

Особенности нейроэндокринных реакций при стресс-индуцированных нарушениях циклических процессов репродуктивной системы самок крыс и ритмических холодовых воздействиях

О. В. ЕРШОВА

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Для исследования нарушения процессов репродукции необходимо экспериментальное моделирование патологических процессов репродуктивной системы с целью изучения проблем формирования болезненных изменений и дальнейшего их купирования [6]. Репродуктивная система как основная система организма является функциональной, она подчиняет и отражает все принципиальные физиологические и структурные образования функциональных систем. А именно является центрально-периферическим образованием, поддерживающим собственное единство циклической регуляции на основе прямых и обратных связей от центра к периферии и от периферии к центрам, с наличием специфических морфофункциональных образований в центре и на периферии. Репродуктивная система как конкретный аппарат саморегуляции с многократно дублируемой обратной афферентацией (нервными, гуморальными звеньями) обеспечивает в конечном результате эффективность достигаемого приспособительного или адаптационного эффекта. Таким образом достигается главная биологическая цель репродуктивной системы – сохранение биологического, генетически детерминированного вида.

Возникающие в результате хронического или острого стресса аффективные расстройства способствуют изменению нейрохимических процессов с формированием устойчивого замкнутого патологического очага "психосоматического расстройства" и развитием нейроэндокринного синдрома. К нейроэндокринным, в первую очередь, относят гипоталамический синдром [2,3] как полиэтиологический симптомокомплекс изменений нейрогуморальных процессов в системе эпифиз-гипоталамус-гипофиз, клинические проявления которых выражаются в нарушении менструального цикла, овуляторных функций и различных сексуальных расстройствах [5, 6, 7]. Нарушения гормональной регуляции менструальной функции проявляются выраженной гиперпролактинемией, относительной гиперэстрогемией, изменением соотношения гонадотропинов, а также уровня фолликулостимулирующего гормона. Одним из пусковых

механизмов в развитии нейроэндокринного синдрома является ухудшение психоэмоционального статуса женщин как результат хронического стресса, обусловленного неблагоприятными экологическими условиями, социальными и бытовыми факторами [8]. Показано, что под влиянием эмоциональных стрессовых перегрузок происходят изменения в системе эпифиз-гипоталамус-гипофиз, которые характеризуются повышением уровня пролактина, снижением секреции прогестерона и эстрадиола.

Экзогенная гормональная коррекция гормонального спектра при отсутствии каких-либо соматических нарушений не обеспечивает достижения положительного эффекта. Включение в терапию бесплодия нейроэндокринного генеза нейротропных средств способствует, по мнению ряда клиницистов, повышению уровня неспецифической резистентности в результате изменения нейровегетативной регуляции. Вместе с тем терапия гипоталамического нейроэндокринного синдрома как одной из причин бесплодия нуждается в нетрадиционных методах, позволяющих осуществлять контролируемое направленное воздействие на комплекс структур центральной нервной системы, обеспечивающих полноценность функциональных реакций системы эпифиз-гипоталамус-гипофиз. По нашему мнению, таким методом может быть ритмическая краниocereбральная гипотермия (РКЦГ).

Анализ полученных в ИПКиК данных [4] показывает, что при ритмических холодовых воздействиях наблюдается терморегуляторная реакция, проявляющаяся в адекватной реакции нейрогуморальных процессов гипоталамо-гипофизарной системы в условиях периодического расширения границ температурного гомеостаза, что позволяет изменять направленность нейротрансмиттерных процессов, нейрогуморальных и вегетативных реакций в динамике временного интервала воздействия. При этом скорость и глубина снижения температуры объекта в 1,5-2,0 раза меньше, чем при традиционной краниocereбральной гипотермии. Происходящее при этом изменение проницаемости гематоэнцефалического барьера имеет функциональный обратимый характер, т.е. не сопровождается ультраструктурными нарушениями.

Адрес для корреспонденции: Ершова О.В., Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 373-30-07, факс: +38 (057) 373-30-84, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Целью настоящего исследования является определение в эксперименте влияния ритмической краниocereбральной гипотермии на нейрогуморальные механизмы регуляции циклических процессов репродуктивной системы у самок крыс, подвергшихся эмоционально-болевого стрессу.

Материалы и методы

Исследования выполняли на половозрелых самках крыс популяции Вистар массой 180-200 г. Животных содержали в условиях вивария на стандартном пищевом рационе при световом режиме: 10 ч свет и 14 ч – темнота. Поскольку репродуктивная система подвержена сезонным колебаниям, эксперименты проводили с ноября по февраль. Различные манипуляции (вагинальные мазки, инъекции, ритмические холодовые воздействия, декапитация) осуществлялись в первой половине дня. О состоянии репродуктивной функции животных судили по эстральному циклу (на основании гистологии влагалищных мазков анализировали общую продолжительность цикла и его фазовую структуру). Самок крыс для оценки фертильности спаривали с интактными самцами, которые предварительно тестировались на половую активность. В вагинальных мазках самок фиксировали сперматозоиды. Индексы плодовитости и беременности вычислялись по следующим формулам:

$$\text{Индекс плодовитости} = \frac{\text{количество оплодотворенных самок}}{\text{количество самок в опыте}} \times 100\%$$

$$\text{Индекс беременности} = \frac{\text{количество беременных самок}}{\text{количество оплодотворенных самок}} \times 100\%$$

Для определения уровня лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), эстрадиола иммуоферментным методом использовалась периферическая кровь. Полученные результаты обрабатывались общепринятыми методами статистического анализа. Гипотермические воздействия проводили на оригинальной установке, состоящей из электрогенератора и электроэнцефалографа, подключенных к планшетному потенциометру, у которого каретка с пером была заменена шторой для прерывания потока холодного воздуха (~4-6°C), подаваемого от промышленного гипотерма в камеры с животными при частоте воздействия 0,05-0,7 Гц (ритмическая гипотермия). Время воздействия не превышало 90 мин, ректальная температура не опускалась ниже 35°C. Для получения модели эмоционально-болевого стресса, усиленного периодической иммобилизацией, животных подвергали болевому раздражению электрическим током (15 с – воздействие, 45 с – перерыв) в течение 30 мин раз

в 20 дней. Для этих целей использовали освещенную камеру, к полу которой был подведен электрический ток, замыкание контактов для его подачи производили в случайном режиме. Порог чувствительности определяли для каждого животного индивидуально, при этом напряжение не превышало 80 В. Крыс помещали в пластиковые контейнеры, ограничивающие движение, для регистрации ЭЭГ, ЭКГ и потенциации стрессовых реакций. Уровень секреции ³H-НА в эпифизе определяли радиоизотопным методом.

Результаты и обсуждение

Изучение эстрального цикла по вагинальным мазкам крыс определило его продолжительность 4,2 дня. Течковый период (проэструс+эструс) составлял 1,64±0,09 дней или 42% от всего цикла и был короче межтечковой фазы (метэструс+диэструс), длительность которой была 2,85±0,08 дней или 55%.

Проведено исследование генеративной функции яичников в течение эстрального цикла. Подсчет примордиальных фолликулов показал, что их количество было наименьшим в проэструсе. Число преандральных и многополостных фолликулов достоверно не различалось весь цикл, в эструсе и метаэструсе наблюдалось минимальное количество преовуляторных фолликулов, максимальное увеличение однополостных фолликулов – в проэструсе. Максимальное количество желтых тел (ЖТ) зарегистрировано в эструсе-метаэструсе, в проэструсе их число снижалось. Отмечалось низкое соотношение желтых тел к овуляторным фолликулам в проэструсе. В период окончания течки число ЖТ преобладало над количеством больших фолликулов. О произошедшей овуляции в период проэструса свидетельствовало снижение числа преовуляторных фолликулов наряду с увеличением количества ЖТ. Таким образом, в течение всего эстрального цикла отмечен интенсивный рост фолликулов, а изменение числа генеративных элементов в гонадах крыс определено стадиями овариального и эстрального циклов и соответствующим гормональным статусом. У всех крыс, подсаженных в стадии проэструса к самцам, в вагинальных мазках на утро после спаривания обнаружены сперматозоиды. Индекс плодовитости составлял 100%, беременность отмечена в 100% случаев. В других стадиях цикла спаривание не дало положительных результатов. Выявленные циклические изменения в содержании ФСГ, ЛГ и эстрадиола в периферической крови согласуются с данными табл. 1.

Цикличность половых процессов у самок выявлялась в поведенческой реакции на самца, т.е. в половой охоте. Возбуждение наступало в период

предтечки, во время созревания преовуляторных фолликулов, увеличения уровня эстрадиола и преовуляторного выброса ЛГ, сопровождающегося ороговением влагалищного эпителия и течкой.

В группе самок крыс после эмоционально-болевого стресса отмечалось ингибирование фолликулогенеза в яичниках на протяжении 16 дней, т.е. трех циклов. В яичниках крыс после 2-3 стрессовых воздействий растущие фолликулы претерпевали атрофические изменения и не достигали преовуляторной стадии развития. Лишь на 15-17 день после эмоционально-болевого стресса в яичниках крыс наблюдалось увеличение числа растущих фолликулов. Количество крупных андральных фолликулов и желтых тел превышало показатели у интактных животных (80 % самок), в вагинальных мазках на 15-16 день регистрировался эструс. При этом, начиная с 5 дня после эмоционально-болевого стресса, к крысам подсаживали самцов, с которыми они пребывали весь срок наблюдения. В вагинальных мазках фиксировали сперматозоиды. Индекс плодовитости составил 12%.

Ритмическая гипотермия существенно влияла на состояние самок крыс. Гистологическое изучение яичников выполнялось в те же сроки, что и определение гормонов. Проведение ритмической гипотермии приводило к увеличению всех видов овариальных фолликулов в первые 4 суток после РХВ, т.е. через 5 суток после прекращения проведения эмоционально-болевого стресса. К 8-9 суткам наблюдения существенно увеличилось количество растущих фолликулов, а также желтых тел, что свидетельствовало о возможной овуляции между 5 и 8 сутками, хотя число желтых тел обычно ниже, чем у интактных животных. На 7-8 сутки животных спаривали, индекс беременности был такой же, как у контрольной группы. Не выявилось также различий в имплантации от показателей у контрольной (интактной) группы самок крыс. Постимплантационная гибель эмбрионов у самок крыс после эмоционально-болевого стресса достигала 30%, в то время как у крыс после РХВ составила 3,1%.

Изменение уровня гормонов периферической крови отражало общую тенденцию изменения состояния репродуктивной системы самок крыс. Уровень ЛГ, ФСГ и эстрадиола повышался непосредственно после РХВ, превышая их уровень после эмоционально-болевого стресса. При этом уровни ЛГ и ФСГ были выше, чем у контрольной группы животных в стадии эструса, в то время как уровень эстрадиола был значительно ниже. При дальнейшем наблюдении отмечалось выравнивание соотношения уровня исследуемых гормонов,

Таблица 1. Уровень гормонов в периферической крови экспериментальных животных в различные фазы эстрального цикла

Эстральный цикл	Эстрадиол (M±m)	ФСГ (M±m)	ЛГ (M±m)
Проеструс	0,372±0,0238	4,08±0,39	5,94±0,69
Эструс	0,428±0,0356	6,98±1,13	9,04±1,3
Метэструс	0,225±0,0437	3,35±0,84	3,016±1,28
Диэструс	0,14±0,0552	2,72±0,63	2,64±1

Таблица 2. Уровень гормонов в периферической крови экспериментальных животных при стрессе и ритмических холодовых воздействиях

Воздействие	Эстрадиол (M±m)	ЛГ/ФСГ	ФСГ (M±m)	ЛГ (M±m)
Стресс	0,197±0,004	2,09±0,41	3,57±0,45	5,94±0,69
Стресс + РХВ	0,22±0,02	2,17±0,56	4,64±1,07	8,12±0,81
5 сут.	0,242±0,01	0,93±0,12	2,9±0,29	2,66±0,40
8 сут.	0,213±0,06	0,86±0,17	3,33±0,30	2,96±0,88

что особенно заметно по соотношению ЛГ и ФСГ (табл. 2).

Этот факт в сочетании с показателями фертильности крыс указывает, что общий уровень гормонов - не единственный фактор, определяющий восстановление репродуктивной системы самок крыс после эмоционально-болевого стресса.

Как показано в работах Грищенко В.И., Чазова Е.И, Исаченко В.А., важную роль в формировании циклических процессов играет эпифиз, являющийся нейроэндокринным трансдуктором. В настоящее время предполагается, что эпифиз и гипоталамус ответственны за первичное восприятие режима окружающей среды, влияющего на реакцию гонад, на ряд изменений во внешней и внутренней среде. Важным звеном, определяющим нейроэндокринные взаимоотношения, есть активность серотонинэргических систем в центральной нервной системе. Как известно, серотонин является одним из медиаторов, наряду с норадреналином (НА), определяющим состояние эмоциональной активности. Функциональная недостаточность этих медиаторов способствует развитию депрессий. Одновре-

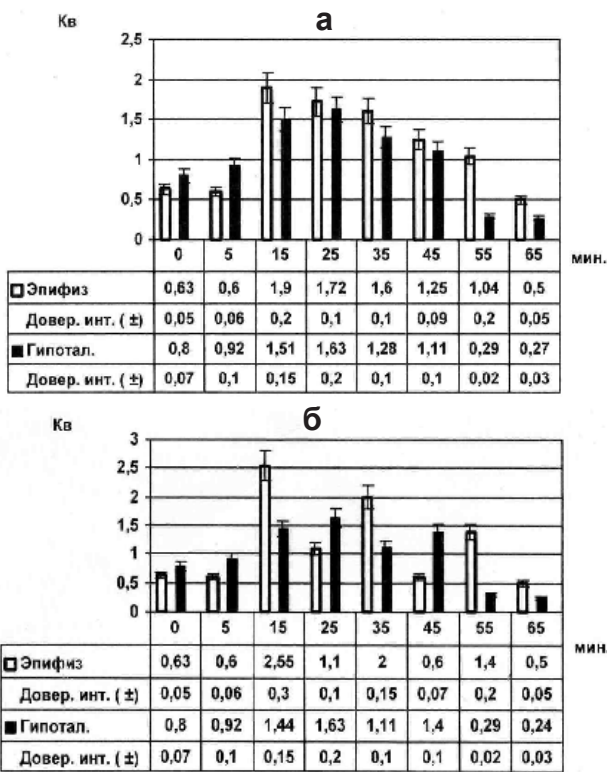


Рис. 1. Секретия СТ у стрессированных самок крыс до (а) и после РХВ (б).

менно серотонин оказывает специфическое действие, связанное с половыми особенностями животных. По данным различных авторов, угнетение серотонинэргической активности в структурах мозга на разных этапах эстрального цикла как ингибирует, так и стимулирует эстральное поведение крыс.

На рис.1, 2 представлены взаимоотношения секреции серотонина в эпифизе и гипоталамусе головного мозга самок крыс при стрессе, ритмических холодовых воздействиях и у стрессированных самок крыс после РХВ. Изменения функциональной активности определяются по данным морфологического исследования (рис. 3). По ранее проведенным исследованиям можно сделать вывод о том, что нейромедиаторные, вегетативные, функциональные процессы проницаемости гистогематических барьеров при стрессе и холодовых воздействиях в определенной степени взаимосвязаны. Реакция на стресс начинается с повышения активности симпатической системы, которая через ряд процессов приводит к повышению активности парасимпатической нервной системы, что в конечном счете восстанавливает повышенную активность симпатических процессов. При этом можно выделить три линии функциональных систем нейрогуморальной регуляции вегетативных процессов:

1) взаимодействие между симпатическим и парасимпатическим отделами нервной системы;

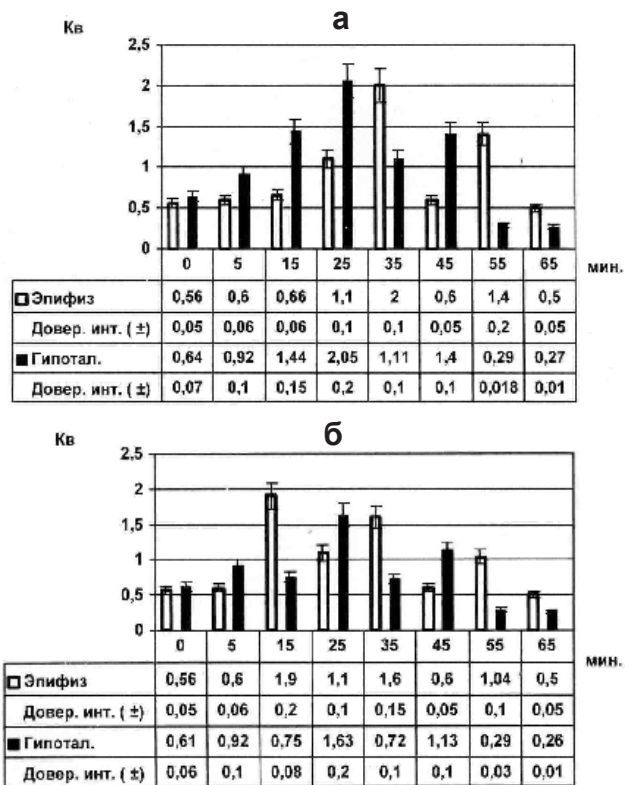


Рис. 2. Секретия СТ при РХВ (а) и у intactных самок крыс при световой функциональной пробе (б).

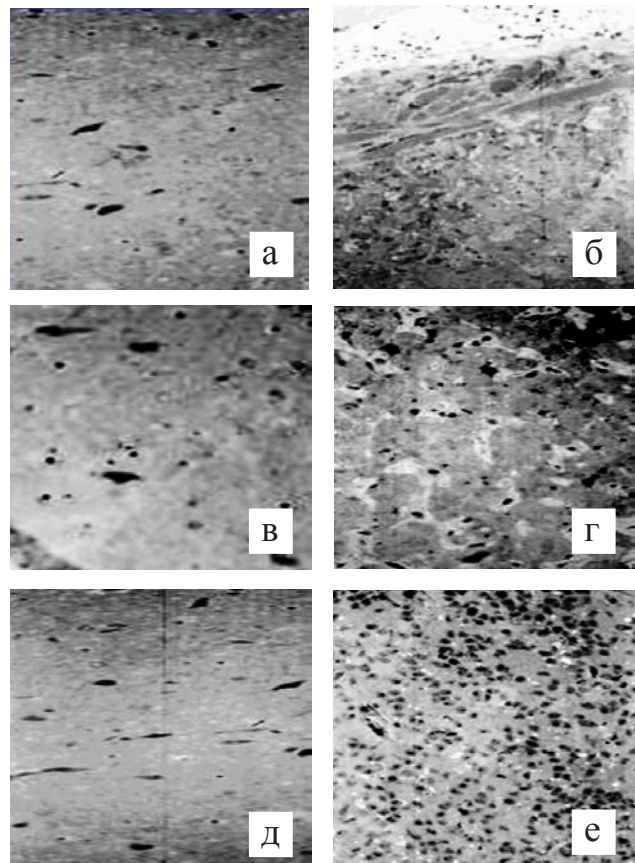


Рис. 3. Изменение активности по данным морфологического исследования: а – передний гипоталамус (ПГТ), норма; б – эпифиз, норма; в – ПГТ эмоционально-болевого стресс (ЭБС); г – эпифиз ЭБС; д – ПГТ ЭБС + ритмические холодовые воздействия на краниоцеребральную зону (РКЦГ); д – эпифиз ЭБС + РКЦГ.

2) обратная связь, в основе которой находится функция гистогематических барьеров – регуляция проницаемости для холиномиметиков, адреномиметиков и других биоактивных веществ, которые переключают активацию одного отдела вегетативной нервной системы на другой; 3) прямая-обратная гуморальная связь как функция, регулирующая взаимосвязь нейроэндокринной системы и периферической функциональной активности репродуктивной системы. Для завершения адаптации в конечное время необходимо гибкое выключение в разные периоды некоторых функциональных связей между структурами мозга, способствующих поддержанию данного состояния и данной активности организма. Следует отметить особый вклад термосенситивных нейронов, находящихся в переднем гипоталамусе. Представляется интересным использовать специфичный эффект “мягкого стресса” ритмического охлаждения для “смягчения” последствий “жесткого” эмоционально-болевого стресса.

Выводы

Проведенные исследования определили возможность коррекции нарушений циклических процессов репродуктивной системы с помощью ритмических холодовых воздействий и позволили заключить следующее:

1. При применении РХВ с целью коррекции нарушений циклических процессов репродуктивной системы самок крыс после эмоционально-болевого стресса определяется направленная тенденция к нормализации гормонального уровня в периферической крови экспериментальных животных.

2. Реализация положительного эффекта при использовании РХВ с целью коррекции нарушений циклических процессов репродуктивной системы самок крыс после эмоционально-болевого стресса обеспечивается включением центральных нейроэндокринных механизмов регуляции циклических процессов.

3. В процессе РХВ происходит изменение секреции серотонина в эпифизе и гипоталамусе экспериментальных животных, что позволяет говорить о перспективности метода РХВ для коррекции нарушений, обусловленных функциональной дисфункцией нейротрансмиттерной системы.

Литература

1. Грищенко В.И. Роль эпифиза в физиологии и патологии женской половой системы.– Харьков, 1979.– 248 с.
2. Дубоссарская З.М., Дука Ю.М., Дубоссарская Ю.А. Дифференцированная тактика ведения и лечения эндокринного женского бесплодия // Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України.– Київ, 2001.– С. 246-247.
3. Жерновая Я.С. Сексуальне здоров'я жінок при ендокринній неплідності // Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України.– Київ, 2001.– С. 265-266.
4. Марченко В.С. Общий подход к проблеме повышения проницаемости гематоэнцефалического барьера и холодовой устойчивости организма // Проблемы криобиологии.– 1994.– №1.– С. 24-32.
5. Михайлюта М.А., Артамонов В.С. Діагностика та лікування порушень менструального циклу при гіпоталамічних синдромах // Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України.– Київ, 2001.– С. 440-442.
6. Aguilera G. Regulation of pituitary ACTH secretion during chronic stress // Front. Neuroendocrinol.– 1994.– Vol. 15.– P. 321-350.
7. Aguilera G., Kiss A., Shiver T. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis during stress: role of neuropeptides and catecholamines // J. Neurosci.– 1992.– Vol. 6.– P. 32-37.
8. Crowley W., Fillicori M., Spratt D. et al. The physiology of gonadotrophin releasing hormone (Secretion in mean women) // Rec. Progr. Horm. Res.– 1985.– Vol. 41.– P. 473-480