

УДК 616.45—001.1/3:616.447—003.725

А. В. Зильфян, Г. Г. Бакунц, Р. С. Овсепян, С. А. Авакян,
Р. А. Довлатян, К. Г. Киракосян, Л. Г. Хачатрян

Действие продуктов жизнедеятельности лимфоцитов тимуса
на активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой
системы в условиях иммобилизационного стресса

(Представлено чл.-корр. НАН Армении Ю. Т. Александряном 24/1 1994)

В настоящее время считается доказанным, что серотонин, высвобожденный в гипоталамической области мозга, активирует систему гипоталамус—гипофиз—кора надпочечников, что осуществляется через стимуляцию нейронов, связанных с образованием кортиколиберина. Серотонин принимает также участие в регуляции секреции β-эндорфина передней и промежуточной долей гипофиза, повышающего секрецию кортикостероидов корой надпочечников (1). В поисках стресс-протективных веществ эндогенной природы, а также исходя из полученных нами данных о стимулирующем действии продуктов жизнедеятельности лимфоцитов (ПЖЛ) на активность симпато-адреналовой системы, представляло интерес исследовать на модели иммобилизационного стресса влияние ПЖЛ на функциональную активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС). В этой связи нами изучено действие введенных в организм лимфоцитарных медиаторов на активность серотонинергических структур гипоталамуса, принимающих непосредственное участие в механизмах запуска и развития стресс-реакции,—на содержание серотонина в гипоталамической области мозга крыс, а также адренокортикотропного гормона (АКТГ) в крови и кортикостерона в крови и надпочечниках.

Опыты ставились на белых крысах-самцах массой 120—150 г в пяти сериях. I серия (контрольная)—интактные крысы; II—крысы, иммобилизованные жесткой фиксацией в течение 5 ч; III—крысы, которым трехкратно с интервалом в 8 ч внутрибрюшинно (в/бр) вводили общий пул ПЖЛ тимуса, выделенный по предложенной нами схеме (2) и составляющий по белку 700 мкг на 150г массы животного, после чего животных иммобилизовали в течение 5 ч; IV—крысы, иммобилизованные в течение 24 ч; V—аналогично иммобилизованные крысы, которым предварительно вводили ПЖЛ по вышеприведенной схеме. Животных забивали в одно и то же время суток. Содержание серотонина определяли флюориметрическим методом по флюоресценции нингидринового производного серотонина (3) на спектрофлюориметре MPF-4, марки «Hitachi». Определение АКТГ проводили радиоиммунологическим методом с использованием набора реактивов фирмы «Sogin». Измерение радиоактивности проб осуществляли сцинтиляционным счетчиком. Концентрацию АКТГ вычисляли методом Log-Logit. Со-

держание кортикостерона определяли флюориметрическим методом (4) на опектрофлюориметре МРФ-4, марки «Hitachi». Изучено также функционально-морфологическое состояние надпочечников, которые взвешивали и фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и этиловом спирте. Срезы окрашивали общепринятыми гистохимическими методами. В отдельной серии ставились также биологические тесты на выживаемость животных.

Результаты наших исследований, представленные в таблице, показывают, что 5-часовая иммобилизация сопровождается увеличением содержания серотонина в гипоталамусе на 95%. При введении ПЖЛ наблюдается менее выраженное увеличение его содержания, составляющее 36,7% от контроля. Действие ПЖЛ, следовательно, способствует снижению содержания серотонина в гипоталамусе иммобилизованных крыс на 58,3%. Количество серотонина при 24-часовой иммобилизации увеличивается на 50,6%. Предварительное введение ПЖЛ ведет к нормализации его содержания в гипоталамусе иммобилизованных животных. Полученные данные свидетельствуют о модулирующем влиянии ПЖЛ в становлении центральных механизмов общеадапционного синдрома. Как следует из таблицы, 5-часовая иммобилизация вызывает повышение содержания АКТГ в крови на 289,4% от контроля. При введении ПЖЛ количество гормона увеличивается на 103%. Действие ПЖЛ, таким образом, приводит к снижению содержания АКТГ в крови иммобилизованных крыс на 184,%. Количество кортикостерона в крови и надпочечниках при 5-часовой иммобилизации увеличивается на 46 и 188% соответственно. Введение ПЖЛ вызывает более выраженное увеличение содержания кортикостерона в крови, составляющее 84% от контроля.

Содержание серотонина в гипоталамусе (мкг/г в ткани), АКТГ в крови (пг/мл), кортикостерона в крови (мкг%) и надпочечниках (мкг/г ткани) при в/бр введении ПЖЛ в условиях иммобилизационного стресса

Группа	Серотонин	А К Т Г	Кортикостерон		
			кровь	надпочечники	
Интактная в	0,863±0,033 (6)	59,8±3,6 (8)	15,5±1,5 (8)	42,1±2,0 (8)	
5-ч. иммобилизация п р	1,68±0,14 (6) <0,01	232,9±42,1 (8) <0,01	22,6±1,1 (9) <0,01	34,9±6,7 (9) <0,01	
ПЖЛ+5 ч. иммобилизация п р	1,18±0,078 (7) <0,001	121,8±5,0 (8) <0,001	28,5±2,5 (10) <0,001	47,5±10,0 (5) <0,01	19,7±0,8 (5) >0,05
24-ч. иммобилизация п р	1,30±0,111 (6) <0,01	240,0±38,1 (8) <0,001	21,4±0,6 (10) <0,02	28,4±3,6 (6) <0,01	
ПЖЛ+24-ч. иммобилизация п р	0,839±0,130 (6) >0,05	76,0±6,9 (8) >0,05	28,0±2,5 (12) <0,001	31,4±3,6 (6) <0,001	7,8±0,8 (6) >0,05

В надпочечниках отмечаются неоднозначные изменения: в одной группе животных (50% случаев, $n=10$) количество кортикостерона снижается до нормы, а в другой не обнаружено достоверных сдвигов по сравнению с иммобилизованными животными. Как видно из таблицы, содержание АКТГ при 24-часовой иммобилизации увеличивается на 310%, а количество кортикостерона в крови и надпочечниках—на 38 и 135% соответственно. Предварительное введение ПЖЛ нормализует содержание АКТГ в крови, увеличивая при этом содержание кортикостерона на 81% от контроля. В надпочечниках, как и в предыдущей серии опытов, содержание кортикостерона нормализуется в 50% случаев, у остальных животных не отмечается достоверных сдвигов по отношению к иммобилизованной группе.

В результате морфогистохимических исследований коры надпочечников при 5-часовой иммобилизации выявлены сдвиги, характеризующиеся преобладанием гипертрофированных темных клеток с богатым содержанием РНК в цитоплазме и ядрышках, свидетельствующие о заметном повышении функциональной активности органа. При окраске суданом черным наблюдаются снижение содержания липидов во всех зонах коркового вещества, а также отдельные признаки перераспределения суданофильного материала, проявляющиеся очаговой куммуляцией его в поверхностных участках пучковой зоны. 24-часовая иммобилизация характеризуется резким нарушением цитоангиоархитектоники коры надпочечников с выраженными дистрофическими изменениями адренокортикоцитов всех зон. В отдельных участках пучковой зоны отмечается распад железистой ткани. Содержание липидов снижается. Склепление их зерен обнаруживается преимущественно в темных клетках глубоких участков клубочковой зоны. Значительные изменения выявлены и в системе микрогемоциркуляции, что выражается расширением межтрабекулярных капилляров, стенки которых пропитаны плазменными белками. Гистохимическое изучение коры надпочечников показало, что введение ПМЛ перед 5- и 24-часовыми иммобилизациями способствует нормализации морфофункциональных нарушений, выявленных в изученных фазах развития стресса,—структурному упорядочению компонентов коркового слоя надпочечников, нормализации секреторного процесса в адренокортикоцитах. Таким образом, при действии ПЖЛ выявлена корреляция нейрогормональных процессов на уровне центрального и периферического звеньев ГНС, ответственных за запуск и реализацию неспецифических механизмов адаптации.

Изучение выживаемости животных показало, что из 80 крыс, представляющих контрольную группу, после 24-часовой иммобилизации выжило 36 крыс (45%). При предварительном введении ПЖЛ (опытная группа) из того же количества животных выжило 57 крыс (71%). При статистическом анализе показатель выживаемости у крыс опытной группы в 1,5 раза превышал контрольный уровень. Параллельно ставился другой тест на выживаемость: определялось время, в течение которого подвергнутые иммобилизации крысы контрольной и опытной групп могут продержаться на поверхности воды. При статистическом анализе временных показателей удалось установить, что предварительное введение иммобилизованным крысам ПЖЛ увеличивает сроки пребывания животных на поверхности воды в 2 раза ($2,5 \pm 0,1$ мин против $1,2 \pm 0,2$ мин в контроле).

На основании вышеизложенного можно заключить, что в результате действия ПЖЛ на фоне 5-часовой иммобилизации происходит дополнительная активация ГНС, о чем свидетельствует прирост содержания кортикостероидов в крови на 38% от уровня иммобилизованных

крыс. Анализ остальных показателей развития стресс-реакции показывает, что по окончании 5-часовой иммобилизации проявляется тенденция к нормализации системы. На это указывает снижение содержания серотонина в гипоталамусе, АКТГ в крови, кортикостерона в надпочечниках крыс от их уровня у иммобилизованных животных. Действие ПЖЛ на фоне 24-часовой иммобилизации также ведет к добавочной активации ГГНС, о чем говорит прирост содержания кортикостероидов в крови на 43% от их уровня у иммобилизованных крыс. В итоге этого действия имеет место нормализация нейрогормональных сдвигов, ответственных за запуск и развитие стресса: содержания серотонина в гипоталамусе, АКТГ в крови, кортикостерона в надпочечниках, а также структуры и функции надпочечников.

При рассмотрении возможных механизмов действия ПЖЛ на развитие стресса представляют интерес появившиеся в последние годы работы, доказывающие наличие тесной взаимосвязи и взаиморегуляции между АКТГ, глюкокортикоидами и α_1 - и α_2 -адренергическими рецепторами в механизмах развития стресса. Показано, что через модуляцию активности рецепторов, находящихся в структурах, ответственных за запуск стресс-реакции, можно добиться изменения функциональной активности ГГНС и соответственно резистентности организма к экстремальным воздействиям (^{5,6}). Активация центральных α_2 -адренорецепторов ведет к торможению секреции глюкокортикоидов, а их блокада, активируя ГГНС, повышает содержание кортикостероидов в крови. Имеется и обратная зависимость между активностью α_2 -адренорецепторов и уровнем глюкокортикоидов в крови, выражающаяся в подавляющем их действии на активность пресинаптических α_2 -адренорецепторов клеток головного мозга. α -адренорецепторы выявлены в структурах ЦНС, ответственных за запуск стресс-реакции, — в окончаниях норадренергических, а также холинергических и серотонинергических нейронов мозга (⁷⁻⁹). Повышение концентрации АКТГ в плазме при стрессе протекает с вовлечением α -адренорецепторов, при этом в плазме возрастает содержание α -меланоцитстимулирующего гормона и β -эндорфина (¹⁰). Показано, что не только АКТГ, но и β -эндорфины, а также α -меланоцитстимулирующий гормон, образующиеся из общего с АКТГ предшественника, регулируют секрецию глюкокортикоидов корой надпочечников (¹¹). Появились интересные сообщения о продукции лимфоцитами и макрофагами АКТГ, β -эндорфина и хоригонадотропина, о наличии взаимосвязей между иммунной и нейроэндокринной системами на гормональном, медиаторном и рецепторном уровнях (¹²). При внутривенном введении АКТГ в надпочечниках увеличивается содержание простагландинов Е и F (¹³). В выделенных нами ПЖЛ методом радиоиммунологического анализа обнаружены простагландины группы Е (¹⁴), принимающие участие в регуляции секреции кортиколиберина, АКТГ и β -эндорфина.

На основании приведенной литературы можно допустить, что ПЖЛ прямо или опосредованно через глюкокортикоиды воздействуют на центральные α_2 -адренорецепторы, изменяют их активность, что ведет к модуляции высвобождения нейромедиаторов, в частности серотонина, в синапсах ЦНС. В результате происходит модуляция активности гипоталамико-надпочечниковой системы, сдвиг фаз в течение стресс-реакции, сопровождающийся увеличением концентрации глюкокортикоидов в крови, выводящий систему на новый, оптимальный уровень регуляции, повышающий выносливость животных к острым стрессорным воздействиям.

Ա. Վ. ԶՐԼՅԱՆ, Գ. Գ. ԲԱԿՈՒՆՑ, Ի. Ս. ՀՈՎՍԵՓՅԱՆ, Ս. Ա. ԱՎԱԳՅԱՆ,
Հ. Ա. ԳՈՎԼԱԹՅԱՆ, Կ. Հ. ԿԻՐԱԿՈՍՅԱՆ, Լ. Գ. ԽԱԶԱՏՐՅԱՆ

Լիմֆոցիտների կենսագործունեության արգասիքների ազդեցությունը
հիպոթալամուս-հիպոֆիզ-մակերիկամային համակարգի վրա
իմորիլիզացիոն ստրեսի պայմաններում

Իմորիլիզացիոն ստրեսի մոդելի վրա ուսումնասիրվել է 5- և 24-
ժամյա անշարժացումից առաջ առնետներին ներարկված ուրցազեղծի լիմ-
ֆոցիտների կենսագործունեության արգասիքների (ԼԿԱ) ազդեցությունը
ստրես-ոնկոցիայի զարգացման կենտրոնական և ծայրամասային մեխա-
նիզմների ակտիվության վրա: Ստրեսի զարգացման երկու փուլերում էլ
հայտնաբերվել է ԼԿԱ-ի ստրես-փոփոխող ազդեցությունը, որն արտա-
հայտվել է՝ արյան մեջ կորտիկոստերոնի կոնցենտրացիայի լրացուցիչ
բարձրացմամբ, հիպոթալամուսում սերոտոնինի, արյան մեջ ադենոկորտի-
կոտրոպ հորմոնի և մակերիկամներում կորտիկոստերոնի պարունակության,
ինչպես նաև մակերիկամների կառուցվածքի և ֆունկցիայի նորմալացման
հակումով: Նշված տեղաշարժերը առավել արտահայտված են 24-ժամյա իմո-
րիլիզացիայի դեպքում և ուղեկցվում են ծայրահեղ (էքստրեմալ) ազդեցու-
թյունների նկատմամբ օրգանիզմի կայունության բարձրացմամբ:

Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

- ¹ Malcolm D. Sapun, J. M. Farah, G. P. Mueller, Neuroendocrinology v. 42, № 3, p. 191 (1986). ² А. В. Зильфян, Р. С. Овсепян, В. Г. Хачатрян и др., ДАН АрмССР, т. 85, № 3, с. 142 (1987). ³ S. H., Snyder, J. Axelrod, M. Zweig, Biochem. Pharmacol., v. 14, p. 831 (1965). ⁴ Ի. С. Сиваворян, Э. А. Ширинян, М. В. Овсепян, Биол. журн. Армения, т. 36, № 1, с. 50 (1983). ⁵ О. М. Авакян, Фармакологическая регуляция функции адренорецепторов, М., 1988. ⁶ Э. А. Ширинян, О. М. Мартиросян, С. А. Арутюнян и др., Физиол. журн. СССР, т. 6, № 9, с. 1137 (1990). ⁷ M. Raiteri, G. Maura, A. Gemignani c. a., Naunyn-Schmiedeberg's, Arch. Pharmacol., v. 322, № 2, p. 180 (1983). ⁸ P. B. Timmermans, P. A. von Zwielen, J. med. Chem., v. 25 № 12, p. 1389 (1982). ⁹ E. S. Vizi, In: Adrenoceptors and catecholamine action. Ed. G. Kunos, N.-Y., PlB, 65 (1983). ¹⁰ F. Berkenbosch, I. Vermes, R. Binnekade c. a., Life Sci., v. 29, N 22, p. 2249 (1981). ¹¹ H. Raff, S. P. Tzankoff, R. S. Fitzgerald, J. Appl. Physiol., v. 51, № 5, p. 1257 (1981). ¹² D. J. Carr, J. E. Blalock, Int. Rev. Immunol., v. 4, № 3, p. 213 (1989). ¹³ Ի. А. Юдаев, С. А. Афиногенова, в кн., Циклазная система и ее роль в регуляции клеточного обмена. Тез. докл. II всеосзн. симп., Ташкент, с. 8, 1978. ¹⁴ А. В. Зильфян, Х. С. Саядян, А. А. Павосян и др. Матер. научн. конф. ЦНИЛ Ереванского гос. мед. ин-та «Лимфокины в адаптационный синдром», Ереван, с. 9, 1990.