОЗКУ САМЦІВ-ЩУРІВ

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

Резюме. Досліджено вплив пренатального стресу на базальні та стрес-індуковані рівні циклічних нуклеотидів у перегородці мозку, преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі та мигдалеподібному комплексі. Встановлено, що пренатальний стрес призводить до збільшення базального вмісту цАМФ у преоптичній ділянці та медіобазальному гіпоталамусі і цГМФ у перегородці, преоптичній ділянці та мигдалеподібному комплексі. Імобілізація тварин збільшує вміст циклічних нуклеотидів в усіх досліджених структурах та зменшує співвідношення цАМФ/цГМФ за рахунок переважного зростання цГМФ.

Ключові слова: пренатальний стрес, іммобілізаційний стрес, цАМФ, цГМФ, структури мозку.

Вступ. Вивчення ролі вторинних месенджерів у процесах адаптації тварин до змін умов середовища залишається актуальною проблемою теоретичних та клінічних досліджень. Важлива роль в адаптивних процесах при дії стресорів різного генезу належить циклічним нуклеотидам, які є об'єктом регуляторного впливу багатьох гормонів та здатні виконувати самостійну захисну функцію [1,14].

Зниження стрес-реактивності внаслідок порушення гормон-медіаторного імпринтингу пренатальними стресовими впливами супроводжується нейроендокринним дисбалансом, зокрема [8,9]. Вивчення функціональної активності циклічних нуклеотидів за умов стресу може прояснити деякі механізми зазначених порушень у пренатально стресованих тварин.

Мета роботи. Дослідити вплив пренатального стресу на конститутивні та стрес-індуковані рівні цАМФ, цГМФ та їх співвідношення в перегородці мозку, преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі та амігдалі.

Матеріали і методи. Дослідження проведені на дорослих самцях безпородних білих щурів віком 90 діб, матері яких протягом останнього триместру вагітності (з 15-ї по 21-шу добу) підлягали дії одноденного жорсткого іммобілізаційного стресу щоденно. Контрольні групи представлені самцями того ж віку, отриманими від інтактних самок.

Евтаназію тварин виконували шляхом декапітації під легким ефірним наркозом по закінченню періоду іммобілізації. Мозок швидко виймали на холоді й одразу занурювали в рідкий азот. Виділяли перегородку мозку (ПМ), преоптичну ділянку (ПОД), медіобазальний гіпоталамус (МБГ) та мигдалеподібний комплекс (МК), звіряючись з атласом стереотаксичних координат [20].

Екстракцію циклічних нуклеотидів проводили на мініколонках "Amprer

SAX” (“Amersham”, Англія). Елюацію нуклеотидів здійснювали розчином трихлороцтової кислоти. Визначення цАМФ та цГМФ виконували наборами “cAMP” і “cGMP” (“Immunotech”, Франція). Кількість циклічних нуклеотидів розраховували в нмоль на г тканини.

Статистичну обробку результатів здійснювали за методом варіаційної статистики з використанням критерію t Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. За вмістом циклічних нуклеотидів в інтактних тварин досліджені структури можна розташувати таким чином: МК>МБГ>ПОД>ПМ стосовно цАМФ та МК>ПМ>ПОД>МБГ щодо цГМФ. У щурів іммобілізація спричинила приріст у 2,6, 3,2, 2,6 та 2,0 рази вмісту цАМФ та 1,7, 2,3, 1,9 та 1,9 рази вмісту цГМФ у перегородці, преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі й амігдалі відповідно. Співвідношення цАМФ/цГМФ зросло в перегородці, преоптичній ділянці та медіобазальному гіпоталамусі в 1,6, 1,5, 1,3 рази за рахунок переважного зростання цАМФ. В амігдалі циклазний індекс не змінився.

Таблиця 1

Вплив іммобілізації та пренатального стресу на вміст циклічних нуклеотидів у перегородці мозку та мигдалеподібному комплексі щурів (M±m; n=6)

Досліджувана структура	Характер впливу	цАМФ (нмоль/г тканини)	цГМФ (нмоль/г тканини)	Співвідношення цАМФ/цГМФ
Перегородка мозку	Інтактні	1,09±0,083	0,173±0,004	6,32±0,53
	Іммобілізація інтактних	2,82±0,196 p ₁ <0,005	0,29±0,019 p ₁ <0,005	9,91±0,68 p ₁ <0,005
	Пренатально стресовані	1,26±0,084	0,223±0,016 p ₁ <0,025	5,80±0,48
	Іммобілізація пренатально стресованих	1,93±0,178 p ₂ <0,01 p ₃ <0,01	0,356±0,028 p ₃ <0,005	6,03±0,41 p ₂ <0,005
Мигдалеподібний комплекс	Інтактні	1,89±0,121	0,216±0,018	8,81±0,63
	Іммобілізація інтактних	3,77±0,281 p ₁ <0,005	0,406±0,032 p ₁ <0,005	9,35±0,58
	Пренатально стресовані	2,04±0,133	0,302±0,029 p ₁ <0,025	6,36±0,47 p ₁ <0,025
	Іммобілізація пренатально стресованих	2,58±0,192 p ₂ <0,01 p ₃ <0,05	0,548±0,038 p ₂ <0,025 p ₃ <0,005	4,69±0,32 p ₂ <0,005 p ₃ <0,025

Примітки в цій та наступній таблиці: p₁ - вірогідність змін стосовно інтактних тварин; p₂ - вірогідність змін стосовно іммобілізації інтактних тварин; p₃ - вірогідність змін стосовно пренатально стресованих тварин. У решті випадків зміни невірогідні.

За даними літератури стресові впливи, у тому числі гостра іммобілізація, призводять до збільшення рівня циклічних нуклеотидів у плазмі крові [12], структурах мозку [11] і гіпофізі [14]. Згідно дослідженням [17] стрес, через гормональні зрушення, відіграє певну роль у формуванні співвідношення цАМФ/цГМФ, що має значення для функціонування нейронів та структурного стану мембран лізосом. Як показано [3], концентрація цАМФ

та цГМФ і їх співвідношення є об'єктивними критеріями збудливості нейронів. Накопичення цАМФ відображає збільшення нейронної активності і стан підвищеної збудливості. Зростання циклазного індексу за рахунок переважаючої концентрації цАМФ також зв'язують з підвищеною нейронною активністю, а, відповідно, і збудливістю центрів ЦНС [15], що узгоджується з концепцією первинної ролі негативного емоційного збудження емоціогенних зон ЦНС у механізмах розвитку стресу [11,16]. Показано [6], що у схильних до стресу тварин співвідношення цАМФ/цГМФ майже вдвічі вище, ніж у контролі, за рахунок зниження рівня цГМФ.

Таблиця 2

Вплив іммобілізації та пренатального стресу на вміст циклічних нуклеотидів у преоптичній ділянці та медіобазальному гіпоталамусі щурів ($M \pm m$; $n=6$)

Досліджувана структура	Характер впливу	цАМФ (нмоль/г тканини)	цГМФ (нмоль/г тканини)	Співвідношення цАМФ/цГМФ
Преоптична ділянка	Інтактні	1,55±0,102	0,121±0,009	12,3±1,06
	Іммобілізація інтактних	4,89±0,326 $p_1 < 0,005$	0,278±0,023 $p_1 < 0,005$	18,1±1,29 $p_1 < 0,025$
	Пренатально стресовані	1,87±0,087 $p_1 < 0,05$	0,199±0,017 $p_1 < 0,01$	9,1±0,72 $p_1 < 0,05$
	Іммобілізація пренатально стресованих	2,72±0,196 $p_2 < 0,005$ $p_3 < 0,01$	0,452±0,037 $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,005$	5,93±0,47 $p_2 < 0,005$ $p_3 < 0,01$
Медіобазальний гіпоталамус	Інтактні	1,62±0,093	0,097±0,009	17,1±1,33
	Іммобілізація інтактних	4,18±0,320 $p_1 < 0,005$	0,182±0,012 $p_1 < 0,005$	22,31±2,10 $p_1 < 0,05$
	Пренатально стресовані	1,96±0,111 $p_1 < 0,05$	0,112±0,010	18,3±1,36
	Іммобілізація пренатально стресованих	2,26±0,098 $p_2 < 0,005$ $p_3 < 0,05$	0,371±0,023 $p_2 < 0,005$ $p_3 < 0,005$	5,66±3,28 $p_2 < 0,005$ $p_3 < 0,005$

Збереження більш високого співвідношення цАМФ/цГМФ за рахунок переважного збільшення активності аденілатциклази може бути спрямоване на підтримання тканинного дихання для забезпечення підвищених енерговитрат при розвитку стрес-реакції [2].

Стрес-індукований приріст цГМФ, ймовірно, пояснюється підсиленням вільнорадикального окиснення ліпідів та білків [1,13].

Існують переконливі докази активації розчинної форми гуанілатциклази, яка становить 85% від загальної її кількості, гідроксильним, пероксидним та ін. радикалами [5]. У цьому плані доречно зауважити, що й інші сильні прооксиданти мають властивість збільшувати вміст цГМФ. Доведено стимулюючий вплив на утворення цГМФ оксиду азоту та пероксинітриду [7,19].

Згідно наших досліджень пренатальний стрес вірогідно збільшує базальний вміст цАМФ у преоптичній ділянці (в 1,6 раза) та медіобазальному гіпоталамусі (в 1,2 раза). У решти структур даний показник не змінився.

Щодо цГМФ, то його рівні зросли в перегородці, преоптичній ділянці та мигдалеподібному комплексі в 1,3, 1,6, 1,4 раза відповідно і не зазнали змін у

медіобазальному гіпоталамусі.

Коливання вмісту циклічних нуклеотидів у пренатально стресованих тварин спричинили зменшення циклазного індексу в преоптичній ділянці та амігдалі в 1,35 та 1,38 разів відповідно за рахунок переважного зростання цГМФ.

З огляду на роль цАМФ, як посередника дії багатьох гормонів і медіаторів (норадреналіну, АКТГ, кортикостерону, β -ендорфіну та ін.), які секретуються нейроендокринною системою плода у відповідь на материнський стрес, підвищення його вмісту у структурах гіпоталамуса можна розглядати як прояв аутомодіфікації клітинної реактивності пренатальними стресовими впливами.

Стосовно значного приросту цГМФ у структурах мозку, його можна трактувати як результат активації гуанілатциклази продуктами вільнорадикального окиснення та зниження активності глутатіонпероксидази [13].

Збільшення базального вмісту цАМФ у структурах гіпоталамуса може принаймні частково пояснити підвищення центральної норадренергічної чутливості відносно стимуляції системи гіпофіз-кора наднирникових залоз, виявлене [8,10] у дослідженнях на дорослих самцях, що зазнали пренатального стресу.

Імобілізація пренатально стресованих тварин призвела до зростання рівнів цАМФ у 1,5, 1,45, 1,2 та 1,3 разів, а цГМФ у 1,6, 2,3, 3,3 та 1,8 разів в перегородці, преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі та мигдалеподібному комплексі відповідно. Внаслідок цього співвідношення цАМФ/цГМФ зменшилось у преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі, амігдалі в 1,5, 3,2 та 1,4 разів відповідно і не змінилося в перегородці.

У всіх структурах пренатально стресованих тварин стрес-індукований приріст цАМФ залишався нижчим, ніж у структурах відповідної групи інтактних тварин. На нашу думку, це узгоджується з тим, що у таких тварин гострий стрес не викликає типової реакції з боку катехоламінів гіпоталамуса, яка полягає у зменшенні концентрації норадреналіну [8,10].

Імобілізація спричинила підвищення вмісту цГМФ, яке у трьох структурах із чотирьох досліджених значно перевищувало аналогічний показник в інтактних тварин і призвело до зменшення циклазного індексу.

За даними [5] роль циклічних нуклеотидів в адаптації різних органів і тканин до екстремальних впливів полягає в перебудові адрено- і холінергічних механізмів формування реакції тканин на дію стресора. Так, зменшення активності аденілатциклази і синтезу цАМФ збільшує виживання тварин за умов гіпоксії. З іншого боку, підвищення активності гуанілатциклази і відповідно збільшення синтезу цГМФ розглядають як природний адаптивний механізм, який дозволяє клітині пристосуватися до несприятливих умов через активацію цГМФ-залежних реакцій метаболізму.

Виявлене у пренатально стресованих тварин за умов імобілізації збільшення вмісту цГМФ та зменшення циклазного індексу внаслідок посилення вільнорадикальних процесів та зниження активності ГПО, імовірно модулює перебудову функціональної активності циклазних систем як адаптивну реакцію.

Слід, однак, відмітити, що процеси, які відбуваються у цілому, при настільки вираженому зростанні вмісту цГМФ виходять за межі адаптивних.

Мова йде про лабілізацію лізосомальних мембран, яка відбувається внаслідок зниження коефіцієнту цАМФ/цГМФ і призводить до виходу кислих гідролаз з проявом їх деструктивної дії [5].

Таким чином, послідовність біохімічних процесів, яка призводить до активації гуанілатциклази у клітинах мозку пренатально стресованих самців, відображає як позитивні (адаптивні) зміни метаболізму, так і прояви патологічної реакції.

Наведені факти дають право дійти висновку про модифікуючий вплив пренатального стресу на конститутивні та стрес-індуковані рівні циклічних нуклеотидів у досліджених структурах. За нашими даними, більш вразливим до дії несприятливих пренатальних чинників виявився цГМФ.

Висновки.

1. Імобілізаційний стрес призводить до збільшення вмісту циклічних нуклеотидів та зростання циклазного індексу в досліджених структурах мозку контрольних щурів.

2. У пренатально стресованих тварин має місце збільшення конститутивних рівнів цАМФ у преоптичній ділянці та медіобазальному гіпоталамусі, цГМФ – у перегородці, преоптичній ділянці та амигдалі, зменшення циклазного індексу в преоптичній ділянці та амигдалі.

3. Імобілізація пренатально стресованих щурів спричиняє приріст вмісту циклічних нуклеотидів в усіх досліджених структурах при переважному збільшенні цГМФ, за рахунок чого зменшується циклазний індекс у преоптичній ділянці, медіобазальному гіпоталамусі та амигдалі.

Література. 1. Аврова Н.Ф. Биохимические механизмы адаптации к изменяющимся условиям среды у позвоночных: роль липидов // Ж. эволюц. биохимии и физиол. – 1999. – Т.35, №3. – С. 170-180. 2. Васин М.В., Петрова Т.В., Королева Л.В. // Роль циклических нуклеотидов и вторичных посредников в регуляции ферментных процессов. – Петрозаводск, 1988. – С. 109-110. 3. Дорофеев Г.И., Кожемякин Л.А., Ивашкин В.Т. Циклические нуклеотиды и адаптация организма. – Л.: Наука, 1978. – 186 с. 4. Кухаренко В.И., Хохлова Ю.В. Уровень цАМФ и цГМФ в клетках спонтанных абортусов с трисомным и триплоидным кариотипом // Вопр. мед. химии. – 1989. – Т. 35, №4. – С. 73-75. 5. Пасечников В.Д., Вирганский А.О. Роль циклических нуклеотидов в адаптации к гипоксии слизистой оболочки желудка // Вопр. мед. химии. – 1991. – Т.37, вып.2. – С. 61-62. 6. Петрова Т.В., Васин М.В., Королева Л.В., Семенова Л.А. Влияние эмоционального стресса на некоторые показатели гормонального статуса, уровень циклических нуклеотидов и содержание β_2 -микроглобулина в крови и ткани тимуса при применении синтетического аналога тиролиберина // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1990. – №3. – С. 21-24. 7. Пинелис В.Г., Сорочкина Е.Г., Реутов В.П. и др. Влияние токсического воздействия глутамата и нитрита на содержание циклического ГМФ в нейронах и их выживаемость // Докл. РАН. – 1997. – Т. 352, №2. – С. 259-261. 8. Резніков О.Г. Механізми розвитку функціональної патології репродукції та адаптації в ранньому онтогенезі // Журн. АМН України. – 1998. – Т.4, №2. – С. 216-233. 9. 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. 10. Резніков О.Г., Носенко Н.Д., Тарасенко Л.В. та ін. Морфологічні та функціональні зміни нейроендокринної системи у пренатально стресованих щурів // Буковинський мед. вісник. – 1998. – Т.2, №2. – С.47-51. 11. Судаков К.В. Олигопептиды в механизмах устойчивости к эмоциональному стрессу // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1989. – №1. – С. 3-10. 12. Тигранян Р.А. Гормонально-метаболический статус организма при экстремальных воздействиях. – М.: Наука, 1990. – 288 с. 13. Ткачук С.С. Тривала модифікація окисно-антиоксидантних процесів в окремих структурах лімбічної системи мозку пренатальними стресорними впливами // Вісник проблем біології і медицини. – 1999. – Вип. 7. – С. 73-79. 14. Федоров Н.А., Радуловацкій М.Г., Чехович Г.Е. Циклические нуклеотиды и их аналоги в медицине. – М.: Медицина, 1990. – 176 с. 15. Ферренделли Дж.А., Гросс Р.А., Киншерф Д.А., Рубин Е.Х. // Нейрофармакология циклических нуклеотидов. – М.: Медицина, 1982. – С. 241-258. 16. Юматов Е.А. Нейромедиаторная интеграция эмоционального возбуждения и механизмы устойчивости к стрессу // Вест. РАМН. – 1995. – №11. – С. 9-16. 17. Якушев В.С., Курипка В.И., Белоконь Л.Е., Миронова Е.В. и др. Изменение концентрации соматотропина, циклических нуклеотидов и состояние белкового обмена в мозге и

сердце при стрессе, а также некрозе миокарда, воспроизведенном после перенесенного стресса // *Вопр. мед. химии* – 1990. – Т.36, №1. – С. 19-22. 18. *Antaraki A., Ang K.L., Antoni F.A.* Involvement of calcyculin A inhibitable protein phosphatases in the cyclic AMP signal transduction pathway of mouse corticotropin tumour (AtT20) cells // *Br.J.Pharmacol.* – 1997. – V.121, N5. – P. 991-999. 19. *Chia-vegatto S., Scavone C., Canteras N.S.* Nitric oxide synthase activity in the dorsal periaqueductal gray of rats expressing innate fear responses // *NeuroReport.*— 1998.— V.9, N4.— P. 571-576. 20. *Kunig J.F., Klippel P.A.* The rat brain. A stereotaxis atlas of forebrain and lower part of the brain stem.— Baltimore: The Williams and Wilkins Company, 1963.— 162p.

THE INFLUENCE OF PRENATAL STRESS ON THE CONTENT OF CYCLIC NUCLEOTIDES IN THE BRAIN STRUCTURES OF MALE RATS

S.S.Tkachuk

Abstract. We have studied the influence of prenatal stress on the basal and stress-induced levels of the cyclic nucleotides in the septum, preoptic area, mediobasal hypothalamus and amygdala. It has been found out that prenatal stress caused an increase of the basal content of cAMP in the preoptic area, mediobasal hypothalamus and an elevation of the basal content of the cGMP in the septum, preoptic area and amygdala. Immobilisation of the animals of this group increased the content of the cyclic nucleotides in all the studied structures and decreased the cAMP/cGMP correlation because of predominant growth of cGMP.

Key words: prenatal stress, immobilized stress, cAMP, cGMP, brain structures.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)