

УДК 616.43/.45—001.1/3—092:612.82+612.451]:577.17

МОДИФІКУЮЧИЙ ВПЛИВ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕСУ НА НЕЙРОПЕПТИДНІ МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЯЦІЇ СТРЕС-РЕАКТИВНОСТІ

Ткачук С.С., Олійник Л.Д.

Буковинська державна медична академія, м. Чернівці

Ключові слова: пренатальний стрес, нейропептидні системи мозку

Вступ. За даними літератури в механізмах емоційного стресу важлива роль належить пептидергічним системам [1, 5, 7]. У розвитку емоційного стресу й адаптації беруть участь КРФ, пролактин, опіоїдні та натрійуретичні пептиди, енкефаліни та ін. нейропептиди, про що свідчить зміна їх регіонарного і тканинного розподілу при виникненні стрес-реакції.

Мета роботи. Дослідити вплив пренатального стресу на функціональний стан деяких нейропептидних систем мозку.

Матеріали і методи. Дослідження проведені на самцях безпородних білих щурів віком 90 діб, матері яких з 15-ї по 21-у добу вагітності зазнавали дії одногодинного жорсткого іммобілізаційного стресу щоденно. Контрольні групи представлені самцями того ж віку, народженими інтактними самками. Для оцінки стрес-реактивності щурів обох експериментальних груп піддавали жорсткій іммобілізації протягом години, після чого під легким ефірним наркозом проводили декапітацію, мозок швидко виймали на

холоді і занурювали в рідкий азот. Робили зрізи, виділяли преоптичну ділянку (ПД), медіобазальний гіпоталамус (МБГ), перегородку мозку (ПМ) та мигдалеподібний комплекс (МК), звіряючись з атласом стереотаксичних координат [11].

Визначення α -передсердного натрійуретичного пептиду (α -ПНП) проводили наборами фірми "Amersham" (Англія), а β -ендорфіну — наборами фірми "Inc Star" (США). Статистичну обробку даних проводили по t-критерію Стьюдента. Залежність між показниками окремих груп даних визначалася за допомогою регресійного аналізу.

Результати досліджень та їх обговорення. Експресія генів сімейства натрійуретичних пептидів та поява β -ендорфінімунореактивних клітин в мозку плодів починається на ранніх етапах пренатального онтогенезу [8,9] й у відповідь на дію несприятливих чинників на організм вагітної самки в фе-тальному мозку має місце зростання рівня ПНП та β -ендорфіну [4, 10].

Таблиця 1

Вміст β -ендорфіну в структурах мозку щурів після іммобілізації ($M \pm m$, $n=5$)

Характер впливу	Вміст β -ендорфіну (пмоль/г тканини)			
	ПМ	ПОД	МБГ	МК
Інтактні	2,49 \pm 0,14	4,77 \pm 0,265	4,78 \pm 0,264	1,64 \pm 0,19
Іммобілізація інтактних	2,54 \pm 0,10	5,59 \pm 0,17 $p_1 < 0,025$	5,87 \pm 0,33 $p_1 < 0,025$	2,08 \pm 0,10 $P_1 < 0,05$
Пренатально стресовані	3,70 \pm 0,20 $p_1 < 0,005$	3,58 \pm 0,23 $p_1 < 0,01$	7,71 \pm 0,24 $p_1 < 0,005$	1,52 \pm 0,10
Іммобілізація пренатально стресованих	3,53 \pm 0,26	5,06 \pm 0,20 $p_2 < 0,005$	8,19 \pm 0,23	1,47 \pm 0,10

Примітки: вірогідність змін, стосовно показників у: p_1 — інтактних тварин; p_2 — пренатально стресованих тварин.

Вміст α -ПНП у структурах мозку шурів після іммобілізації ($M \pm m, n=8$)

Характер впливу	Вміст α -ПНП (фмоль/г тканини)			
	ПМ	ПОД	МБГ	МК
Інтактні	1752,7 \pm 80,1	1608,8 \pm 80,1	1488,8 \pm 136,3	1528,6 \pm 128,8
Іммобілізація інтактних	2189,6 \pm 72,1 $p_1 < 0,005$	1986,2 \pm 6,24 $p_1 < 0,005$	1929,2 \pm 59,8 $p_1 < 0,01$	1889,7 \pm 108,2 $p_1 < 0,05$
Пренатально стресовані	625,6 \pm 26,4 $p_1 < 0,001$	1328,8 \pm 79,68 $p_1 < 0,025$	1474,4 \pm 72,8	1040,0 \pm 92,5 $p_1 < 0,01$
Іммобілізація пренатально стресованих	729,8 \pm 69,1	1431,7 \pm 91,8	1392,6 \pm 81,3	1128,4 \pm 78,2

Примітки: p_1 — вірогідність змін у порівнянні з контрольними тваринами.

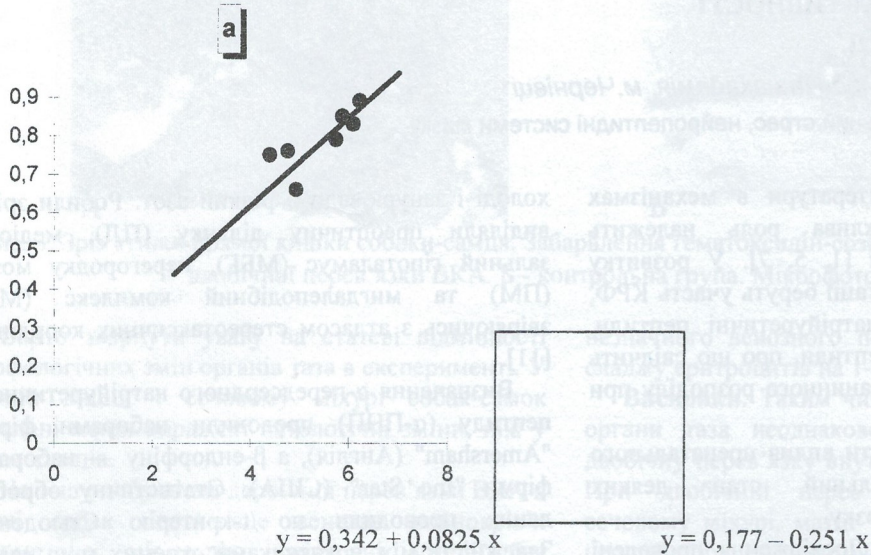


Рис. 1. Регресійна залежність між рівнем кортикостерону в плазмі крові та вмістом β -ендорфіну в деяких структурах мозку за умов іммобілізації інтактних шурів а) вісь абсцис – вміст β -ендорфіну в преоптичній ділянці мозку (пмоль/г), вісь ординат – рівень кортикостерону в плазмі крові (мкмоль/л); б) вісь абсцис – вміст β -ендорфіну в медіобазальному гіпоталамусі (пмоль/г), вісь ординат – рівень кортикостерону в плазмі крові (мкмоль/л).

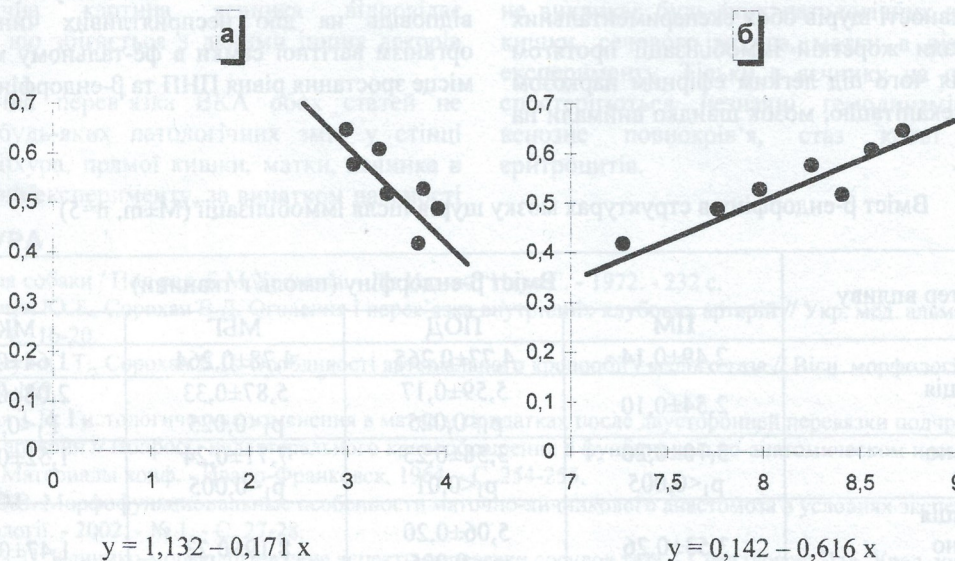


Рис.2. Регресійна залежність між рівнем кортикостерону в плазмі крові та вмістом β -ендорфіну в деяких структурах мозку за умов іммобілізації пренатально стресованих шурів: а) вісь абсцис – вміст β -ендорфіну в перегородці мозку (пмоль/г), вісь ординат – рівень кортикостерону в плазмі крові (мкмоль/л); б) вісь абсцис – вміст β -ендорфіну в преоптичній ділянці мозку (пмоль/г), вісь ординат – рівень кортикостерону в плазмі крові (мкмоль/л).

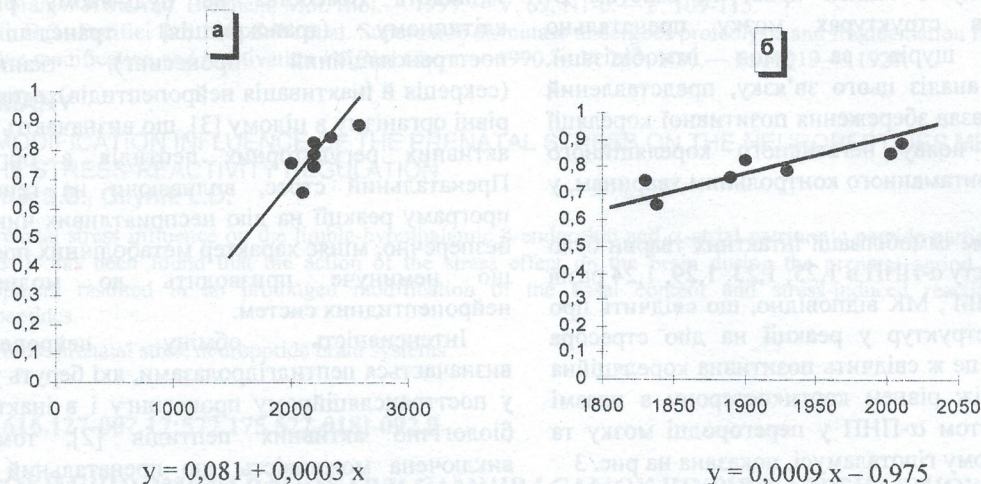


Рис. 3. Регресійна залежність між рівнем кортикостерону в плазмі крові та вмістом α -ПНП в деяких структурах мозку за умов іммобілізації інтактних шурів: а) вісь абсцис – вміст α -ПНП в перегородці мозку (фмоль/г), вісь ординат – рівень кортикостерону в плазмі крові (мкмоль/л); б) вісь абсцис – вміст α -ПНП в медіобазальному гіпоталамусі (фмоль/г), вісь ординат – рівень кортикостерону в плазмі крові (мкмоль/л).

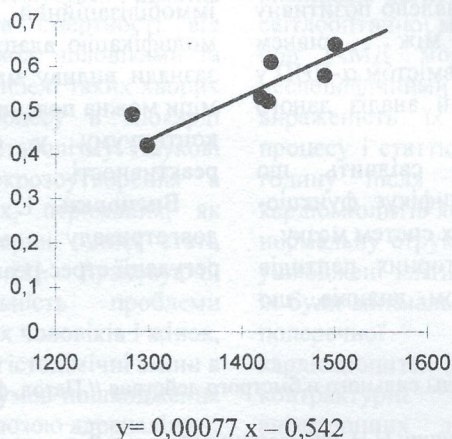


Рис. 4. Регресійна залежність між рівнем кортикостерону в плазмі крові та вмістом α -ПНП в преоптичній ділянці за умов іммобілізації пренатально стресованих шурів. Вісь абсцис — вміст α -ПНП в преоптичній ділянці мозку (фмоль/г), вісь ординат — рівень кортикостерону в плазмі крові (мкмоль/л).

Тому з точки зору концепції ранньої автомодифікації функціональної відповіді [12] у дорослих пренатально стресованих самців логічно очікувати якісних та/або кількісних порушень функціональної відповіді β -ендорфіну та α -ПНП структур мозку на дію стресорів.

За нашими даними іммобілізація контрольних самців призвела до зростання вмісту β -ендорфіну в ПОД, МБГ та МК на 17%, 23% та 27% відповідно (табл.1), що свідчить про активну участь β -ендорфінергічних систем даних структур у перебігу стрес-реакції.

Це знаходить підтвердження в даних кореляційного аналізу, який показав позитивну залежність між рівнями кортикостерону в плазмі крові та вмістом β -ендорфіну в ПОД і МБГ контрольних шурів за умов іммобілізації.

Регресійний аналіз цього зв'язку продемонстровано на рис. 1.

Наслідком пренатальних стресорних впливів був приріст вмісту β -ендорфіну в ПМ та МБГ на 49% та 61% відповідно і зменшення в ПОД на 25%. Реакції з боку ядер МК не спостерігалося.

У пренатально стресованих самців стрес-індуковані зміни вмісту опіюду мали місце лише в ПОД. Вони полягали в зростанні рівня опіюду на 41%, яке, однак, не сягало аналогічного показника в інтактних тварин ($p < 0,05$). Аналіз результатів свідчить про наявність довготривалих якісних та кількісних модифікуючих впливів пренатального стресу на конститутивний та стрес-індукований вміст β -ендорфіну в досліджених структурах.

Отримані дані дістають підтвердження при проведенні кореляційного аналізу між рівнями

кортикостерону в плазмі крові та вмістом β-ендорфіну в структурах мозку пренатально стресованих шурів за умов іммобілізації. Регресійний аналіз цього зв'язку, представлений на рис.2, показав збереження позитивної кореляції у ПОД та появу негативного кореляційного зв'язку, не притаманного контрольним тваринам, у ПМ.

Результатом іммобілізації інтактних тварин було зростання вмісту α-ПНП в 1,25, 1,23, 1,29, 1,24 разів в ПМ, ПД, МБГ, МК відповідно, що свідчить про участь цих структур у реакції на дію стресора (табл.2). Про це ж свідчить позитивна кореляційна залежність між рівнем кортикостерону в плазмі крові та вмістом α-ПНП у перегородці мозку та медіобазальному гіпоталамусі, показана на рис. 3

У пренатально стресованих тварин мало місце зменшення конститутивного рівня α-ПНП в ПМ, ПД, МК відповідно в 2,8, 1,2, 1,47 раза. В МБГ його рівень не відрізнявся від аналогічного в інтактних шурів.

Іммобілізація тварин, які зазнали материнського стресу, не вплинула на вміст α-ПНП у жодній з досліджених структур. Незважаючи на відсутність стрес-індукованих змін α-ПНП у структурах мозку шурів, які зазнали впливу пренатального стресу, виявлено позитивну кореляційну залежність між рівнем кортикостерону в плазмі крові та вмістом α-ПНП у преоптичній ділянці. Регресійний аналіз даного зв'язку показано на рис. 4.4.

Сукупність наведених дані свідчить, що пренатальний стрес суттєво модифікує функціональний стан нейропептидергічних систем мозку.

Метаболізм активних регуляторних пептидів визначається обширним спектром впливів, що

змінюють гомеостаз на будь-якому рівні – клітинному (транскрипція, трансляція та посттрансляційний процесинг), тканинному (секреція й інактивація нейропептидів), а також на рівні організму в цілому [3], що визначають рівень активних регуляторних пептидів в організмі. Пренатальний стрес, впливаючи на генетичну програму реакції на дію несприятливих чинників, безперечно, міняє характер метаболічних процесів, що неминуче призводить до модифікації нейропептидних систем.

Інтенсивність обміну нейропептидів визначається пептидгідролазами, які беруть участь у посттрансляційному процесингу і в інактивації біологічно активних пептидів [2], тому не виключена можливість, що пренатальний стрес впливає шляхом зміни активності протеолітичних ферментів.

Накопичення модифікованих протеїнів, виявлене нами в пренатально стресованих шурів [6], ймовірно, є непрямую ознакою порушення активності протеолітичних ферментів за рахунок їх незворотної оксидативної модифікації [13], що, у свою чергу, може стати причиною дезінтеграції конститутивного вмісту β-ендорфіну, α-ПНП у структурах мозку та реакції даних пептидів на іммобілізаційний стрес. Цілком вірогідно, що модифікацію адаптивних механізмів у шурів, які зазнали впливу материнського стресу, до певної міри можна пояснити порушеннями регуляторного континууму у системі забезпечення стрес-реактивності.

Висновки. 1. Пренатальний стрес викликає довготривалу модифікацію пептидергічної регуляції стрес-реактивності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ашмарин И.П. Регуляторные пептиды сильного и быстрого действия // Патол. физиол. и эксперим. терапия.— 1998.— №3.— С. 3-8.
2. Вернигора А.Н., Генгин М.Т., Никишин Н.Н. Об участии некоторых ферментов обмена нейропептидов в механизмах эмоционального стресса // Физиол. ж. им. Сеченова.— 1995.— Т. 81, №5.— С. 103-111.
3. Панченко Л.Ф., Митюшина Н.В., Фирстова Н.В., Генгин М.Т. Метаболизм энкефалинов при различных функциональных и патологических состояниях организма // Вопр. мед. химии. — 1999. — Т.45, вып. 4. — С. 277-288.
4. Роде В., Окава Т., Шталл Ф. и др. Изменения нейроэндокринной системы плодов крыс в конце беременности при остром стрессе // Труды между-нар. совещ. "Онтогенетические и генетико-эволюционные аспекты нейроэндокринной регуляции стресса". – Новосибирск, 1988.- С.155-156.
5. Судаков К.В. Механизмы устойчивости к эмоциональному стрессу: преи-мущества индивидуального подхода // Вест. РАМН.- 1998.- №8. – С. 8-12.
6. Ткачук С.С. Роль антиоксидантных ферментів і мелатоніну в обмеженні окислювальної модифікації білків // Одеський мед. журнал.— 1999.— Т.54, №4.— С.24-27.
7. Юматов Е.А. Нейромедиаторная интеграция эмоционального возбуждения и механизмы устойчивости к стрессу // Вестн. РАМН. – 1995.- №11.- С. 9-16.
8. Cameron V.A., Aitken G.D., Ellmers L.J. et al. The sites of gene-expression of atrial, brain, and C-type natriuretic peptides in mouse fetal development – temporal changes in embryos and placenta // Endocrinol.- 1996.- V. 137, N3.- P.817-824.
9. Daikoku S., Kainano H., Abe K., Yoshinaga K. Topographical appearance of adenohipophysial cells with special reference to the development of the portal system // Arch. Histol.Jap.- 1981.- V.44, N1.- P. 103-116.
10. Hargrave B., Castle M.C. Intrauterine exposure to cocaine increased plasma ANP (atrial-natriuretic-peptide) but did not alter hypoxantine concentrations in the sheep fetus // Life Sci.- 1995.- V.56, N.20.- P.1689-1697.
11. König J.F., Klippel P.A. The rat brain. A stereotaxis atlas of forebrain and lower part of the brain stem.- Baltimora: The Williams and Wilkins Company, 1963.-162p.
12. Reznikov A.G., Nosenko N.D., Tarasenko L.V. Prenatal stress and glucocorticoid effects on the developing gender-

related brain // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.— 1999.— V. 69, N1-6.— P. 109-115.

13. Salo D.S., Pacifici R.E., Lin S.W. et al. Superoxide dismutase undergoes proteolysis and fragmentation following oxidative modification and inactivation // J.Biol.Chem.— 1990.— V. 265, N20.— P. 11919 – 11927.

SUMMARY**THE MODIFICATION INFLUENCE OF THE PRENATAL STRESS ON THE NEUROPEPTIDES MECHANISMS OF THE STRESS-REACTIVITY REGULATION****Tkachuk S.S., Oliynik L.D.**

The prenatal stress influence on the limbic-hypothalamic β -endorphin and α -atrial natriuretic peptide participation has been studied. It has been found that the action of the stress effect on the brain during the prenatal period of an individual development resulted in an prolonged modification of the basal content and stress-induced reaction of the brain neuropeptides.

Key words: prenatal stress, neuropeptide brain systems