

сходные изменения, однако они были существенно более низкими и недостоверными со статистической точки зрения.

ЛИТЕРАТУРА

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенный анализ клинико-иммунологической и психологической оценки эффективности СРЭМТ позволяет рекомендовать ее для применения в ревматологической клинике в качестве вспомогательного метода, повышающего эффективность проводимой терапии и лечебно-реабилитационных мероприятий при РА. Широкий спектр лечебного действия данного метода включает анальгетический и противовоспалительный эффекты. СРЭМТ способствует нормализации иммуно-биохимических показателей активности ревматоидного процесса, оказывает позитивное влияние на тревожно-депрессивные нарушения у больных РА, относительно стабильные при традиционном лечении.

1. Готовский Ю. В. Теоретические и клинические аспекты применения биорезонансной и мультрезонансной терапии: Сб. ст. — М.: Импедис, 1996. — С. 10—11.
2. Блинков И. Л., Кузовлев О. П., Хазина Л. В. Н // Перспективы традиционной медицины. — 2003. — № 2. — С. 44—50.
3. Блинков И. Л., Кузовлев О. П., Хазина Л. В. // Актуальные вопросы восстановительной медицины. — 2003. — № 1. — С. 16—19.
4. Королев Ю. Н. // Вопр. курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуры. — 1997. — № 5. — С. 3—7.
5. Кузовлев О. П. Об эффективности структурно-резонансной электромагнитной терапии у больных воспалительными заболеваниями малого таза // Вестн. акушера-гинеколога. — 2004. — № 2. — С. 15—16.
6. Кузовлев О. П. // Здоровоохранение. — 2003. — № 10. — С. 181—186.
7. Насонов Е. Л. // Рус. мед. журнал. — 2002. — Т. 10, № 6. — С. 294—301.
8. Насонов Е. Л. // Рус. мед. журнал. — 2002. — Т. 10, № 22. — С. 1009—1014.

УДК 616.831.4-003.96

РЕСПОНСИВНОСТЬ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНКОРТИКАЛЬНОЙ ОСИ ПРИ ДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ СТРЕССОРОВ

М. Ю. Капитонова, Ю. В. Дегтярь, З. Ч. Морозова, В. В. Хлебников, В. Л. Загребин

Кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии и кафедра судебной медицины

В настоящей статье дана сравнительная характеристика респонсивности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы при действии системных и процессивных стрессоров

Ключевые слова: паравентрикулярное ядро гипоталамуса, гипофиз, надпочечники, крысы, стресс, иммуногистохимия

RESPONSIVENESS OF THE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSIO-ADRENOCORTICAL SYSTEM UNDER THE INFLUENCE OF DIFFERENT STRESSOR TYPES

M. Yu. Kapitonova, Yu. V. Degtyar, Z. Ch. Morozova, V. V. Khlebnikov, V. L. Zagrebin

Comparative characteristics of responsiveness of the hypothalamo-hypophysio-adrenocortical system to the systemic and processive stressors is elucidated in the article.

Key words: paraventricular nucleus, hypothalamus, pituitary gland, adrenal gland, rats, stress

Важнейшей детерминантой адаптационных изменений при стрессорных воздействиях является конвергенция нейральных и гуморальных афферентных сигналов на уровне мелкоклеточной фракции паравентрикулярного ядра (ПВЯ) гипоталамуса — центрального звена гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС), — однако лежащие в ее основе интегративные механизмы остаются до конца невыясненными [1, 2, 4]. Особенности активации ГГНС при различных состояниях, таких как стресс, инфекции, метаболические нарушения в детском и юношеском возрасте остаются мало изученными [5, 9], хотя известно, что именно стрессы раннего периода жизни нередко приводят к развитию взрослой психопатологии, а также извращению последующих стресс-ассоциированных нейроэндокринных и

поведенческих реакций, а варианты ответов ГГНС растущего организма на действие стрессорных агентов характеризуются широким диапазоном от глубокой гипореспонсивности до резкой фасилитации нейроэндокринного ответа [8, 13]. Глубокие противоречия сохраняются в литературе в объяснении нарушения механизма отрицательной обратной связи в ГГНС при хроническом стрессе, когда несмотря на длительный выброс глюкокортикоидов, десенситизации гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной оси (ГГАО) не происходит, и она продолжает, сохраняя активность, стимулировать повышенную выработку кортикостероидов [3, 7].

В связи с выше изложенным в настоящем исследовании нами предпринята попытка охарактеризовать особенности активации ГГНС у неполовозрелых экспе-

риментальных животных при различных видах хронического стресса.

ЦЕЛЮ РАБОТЫ

Изучить респонсивность ГГАО препубертатных животных при действии психологического и физического стрессора.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 24 препубертатных крысах породы *Sprague Dawley* в возрасте 30 дней, разделенных на 3 группы по 8 животных: 2 экспериментальные и 1 контрольную. Животные содержались в стандартных виварных условиях с доступом к воде и пище *ad libitum*. Ежедневно в течение 7 дней по 5 часов в день экспериментальные животные подвергались хроническому действию процессивного [12] (1-я группа) или системного [14] (2-я группа) стрессора. По окончании эксперимента животные забивались, у них извлекались гипоталамус, гипофиз и надпочечники (последние взвешивались).

Парафиновые срезы гипоталамуса окрашивались гематоксилином и эозином и иммуногистохимически против кортикотропин-рилизинг-фактора (КРФ) (Sigma, USA, #C5348). Иммуногистохимическое окрашивание проводилось авидин-биотин-пероксидазным методом в соответствии с рекомендациями производителей химерагентов. Изображение иммуногистохимически окрашенных срезов оценивалось количественно с помощью программы «Image-Pro+», сопряженной с программой «Excel» для статистической обработки полученных результатов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований отражены в таблице. Как следует из таблицы, хронический стресс вызывал отставание в весе экспериментальных животных, которое достигало уровня значимости во 2-й экспериментальной группе. При этом в обеих экспериментальных группах отмечена гипертрофия гипофиза и надпочечников, масса которых достоверно увеличивалась при хроническом действии как системного, так и процессивного стрессора.

При гистологическом исследовании срезов гипоталамуса, изготовленных, руководствуясь атласом G. Paxinos и C. Watson [11] (рис. 1), в мелкоклеточной фракции его ПВЯ при хроническом стрессе в обеих экспериментальных группах отмечается гипертрофия нейронов, увеличение числа ядрышек и эухроматина в их ядрах. Таким образом, уже на качественном уровне рутинного гистологического исследования гипоталамуса в мелкоклеточной фракции его ПВЯ при хроническом стрессе выявлялись стресс-ассоциированные изменения в обеих экспериментальных группах. Их выраженность была связана с видом стрессорного воздействия, что нашло свое подтверждение и было конкретизировано при иммуногистохимическом исследовании.

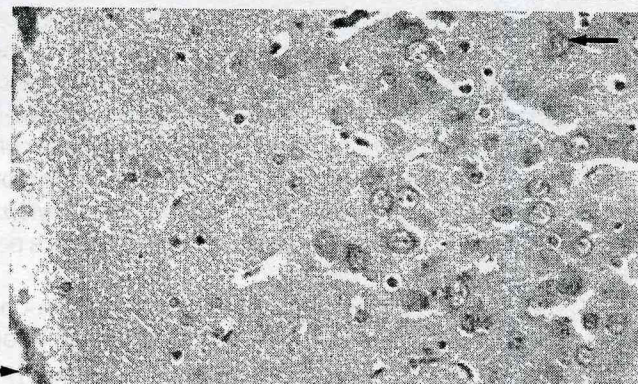


Рис. 1. Гипоталамус контрольной крысы в возрасте 36 дней, паравентрикулярное ядро с нейронами мелкоклеточной фракции (стрелка); 1 — третий желудочек. Окраска гематоксилом и эозином, исх. ув. x200

Окрашивание гипоталамуса на КРФ показало наличие скоплений иммунореактивных нейронов в ПВЯ гипоталамуса. При хроническом стрессе отмечалась тенденция увеличения числа иммунореактивных клеток в обеих экспериментальных группах (рис. 2), однако, несмотря на наличие определенных тенденций стресс-ассоциированных изменений экспрессии КРФ, на качественном и полуколичественном уровнях отмечались существенные индивидуальные различия их иммуногистохимической картины.

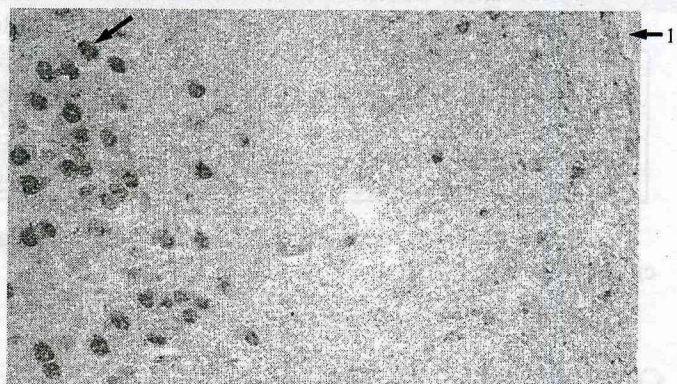


Рис. 2. Гипоталамус крысы 1-й экспериментальной группы в возрасте 36 дней. Скопление кортикотропин-рилизинг-фактор-позитивных нейронов в паравентрикулярном ядре гипоталамуса (стрелка); 1 — третий желудочек. Окраска на КРФ, докраска гематоксилином, исх. ув. x200

Для количественной оценки выявленных сдвигов был применен имидж-анализ с автоматической оценкой удельной плотности иммунореактивных клеток, который показал достоверное и высоко достоверное увеличение экспрессии КРФ в нейронах ПВЯ гипоталамуса в 1-й и 2-й экспериментальных группах соответственно по сравнению с группой возрастного контроля (см. табл.). Между двумя экспериментальными группами различия по данному показателю также были достоверными ($p < 0,05$). Таким образом, наивысшая степень активации ГГАО на уровне гипоталамуса отмечена при действии хронического системного стрессора, что сви-

детельствует о высокой респонсивности данного звена оси в изучаемый возрастной период. Несколько меньшее увеличение данного показателя отмечалось в 1-й экспериментальной группе, что может свидетельствовать, в зависимости от уровня активации других звеньев, либо о сниженной респонсивности, либо о развитии адаптационных изменений, демонстрирующих эффективность отрицательной обратной связи в регуляции ГГАО.

Для оценки эффективности отрицательной обратной связи в регуляции активности ГГАО нами проведен корреляционный анализ изменений на разных уровнях ГГАО при хроническом стрессе. Его результаты показали, что между относительной массой надпочечника и экспрессией КРФ в ПВЯ существует достоверная сильная отрицательная корреляционная связь ($r = -0,71$, $p < 0,05$) во 2-й экспериментальной группе и достоверная средняя по силе корреляционная связь между этими показателями в 1-й экспериментальной группе ($r = -0,56$; $p < 0,05$). Таким образом, корреляционный анализ продемонстрировал, что нейроэндокринная пластичность гипоталамуса, проявляющаяся уровнем экспрессии КРФ в мелкоклеточной фракции ПВЯ гипоталамуса в зависи-

мости от уровня активации периферического звена ГГНС, связана с парадигмой стрессорного воздействия.

Из литературных данных известно, что, по мнению одних исследователей, ГГНС легче адаптируется к действию системных стрессоров, в то время как действие процессивных стрессоров нередко вызывает дезадаптацию [6]. Напротив, другие авторы считают, что именно психологические стрессоры, действуя хронически, быстро вызывают габитуацию ГГАО в противоположность физическим стрессорам, адаптация к которым более продолжительна и сопровождается фасилитацией при действии нового стрессора [15, 10].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами данные количественного иммуногистохимического анализа свидетельствует о более низком уровне респонсивности ГГНС на уровне гипоталамуса и в целом адаптации ГГНС при действии процессивного стрессора по сравнению с системным стрессором у препубертатных экспериментальных животных, что необходимо учитывать при разработке методов профилактики стресс-ассоциированной нейроэндокринной патологии в данной возрастной категории.

Таблица

Динамика органомерических показателей и экспрессии КРФ в ПВЯ гипоталамуса крыс при хроническом стрессе (M $\pm$ m)

Группа/ параметр	Масса тела, г	Относительная масса гипофиза, мг	Относительная масса масса надпочечников, мг	Удельная площадь КРФ, %
Контроль	80,14 $\pm$ 3,02	0,046 $\pm$ 0,005	0,104 $\pm$ 0,009	7,63 $\pm$ 0,62
Процессивный стрессор (1-я гр.)	72,16 $\pm$ 2,82	0,075 $\pm$ 0,006**	0,153 $\pm$ 0,010***	11,37 $\pm$ 0,86**
Системный стрессор (2-я гр.)	69,22 $\pm$ 2,51*	0,089 $\pm$ 0,010 ***	0,175 $\pm$ 0,013***	9,65 $\pm$ 0,79*

Примечания. * — $p < 0,05$ по сравнению с контролем; ** — $p < 0,01$ по сравнению с контролем; *** — $p < 0,001$ по сравнению с контролем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Судачков К. В. Индивидуальность эмоционального стресса // Ж. неврол. психиатр. им. С. С. Корсакова. — 2005. — Т. 105, № 2. — С. 4—12.
2. Aguilera G., Kiss A., Liu Y., Kamitakahara A. // Stress. — 2007. — Vol. 10, № 2. — P. 153—161.
3. Dallman M. F., Bhatnagar S. Chronic stress: role of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. In: Handbook of physiology. New York: Oxford UP. — 2000. — P.179—210
4. De Nicola A. F., Saravia F. E., Beauquis J., et al. // Front. Horm. Res. — 2006. — Vol. 35. — P. 157—168.
5. Dent G. W., Smith M. A., Levine S. // Endocrinology. — 2000. — Vol. 141, № 5. — P. 1503—1598.
6. Figueiredo H. F., Bodie B. L., Tauchi M., et al. // Endocrinology. — 2003. — Vol. 144. — P. 5249—5258.
7. Jaferi A., Nowak N., Bhatnagar S. // Physiol. Behav. — 2003. — Vol. 78, № 3. — P. 365—373.

8. Levine S. // Psychoneuroendocrinology. — 2005. — Vol. 30, № 10. — P. 939—946.
9. Morley-Fletcher S., Rea M., Maccari S., Laviola, G. // Eur. J. Neurosci. — 2003. — Vol. 18, № 12. — P. 3367—3374.
10. Ostrander M. M., Ulrich-Lai Y. M., Choi D. C., et al. // Endocrinology. — 2006. — Vol. 147, № 4. — P. 2008—2017.
11. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates, 1998. — 4th edn. Academic Press.
12. Pijlman F. T., van Ree J. M. // Behav. Brain Res. — 2002. — Vol. 136, № 2. — P. 365—373
13. Vazquez D. M., Bailey C., Dent G. W., et al. // Brain Res. — 2006. — Vol. 1121, № 1. P. 83—94.
14. Yamamoto A., Starec M., Holecek V., et al. // Pharmacol. Toxicol. — 2000. — Vol. 87, № 4. — P. 161—168.
15. Zelena D., Mergl Z., Foldes A., et al. // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. — 2003. — Vol. 285, № 5. — P. 1110—1117.

детельствует о высокой респонсивности данного звена оси в изучаемый возрастной период. Несколько меньшее увеличение данного показателя отмечалось в 1-й экспериментальной группе, что может свидетельствовать, в зависимости от уровня активации других звеньев, либо о сниженной респонсивности, либо о развитии адаптационных изменений, демонстрирующих эффективность отрицательной обратной связи в регуляции ГГАО.

Для оценки эффективности отрицательной обратной связи в регуляции активности ГГАО нами проведен корреляционный анализ изменений на разных уровнях ГГАО при хроническом стрессе. Его результаты показали, что между относительной массой надпочечника и экспрессией КРФ в ПВЯ существует достоверная сильная отрицательная корреляционная связь ($r = -0,71$, $p < 0,05$) во 2-й экспериментальной группе и достоверная средняя по силе корреляционная связь между этими показателями в 1-й экспериментальной группе ($r = -0,56$; $p < 0,05$). Таким образом, корреляционный анализ продемонстрировал, что нейроэндокринная пластичность гипоталамуса, проявляющаяся уровнем экспрессии КРФ в мелкоклеточной фракции ПВЯ гипоталамуса в зависи-

мости от уровня активации периферического звена ГГНС, связана с парадигмой стрессорного воздействия.

Из литературных данных известно, что, по мнению одних исследователей, ГГНС легче адаптируется к действию системных стрессоров, в то время как действие процессивных стрессоров нередко вызывает дезадаптацию [6]. Напротив, другие авторы считают, что именно психологические стрессоры, действуя хронически, быстро вызывают габитуацию ГГАО в противоположность физическим стрессорам, адаптация к которым более продолжительна и сопровождается фасилитацией при действии нового стрессора [15, 10].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами данные количественного иммуногистохимического анализа свидетельствует о более низком уровне респонсивности ГГНС на уровне гипоталамуса и в целом адаптации ГГНС при действии процессивного стрессора по сравнению с системным стрессором у препубертатных экспериментальных животных, что необходимо учитывать при разработке методов профилактики стресс-ассоциированной нейроэндокринной патологии в данной возрастной категории.

Таблица

Динамика органомерических показателей и экспрессии КРФ в ПВЯ гипоталамуса крыс при хроническом стрессе (M $\pm$ m)

Группа/ параметр	Масса тела, г	Относительная масса гипофиза, мг	Относительная масса масса надпочечников, мг	Удельная площадь КРФ, %
Контроль	80,14 $\pm$ 3,02	0,046 $\pm$ 0,005	0,104 $\pm$ 0,009	7,63 $\pm$ 0,62
Процессивный стрессор (1-я гр.)	72,16 $\pm$ 2,82	0,075 $\pm$ 0,006**	0,153 $\pm$ 0,010***	11,37 $\pm$ 0,86**
Системный стрессор (2-я гр.)	69,22 $\pm$ 2,51*	0,089 $\pm$ 0,010 ***	0,175 $\pm$ 0,013***	9,65 $\pm$ 0,79*

Примечания. * — $p < 0,05$ по сравнению с контролем; ** — $p < 0,01$ по сравнению с контролем; *** — $p < 0,001$ по сравнению с контролем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Судачков К. В. Индивидуальность эмоционального стресса // Ж. неврол. психиатр. им. С. С. Корсакова. — 2005. — Т. 105, № 2. — С. 4—12.
2. Aguilera G., Kiss A., Liu Y., Kamitakahara A. // Stress. — 2007. — Vol. 10, № 2. — P. 153—161.
3. Dallman M. F., Bhatnagar S. Chronic stress: role of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. In: Handbook of physiology. New York: Oxford UP. — 2000. — P.179—210
4. De Nicola A. F., Saravia F. E., Beauquis J., et al. // Front. Horm. Res. — 2006. — Vol. 35. — P. 157—168.
5. Dent G. W., Smith M. A., Levine S. // Endocrinology. — 2000. — Vol. 141, № 5. — P. 1503—1598.
6. Figueiredo H. F., Bodie B. L., Tauchi M., et al. // Endocrinology. — 2003. — Vol. 144. — P. 5249—5258.
7. Jaferi A., Nowak N., Bhatnagar S. // Physiol. Behav. — 2003. — Vol. 78, № 3. — P. 365—373.

8. Levine S. // Psychoneuroendocrinology. — 2005. — Vol. 30, № 10. — P. 939—946.
9. Morley-Fletcher S., Rea M., Maccari S., Laviola, G. // Eur. J. Neurosci. — 2003. — Vol. 18, № 12. — P. 3367—3374.
10. Ostrander M. M., Ulrich-Lai Y. M., Choi D. C., et al. // Endocrinology. — 2006. — Vol. 147, № 4. — P. 2008—2017.
11. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates, 1998. — 4th edn. Academic Press.
12. Pijlman F. T., van Ree J. M. // Behav. Brain Res. — 2002. — Vol. 136, № 2. — P. 365—373
13. Vazquez D. M., Bailey C., Dent G. W., et al. // Brain Res. — 2006. — Vol. 1121, № 1. P. 83—94.
14. Yamamoto A., Starec M., Holecek V., et al. // Pharmacol. Toxicol. — 2000. — Vol. 87, № 4. — P. 161—168.
15. Zelena D., Mergl Z., Foldes A., et al. // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. — 2003. — Vol. 285, № 5. — P. 1110—1117.