

ГИПОФИЗАРНО-ЭПИФИЗАРНЫЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ: ВЛИЯНИЕ КОРТИКОТРОПИНА НА МЕТАБОЛИЗМ СЕРОТОНИНА И ФОРМИРОВАНИЕ НОЧНОГО ПИКА МЕЛАТОНИНА

Поступила 11.09.12

В экспериментальном исследовании на половозрелых самцах крыс линии Вистар изучено влияние инъекций кортикотропина (АКТГ; одно- или пятикратно по 1 Ед/сутки) на метаболизм серотонина в эпифизе мозга. Введение АКТГ усиливало процесс формирования ночного пика синтеза мелатонина в эпифизе за счет повышения утилизации триптофана пинеалоцитами и его дальнейшего превращения в серотонин, а также интенсификации реакций N-ацетилирования и последующего O-метилирования последнего. Выявленные изменения рассматриваются как аналог защитной реакции организма на негативное действие избытка гормонов гипофизарно-адренкортикальной системы при стрессе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пинеальная железа, мелатонин, серотонин, кортикотропин, индоламины.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время не подлежит сомнению, что эпифиз мозга (синонимы – пинеальная железа, шишковидное тело) является важным нейроэндокринным компонентом стресслимитирующей системы, ограничивающей повреждающее действие избытка глюкокортикоидов [1, 2]. Данные литературы относительно взаимоотношений эпифизарного мелатонина и гипофизарного кортикотропина (адренкортикотропного гормона – АКТГ) пока немногочисленны и неоднозначны.

Известно, что эпифиз, продуцируя и секретируя мелатонин, обеспечивает функциональные связи с гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системой (ГГАКС), ограничивая ее чрезмерную активацию лишь в случаях резких отклонений в деятельности надпочечников, в том числе спровоцированных стрессом [3].

Существует точка зрения, согласно которой регуляция стресс-индуцированной активации ГГАКС с участием мелатонина происходит на разных уровнях деятельности этой системы. Наибольшее число сторонников приобрела концепция о стимуляции гипоталамусом и гипофизом глюкокортикоидной функции надпочечников посредством секреции кортиколиберина и кортикотропина, а также об ингибировании активности ГГАКС эпифизом посредством высвобождения

мелатонина [3, 4]. Поскольку введение эпифизарных индоламинов в латеральный желудочек мозга либо в медиальный гипоталамус приводит к значительному уменьшению массы надпочечников, сдерживает их компенсаторную гипертрофию в случае стресса и ограничивает концентрацию кортикостерона в крови и у контрольных, и у стрессированных крыс [5], считается, что действие мелатонина реализуется на центральном нейроэндокринном уровне. Как полагают, медиобазальный гипоталамус представляет собой зону, на которую эпифиз оказывает особое влияние. Вследствие этого угнетаются синтез и секреция кортиколиберина, что, в свою очередь, приводит к угнетению активности гипофизарно-адреналовой системы в целом [6]. Однако существуют и противоположные данные, указывающие на то, что мелатонин не принимает участия в непосредственной регуляции продукции кортиколиберина (возможно, из-за отсутствия чувствительных к мелатонину структур в медиобазальном гипоталамусе) [7]. В опытах на крысах было установлено, что у контрольных либо эпифизэктомированных животных мелатонин не влияет на содержание АКТГ ни в гипофизе, ни в крови. В то же время у крыс, предварительно подвергнутых иммобилизационному стрессу, введение мелатонина вызывает уменьшение концентрации АКТГ и пролактина [8]. Сообщалось о том, что инъекции мелатонина значительно ослабляют адренкортикальный ответ на стресс, препятствуя увеличению содержания кортиколиберина в гипоталамусе и кортикотропина в гипофизе [9]. В этих случа-

¹ГУ "Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины", Харьков (Украина).

Эл. почта: chropo@bk.ru (Л. А. Бондаренко).

ях повреждения желудка, индуцированные стрессом, также ограничиваются в результате уничтожения свободных радикалов с участием эндогенного простагландина E_2 [10]. В последние годы появились сведения о том, что мелатонин в низких дозах подавляет стимулированную АКТГ выработку кортизола в надпочечниках у обезьян-капуцинов [11], хомячков и людей [12], оказывая прямое влияние на надпочечники через мелатониновые рецепторы I типа, локализованные на мембранах гормонпродуцирующих клеток пучковой зоны коры упомянутых желез [13]. При анализе данных литературы складывается впечатление, что, скорее всего, в нормальном состоянии мелатонин не оказывает существенного влияния на адренокортикотропную функцию гипофиза, в то время как в случае стресса этот гормон обуславливает угнетающий эффект.

Выявление характера обратной связи, т. е. определение влияния гормонов ГГAKC на функционирование эпифиза мозга, показало следующее. Иммунизационный стресс оказывает активирующее воздействие на морфофункциональное состояние пинеалоцитов [14–16]. Обнаружено, что в случае острого стресса концентрация адреналина в эпифизе увеличивается в 5–10 раз; при этом концентрация циркулирующего в крови мелатонина возрастает независимо от условий освещения [1, 2]. Введение 10 мг кортиколиберина молодым здоровым мужчинам обуславливало значительное уменьшение концентрации мелатонина в крови, в то время как кортикотропин не оказывал подобного влияния [17].

В многочисленных исследованиях была показана возможность того, что в стрессогенных ситуациях активация эпифиза может представлять собой реакцию на возбуждение ГГAKC. Эти данные были получены в ходе обследования крыс, подвергнутых разным видам стресса – хирургическому, гипогликемическому (инсулиновому), метаболическому (при голодании либо хроническом недоедании), физическому (при воздействии постоянного шума, смене светового или температурного режима), фармакологическому (при использовании препаратов, индуцирующих сдвиги, которые наблюдаются в случае стресс-реакции). Результаты биохимических и морфологических исследований таких животных свидетельствовали о стимуляции функции эпифиза в условиях стресса, а также о том, что активация пинеалоцитов была вторичной по отношению к изменениям в ГГAKC [18]. Вместе с тем в опытах *in vitro* добавление АКТГ в культуру клеток эпифиза мозга не влияло на биосинтез мелатонина в пинеалоцитах [19]. Это указывало на отсутствие прямого

влияния кортикотропина на мелатонинообразующую функцию эпифиза. В опытах *in vivo* АКТГ также существенно не изменял реакции пинеалоцитов эпифиза на болевой стресс в течение 30 мин после стрессорного воздействия. Однако начиная с 15-й мин в клетках этой мозговой структуры отмечалось нарастание относительного объема гранулярного эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи на фоне снижения показателей секреторной активности [20]. Анализ данных литературы о взаимоотношениях секреции АКТГ и мелатонина не дает, к сожалению, возможности сделать окончательные выводы. Более того, до сих пор остается неустановленным, какие внутриклеточные процессы происходят в пинеалоцитах при остром либо хроническом повышении уровня кортикотропина в периферической крови.

С учетом вышеизложенного в настоящей работе мы изучали влияния однократного либо курсового введения кортикотропина на биохимические превращения индолов в эпифизе мозга, ориентированные на формирование ночного пика мелатонина.

МЕТОДИКА

Работа была выполнена на 35 половозрелых самцах крыс линии Вистар в весенне-летний период (с длительным световым периодом суток). Животных содержали в виварии на стандартном рационе в условиях естественной смены дня и ночи (16/8 ч). Кортикотропин (препарат АКТГ Каунасского завода эндокринных препаратов, Литва), растворенный в 0.9 %-ном растворе NaCl непосредственно перед инъекцией, вводили подопытным животным в дозе 1 Ед (25 нг) в сутки внутримышечно либо однократно, либо ежедневно в течение пяти дней. Контрольным животным инъекцировали растворитель в эквивалентных объемах.

С целью изучения острого влияния АКТГ на биохимические механизмы формирования ночного пика синтеза мелатонина в эпифизе мозга препарат вводили однократно ночью, в 23.30, и через 30 мин животных декапитировали. Влияние длительного насыщения организма АКТГ на биохимические превращения индоламинов в пинеалоцитах оценивали при введении препарата ежедневно пятикратно; инъекции производили в 10.00. Этих животных выводили из эксперимента вскоре после полуночи (в период максимальной секреторной активности эпифиза). О процессах синтеза и метаболизма производных индола в эпифизе судили на основании данных

флуориметрического определения содержания серотонина и продуктов его метаболизма [21]. Для одного определения использовали эпифизы, полученные от двух-трех животных (3–5 мг сырой ткани). Метод позволял в одном образце ткани определять содержание серотонина, N-ацетилсеротонина (N-аС), мелатонина, 5-метокситриптамина (5-МТ), а также суммарной фракции, включающей в себя 5-окси- и 5-метоксииндолилуксусную кислоты (5-ОИУК + 5-МОИУК). Содержание этих компонентов отражает три пути метаболизма серотонина в эпифизе мозга – путь прямого O-метилирования серотонина с образованием 5-МТ, путь N-ацетилирования и последующего O-метилирования серотонина с образованием N-аС и мелатонина и путь окислительного дезаминирования и последующего O-метилирования с образованием 5-ОИУК и 5-МОИУК.

В качестве стандартов использовали соответствующие тест-образцы упомянутых индолов («Sigma», США). Интенсивность флуоресценции определяли с применением светофильтров (длины волн 365 и 470 нм). Концентрацию производных индола выражали в нанogramмах на орган и нанogramмах на 1 мг ткани. Дополнительным критерием оценки функционального состояния эпифиза служили значения массы этого органа. Числовой материал обрабатывали с использованием *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Однократное введение АКТГ не вызывало изменений ни абсолютной, ни относительной массы эпифиза мозга. Введение же препарата в течение пяти дней приводило к увеличению как абсолютной (в среднем от 1.53 ± 0.10 до 1.91 ± 0.06 мг; $P < 0.01$), так и относительной (от 7.53 ± 0.52 до 10.00 ± 0.58 мкг/г; $P < 0.01$) массы органа, что составляло 24.8 и 32 % соответственно. В связи с этим мы сочли целесообразным приводить данные биохимических исследований в расчете как на орган, так и на 1 мг ткани (см. рисунок).

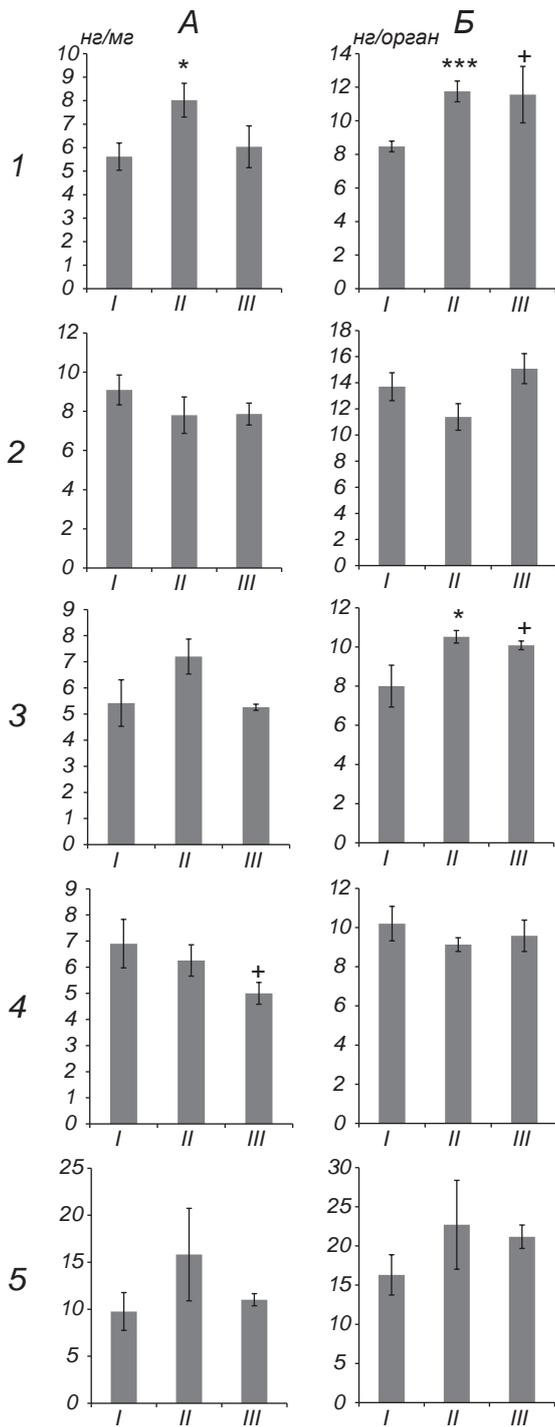
Результаты измерения содержания эпифизарных индолов в расчете на 1 мг ткани свидетельствовали о том, что через 30 мин после одноразового введения АКТГ концентрация серотонина увеличивалась, в то время как уровни иных фракций индолов оставались в пределах контрольных значений. После курсового введения АКТГ достоверных изменений содержания изучаемых производных индола в расчете на 1 мг ткани в эпифизе подопытных животных не отмечалось.

Картина же показателей, характеризующих биохимические превращения индолов в эпифизе при расчете на орган, оказалась иной. Так, через 30 мин после однократного введения АКТГ у крыс увеличивалось содержание в эпифизе не только серотонина, но и мелатонина; уровень остальных фракций индолов оставался в пределах индивидуальных колебаний, характерных для контрольных животных. У крыс же, подвергнутых курсовому введению АКТГ, существенных сдвигов не отмечалось. В этой серии исследований лишь содержание мелатонина в эпифизе обнаруживало тенденцию к увеличению ($0.05 < P < 0.1$).

Полученные данные указывают на то, что в течение 30 мин после введения АКТГ в пинеалоцитах захват триптофана из системы кровообращения и его превращение в серотонин усиливаются. Интенсифицируется также дальнейший метаболизм синтезированного серотонина путем N-ацетилирования и последующего O-метилирования, нацеленный на продукцию мелатонина. Процессы прямого O-метилирования либо окислительного дезаминирования серотонина в пинеалоцитах в условиях острого действия АКТГ в данный период наблюдения практически не изменялись.

Как свидетельствуют результаты проведенных измерений, при пятидневном введении АКТГ поддержание уровня мелатонина в эпифизе мозга происходит не за счет интенсификации биохимических превращений индолов в пинеалоцитах, как это наблюдается в условиях острого воздействия, а за счет увеличения общей массы органа (при расчете на 1 мг ткани интенсивность превращения серотонина в мелатонин у подопытных животных в общем соответствовала контрольным значениям). Нельзя исключить также возможности дальнейшего превращения 5-МТ в мелатонин в условиях проводимых экспериментов.

Таким образом, между эпифизом и гипофизом существует не только прямая (что было известно), но и обратная связь. Местом приложения действия АКТГ на уровне пинеалоцитов, очевидно, является реакция серотонин \rightarrow N-аС \rightarrow мелатонин. Усиление синтеза мелатонина под влиянием АКТГ наиболее выражено в ближайшие сроки после введения препарата. В основе этого эффекта лежит интенсификация метаболизма серотонина путем его N-ацетилирования и последующего O-метилирования, которая осуществляется, вероятно, вследствие увеличения активности N-ацетилтрансферазы (NAT) и гидроксиндол-O-



метилтрансферазы. Полученные нами данные согласуются с результатами исследований других авторов, которые обнаружили увеличение активности NAT и уровня эпифизарного мелатонина при остром иммобилизационном [22–24], инсулиновом [25] либо эфирном [26] стрессах.

Влияние одноразового и курсового введения кортикотропина (АКТГ) на содержание производных индола в эпифизе мозга крыс, нг/мг (А) и нг на орган (Б).

Приведены средние значения \pm ошибка среднего. I–III – группы животных (I – контрольная, $n = 5$; II – животные, которым 25 нг АКТГ вводили однократно, $n = 6$; III – животные, которым АКТГ в той же дозе вводили ежедневно в течение пяти дней, $n = 6$). 1 – содержание серотонина, 2 – N-ацетилсеротонина, 3 – мелатонина, 4 – 5-метокситриптамина; 5 – суммарное содержание 5-окси- и 5-метоксииндолуксусной кислоты. Одной и тремя звездочками отмечены случаи достоверных отличий от контроля с $P < 0.05$ и $P < 0.001$ соответственно, крестиком – случаи различий, близких к достоверным ($0.05 < P < 0.1$).

Впливи одноразового та курсового введення кортикотропіну (АКТГ) на вміст похідних індолу в епіфізі мозку шурів, нг/мг (А) та нг на орган (Б).

Учитывая, что АКТГ в первую очередь стимулирует глюкокортикоидную функцию коры надпочечников, а при стрессе усиливаются как адренкортикотропная функция гипофиза, так и глюкокортикоидная функция коры надпочечников, невозможно исключить того, что реакция эпифиза мозга на введение АКТГ в наших исследованиях могла быть обусловлена влиянием кортикостероидов. Вместе с тем было показано, что кортикостерон, добавленный в инкубационную среду для эпифизов крыс, не влиял на базальную продукцию мелатонина и даже приводил к уменьшению секреции гормона, стимулированной норадреналином [27]. Введение кортикостерона гипофизэктомированным крысам ночью (в 23.00) вызывало уменьшение активности NAT и уровня мелатонина в эпифизе через 10, 25 и 40 мин после инъекций [28]. Это дало возможность цитируемым авторам сделать вывод, что глюкокортикоиды тормозят образование мелатонина в эпифизе; указанный эффект осуществляется на внутриклеточном уровне.

Сопоставление данных литературы с результатами настоящего исследования позволяет сделать заключение о том, что АКТГ осуществляет прямое (а не опосредованное глюкокортикоидами) влияние на продукцию мелатонина эпифизом, усиливая формирование его ночного пика. Подобный эффект, в свою очередь, препятствует развитию поврежденных, индуцируемых избытком глюкокортикоидов.

Представляется вероятным, что увеличение продукции мелатонина эпифизом мозга необходимо организму для подавления излишне высокой активности гипофизарно-адренкортикальной системы в стрессорных ситуациях. Это обеспечивает приведение гормонального фона в соответствие с уровнем стрессорного воздействия.

Л. О. Бондаренко¹

ГИПОФИЗАРНО-ЕПИФИЗАРНИ ВЗАЄМОВІДНОСИНИ:
ВПЛИВ КОРТИКОТРОПІНУ НА МЕТАБОЛІЗМ
СЕРОТОНІНУ ТА ФОРМУВАННЯ НІЧНОГО ПІКА
МЕЛАТОНІНУ

¹ДУ «Інститут проблем ендокринної патології
ім. В. Я. Данилевського НАМН України», Харків (Україна).

Резюме

В експериментальному дослідженні на статевозрілих самцях щурів лінії Вістар вивчено вплив кортикотропіну (АКТГ; одно- або п'ятиразово по 1 Од/добу) на метаболізм серотоніну в епіфізі мозку. Введення АКТГ посилювало процес формування нічного піка синтезу мелатоніну в епіфізі за рахунок підвищення утилізації триптофану пінеалоцитами та його подальшого перетворення в серотонін, а також інтенсифікації реакції N-ацетилювання і подальшого O-метилування останнього. Виявлені зміни розглядаються як захисна реакція організму на негативну дію надлишку гормонів гіпофізарно-адренкортикальної системи при стресі.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Э. Б. Арушанян, "Участие эпифиза в антистрессорной защите мозга", *Успехи физиол. наук*, **27**, № 3, 31-50 (1996).
2. Э. Б. Арушанян, К. Б. Ованесов, А. П. Попова, "Влияние ослепления крыс на динамику короткопериодных ритмических процессов при удалении эпифиза", *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*, **82**, № 4, 75-80 (1996).
3. Э. Б. Арушанян, *Уникальный мелатонин*, СТГМА, Ставрополь (2006).
4. А. Г. Резников, "Эндокринологические аспекты стресса", *Международ. эндокрин. журн.*, **10**, № 4, 103-111 (2007).
5. M. Motta, O. Schiaffini, P. Riva, et al., *The Pineal Gland*, Longman Group Ltd., Edinburgh (1971).
6. F. Fraschini, A. Cesarani, D. Alpini, et al., "Melatonin influences human balance," *Biol. Signals Recept*, **8**, Nos. 1/2, 111-119 (1999).
7. Л. Н. Маслова, *Механизмы модификации в раннем онтогенезе дефинитивной функции гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы*, Автореф. дис. ... д-ра биол. наук, Новосибирск (1993).
8. M. Juszczak, "Melatonin affects the oxytocin and prolactin responses to stress in male rats," *J. Physiol. Pharmacol.*, **49**, No. 1, 151-163 (1998).
9. R. Konakchieva, Y. Mitev, O. F. Almeida, et al., "Chronic melatonin treatment and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in the attenuation of the secretory response to stress and effects on hypothalamic neurocontent and release," *Biol. Cell*, **89**, No. 9, 587-596 (1997).
10. T. Brzozowski, P. C. Konturek, S. J. Konturek, et al., "The role of melatonin and L-tryptophan in prevention of acute gastric lesions induced by stress, ethanol, ischemia, and aspirin," *J. Pineal Res.*, **23**, No. 2, 79-89 (1997).
11. C. Torres-Farfan, H. E. Richter, P. Rojas-Garcia, et al., "mt1 Melatonin receptor in the primate adrenal gland: inhibition of adrenocorticotropin-stimulated cortisol production by melatonin," *J. Clin. Endocrinol. Met.*, **88**, No. 1, 450-458 (2003).
12. C. Campino, F. Valenzuela, C. Torres-Farfan, et al., "Melatonin exerts direct inhibitory action on ACTH responses in human adrenal gland," *Horm. Metab. Res.*, **5**, No. 43, 337-342 (2011).
13. C. Campino, F. Valenzuela, E. Arteaga, et al., "Melatonin reduces cortisol response to ACTH in humans," *Rev. Med. Chil.*, **136** (11), No. 43 (5), 337-342 (2008).
14. J. Milin, M. Demajo, and R. Milin, "Pineal gland involvement in the regulation of a prompt stress-induced ACTH burst," *Gen. Comp. Endocrinol.*, **66**, No. 1, 10 (1987).
15. J. Milin, J. Martinovic, M. Demajo, et al., "Pineal gland and opioid peptides might be intervening variables in initial stress-induced prolactin surge," in: *Neuroendocrine Correlates of Stress, Biochemical Endocrinology*, Cavtat, Sept. 9-15 (1984), New York, London (1985), pp. 191-216.
16. M. F. Soriano, H. T. Gil de Tejada, S. P. Herrador, et al., "Synaptic ribbon modifications in the pineal gland of the albino rat following 24 h of immobilization," *Acta Anat.*, **145**, No. 4, 430-433 (1992).
17. M. Kellner, A. Yassouridis, B. Manz, et al., "Corticotropin-releasing hormone inhibits melatonin secretion in healthy volunteers – a potential link to low-melatonin syndrome in depression?" *Neuroendocrinology*, **65** (4), 284-290 (1997).
18. Devi S. Parvatbi, Rao A. Venkoba, and N. Hari-barasubramanian, "Stress and the Pineal Gland," *J. Neural Transm.*, **13**, 388 (1978).
19. M. I. Vacas, S. M. Keller, E. N. Pereyra, et al., "In vitro effects of adenohipophysial hormones on rat pineal melatonin content and release," *Mol. Cell. Endocrinol.*, **50**, Nos. 1/2, 23-27 (1987).
20. J. Milin, M. Demajo, and R. Milin, "Characteristics of a prompt morphodynamic response of the pineal gland to an acute ACTH injection," *Z. Mikrosk.- Anat. Forsh.*, **103**, No. 5, 720-733 (1989).
21. F. P. Miller and R. Maickel, "Fluorometric determination of indole derivatives," *Life Sci.*, **9**, Part 1, No. 13, 747-752 (1970).
22. Д. Я. Шурыгин, *Эпифиз (шишковидная железа): Физиология эндокринной системы*, Наука, Ленинград (1979).
23. R. L. Urry, K. A. Dougherty, J. L. Frehn, et al., "Factors other than light affecting the pineal gland: Hypophysectomy, testosterone, dihydrotestosterone, estradiol, cryptorchidism and stress," *Am. Zool.*, **16**, No. 1, 79-91 (1976).
24. H. J. Lynch, Ho Maria, and R. J. Wurtman, "The adrenal medulla may mediate the increase in pineal melatonin synthesis induced by stress, but not that caused by exposure to darkness," *J. Neural, Transm.*, **40**, No. 2, 87-97 (1977).
25. Н. П. Деряпа, М. П. Мошкин, В. С. Посный, *Проблемы медицинской биоритмологии*, Медицина, Москва (1985).
26. G. M. Vaughan, J. P. Allen, W. Tullis, et al., "Stress-induced increase of pineal N-acetyltransferase activity in intact rats," *Neurosci. Lett.*, **9**, 83-87 (1978).
27. M. Fevre-Montange, J. Tourniare, B. Estour, et al., "24 hour melatonin secretory pattern in Cushing's syndrome," *Clin. Endocrinol.*, **19**, No. 2, 175-181 (1983).
28. M. E. Troiani, R. J. Reiter, and M. K. Vaughan, "The depression in rat pineal melatonin production after saline injection at night may be elicited by corticosterone," *Brain Res.*, **450**, Nos. 1/2, 18-24 (1988).