

РОЛЬ КАЛЬЦИЕВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ В РАЗВИТИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНКОРТИКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ, ВЫЗВАННЫХ ПРЕНАТАЛЬНЫМ СТРЕССОМ

Поступила 20.05.10

Исследовано влияние блокатора кальциевых каналов L-типа нимодипина, воздействующего на крыс в пренатальный период жизни, на гормональную реакцию коры надпочечных желез (измеряемую по уровню кортикостерона в плазме крови) на острый стресс или введение норадреналина в III желудочек мозга у взрослых потомков крыс (самцов и самок в возрасте шести и восьми месяцев), матери которых в последнюю неделю беременности (с 15-го по 21-й день) ежедневно подвергались одночасовой иммобилизации. У самцов пренатальный стресс ослаблял, а у самок – умеренно усиливал адренкортикальную реакцию на острый стресс, индуцируемый одночасовой иммобилизацией. Пероральное введение нимодипина в дозе 20 мг/кг перед иммобилизацией беременных матерей препятствовало развитию указанных нарушений стрессорной реакции гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГГАС) у взрослых потомков обоего пола. Гормональная реакция коры надпочечных желез на введение норадреналина в III желудочек мозга взрослым самкам крыс, которая отсутствовала у пренатально стрессированных животных, полностью сохранялась после введения нимодипина в пренатальный период. В то же время нимодипин не оказывал влияния на индуцированные пренатальным стрессом изменения норадренергической реактивности ГГАС у взрослых самцов. Введение нимодипина беременным матерям, не подвергавшимся иммобилизационному стрессированию, оказывало модифицирующее воздействие на формирование реактивности ГГАС у взрослых потомков, которое проявлялось в пролонгации адренкортикальной реакции ГГАС на внутрижелудочковое введение норадреналина у самцов и самок, а также в умеренном усилении гормонального ответа коры надпочечных желез на острый стресс у самок. Полученные данные являются свидетельством того, что кальцийзависимые механизмы существенно вовлечены в процесс программирования у взрослых животных функциональных изменений ГГАС, вызванных пренатальным стрессом, а нимодипин оказывает протекторный эффект в отношении этих изменений путем ослабления кальциевой сигнализации в областях головного мозга, вовлеченных в регуляцию функции ГГАС.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пренатальный стресс, иммобилизационный стресс, блокатор кальциевых каналов, гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальная система.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что стресс во время беременности вызывает комплекс нейрогормональных сдвигов в организме матери и плода, которые посредством импринтинговых механизмов программируют становление нейроэндокринной регуляции многих

физиологических функций (включая поведение в целом), процессов репродукции и адаптации. Эпигенетическая модификация нейроэндокринной системы, осуществляемая соответствующими гормонами, нейропептидами и другими медиаторами стресса, проявляется в изменениях нейрогенеза и формировании фенотипических характеристик нейронов.

Среди разнообразных отдаленных последствий материнского стресса особое внимание заслуживают, в частности, изменения стрессорной

¹ ГУ “Институт эндокринологии и обмена веществ им. В. П. Комиссаренко АМН Украины”, Киев (Украина).

Эл. почта: dccie@mail.kar.net (Н. Д. Носенко).

и норадренергической реактивности гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГГАС) [1]. Результаты изучения механизмов, лежащих в основе длительных нарушений реактивности ГГАС, показали, что такие нарушения сопровождаются изменениями экспрессии мРНК кортиколиберина и сдвигами содержания этого нейрого르몬а в гипоталамусе [2]. Изменяются также плотность глюкокортикоидных рецепторов [3, 4] и активность нейромедиаторных систем в определенных участках головного мозга [5]. Вместе с тем клеточные и молекулярные механизмы возникновения и развития у потомков функциональных изменений ГГАС, вызванных воздействием хронического стресса на организм матери, пока остаются практически неизученными.

Одним из таких механизмов может быть регуляция процессов нейрогенеза, опосредуемая изменениями уровня кальция. Известно, что внутриклеточная концентрация ионов кальция в существенной степени определяет процессы межнейронной сигнализации, влияет на процессы экзоцитоза и синаптической передачи, развитие синаптической пластичности, а также ход апоптоза и некроза нервных клеток [6–9]. Имеются свидетельства возможности участия ионов кальция в гормонозависимых процессах перинатального нейрогенеза, однако этому вопросу посвящены лишь единичные публикации. В частности, продемонстрировано вовлечение кальций/кальмодулиновой системы в регуляцию половой дифференциации мозга [10]. Обнаружены половые различия содержания кальцийсвязывающих белков (кальмодулина, калбиндина, калретинина) в гипоталамусе новорожденных крыс [11]. Показано, что андрогены и глюкокортикоиды способны изменять уровень кальцийсвязывающих белков в гипоталамусе в течение перинатального периода онтогенеза [12, 13]. Особый интерес вызывают отдельные сообщения [14–16], касающиеся изменения кинетических характеристик кальциевых каналов L-типа в изолированных пирамидных нейронах гиппокампа у взрослых потомков крыс, которые испытали пренатальный стресс (во время беременности матери).

С учетом приведенных выше данных логично было бы предположить, что кальцийзависимые механизмы в заметной степени вовлечены в развитие дисфункции ГГАС, вызванной пренатальным стрессом. С целью экспериментальной проверки указанной гипотезы мы провели фармакологический анализ участия внутриклеточных ионов кальция

в развитии изменений стрессорной и норадренергической реактивности ГГАС у взрослых потомков крыс, матери которых во время беременности подвергались воздействию иммобилизационного стресса. Для этого использовалось введение блокатора кальциевых каналов L-типа нимодипина.

МЕТОДИКА

Исследования были проведены на взрослых потомках крыс линии Вистар (самцах и самках массой 180–240 г, $n = 156$) в возрасте шести и восьми месяцев. Матери этих животных в период беременности (ежедневно с 15-го по 21-й день) подвергались одночасовой иммобилизации. Части из них за 30 мин до начала иммобилизации перорально через металлический зонд вводили нимодипин в виде суспензии порошка таблетированного препарата, что обеспечивало действующую дозу вещества 20 мг/кг (0.2 мл суспензии на 100 г массы тела). В качестве среды суспензии использовали гель Дорфмана (0.5 % карбоксиметилцеллюлозы в 0.9 %-ном растворе натрия хлорида с добавлением 0.4 % Твин-80 и 0.9 % бензилового спирта; объемные части). Согласно данным литературы [17], применяемая доза нимодипина является оптимальной для блокирования кальциевых каналов L-типа в нейронах головного мозга. Отдельные группы контроля были составлены из матерей, не подвергавшихся иммобилизационному стрессированию; им в те же сроки беременности ежедневно перорально вводили либо нимодипин, либо среду его суспензии.

Животные содержались в одинаковых условиях вивария на стандартном рационе питания со свободным доступом к питьевой воде. Все эксперименты проводились с соблюдением требований Европейской конвенции по защите позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях [18].

Стрессорную реактивность ГГАС изучали у потомков крыс обоего пола в возрасте шести месяцев (по 10 животных в каждой группе). Для этого каждую из исследуемых групп крыс соответствующего пола разделяли на две подгруппы – животных, находящихся в состоянии физиологического покоя, и животных, испытавших острый тест-стресс, индуцированный одночасовой иммобилизацией.

Эвтаназию животных осуществляли сразу после окончания иммобилизации (путем быстрой декапитации с помощью гильотины под легким эфирным

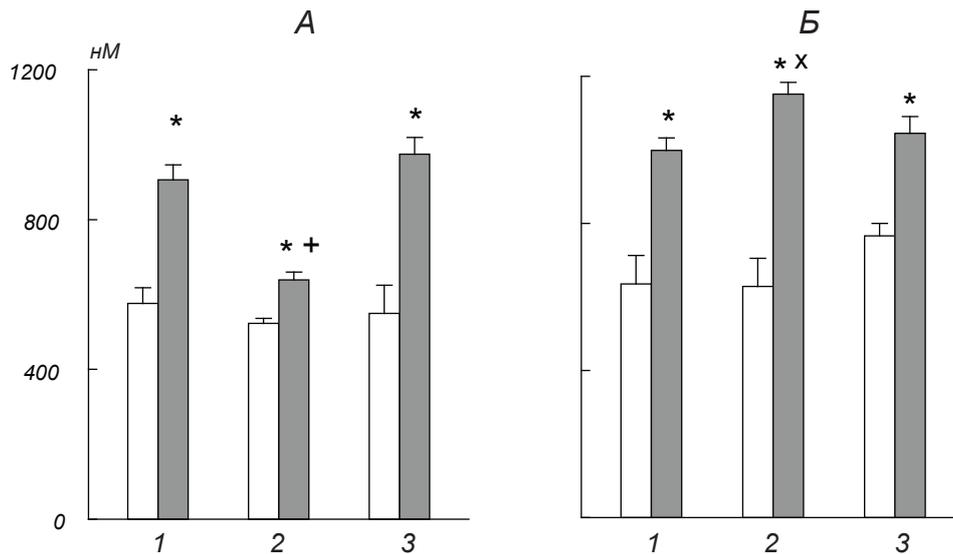
наркозом). Взятие биологических проб у самок проводили в стадии диэструса; последнюю определяли с помощью микроскопического изучения влажных мазков. Реакцию ГГАС на острый стресс характеризовали согласно изменению уровня кортикостерона в плазме крови, который определяли с применением флуориметрического микрометода [19].

Для изучения норадренергической реактивности ГГАС за восемь дней до основного эксперимента животным всех исследуемых групп в возрасте восьми месяцев (по семь животных в каждой группе) под стереотаксическим контролем в III желудочек мозга была имплантирована стальная направляющая канюля с мандреном [20]. Во время проведения этой операции животные находились под хлоралгидратным наркозом. За 24 ч до начала эксперимента в правую внешнюю яремную вену под слабым эфирным наркозом вставляли силиконовый катетер [21]. За 1 ч до начала опыта катетер удлиняли, насаживая на него полиэтиленовую трубку, заполненную раствором гепарина (50 МЕ/мл в 0.9 %-ном растворе NaCl). Мандрен заменяли внутренней канюлей, соединенной полиэтиленовой трубкой с ми-

крошприцем. Введение норадреналина битартрата ("Koch Light Labs", Великобритания) в III желудочек мозга (10 мкг в 2 мкл 0.9 %-ного апиогенного раствора NaCl) осуществляли в течение 1 мин. Животным контрольной группы вводили растворитель в аналогичном объеме. Образцы крови для определения содержания кортикостерона отбирали из катетера до и через 30, 60 и 90 мин после введения норадреналина с последующим замещением крови раствором гепарина в эквивалентном объеме. Данные всех экспериментов обрабатывали статистически с применением стандартных приемов. Достоверность межгрупповых различий ($P < 0.05$) оценивали по *t*-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

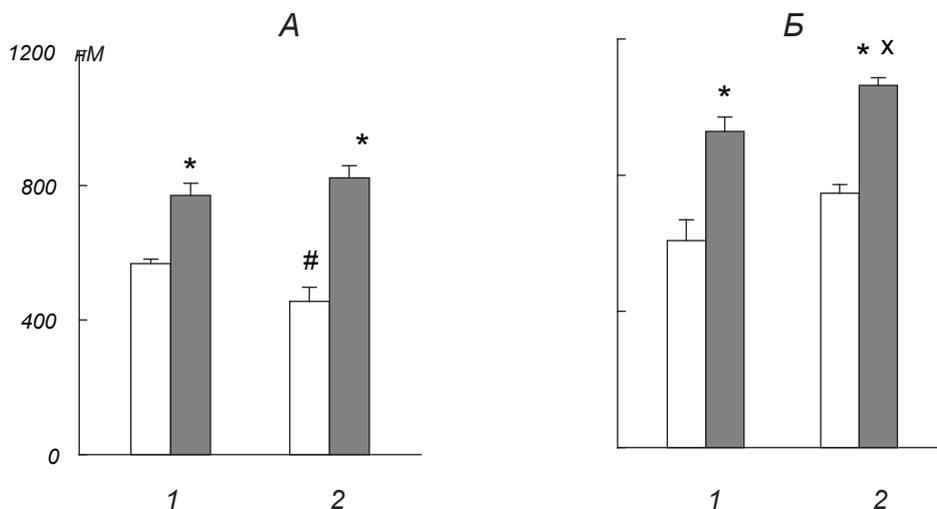
Взрослые потомки крыс контрольной группы реагировали на острый стресс повышением уровня кортикостерона в плазме крови, причем у самок амплитуда гормонального подъема была достоверно выше, чем у самцов (рис. 1, Б, 1, А, 1). Это согласуется с имеющимися в литературе данными о



Р и с. 1. Влияние воздействия нимодипина в пренатальный период на уровень кортикостерона в плазме крови пренатально стрессированных самцов (А) и самок (Б) взрослых крыс в условиях физиологического покоя и после иммобилизационного тест-стресса.

1 – контроль, 2 – после действия стресса на беременных самок на 15–21-й дни беременности, 3 – после комбинированного действия стресса и нимодипина на 15–21-й дни беременности. Светлые столбики соответствуют базальному уровню гормона, темные – уровню после односторонней тест-иммобилизации. Звездочкой отмечены случаи достоверных межгрупповых различий ($P < 0.05$) при сравнении с базальным уровнем гормона в каждой из отдельных групп животных, крестиком – с постстрессорным уровнем у контрольных самцов и косым крестиком – с постстрессорным уровнем у контрольных самок.

Р и с. 1. Вплив дії німодипіну в пренатальний період на рівень кортикостерону в плазмі крові пренатально стресованих самців (А) та самок (Б) дорослих щурів в умовах фізіологічного спокою і після іммобілізаційного тест-стресу.



Р и с. 2. Влияние воздействия нимодипина в пренатальный период на уровень кортикостерона в плазме крови самцов (А) и самок (Б) взрослых крыс в условиях физиологического покоя и после иммобилизационного тест-стресса.

1 – контроль, 2 – после введения нимодипина беременным самкам на 15–21-й дни беременности. Звездочкой отмечены случаи достоверных различий ($P < 0.05$) при сравнении с базальным уровнем гормона в каждой из отдельных групп животных, решеткой – с базальным уровнем у контрольных самцов и косым крестиком – с постстрессорным уровнем у контрольных самок. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

Р и с. 2. Вплив дії німодипіну в пренатальний період на рівень кортикостерону в плазмі крові самців (А) та самоць (Б) дорослих щурів в умовах фізіологічного спокою і після іммобілізаційного тест-стресу.

Т а б л и ц а 1. Уровень кортикостерона (нМ) в плазме крови взрослых самцов крыс после микроинфузии норадреналина в III желудочек мозга

Т а б л и ц я 1. Рівень кортикостерону (нМ) у плазмі крові дорослих самців щурів після мікроінфузії норадреналіну в III шлуночок мозку

| Условия опыта | Исходный уровень | Время после микроинфузии норадреналина, мин | | |
|--|------------------|---|------------------|---------------|
| | | 30 | 60 | 90 |
| Контроль | 745.9 ± 128.5 | 1165.9 ± 81.3* | 980.1 ± 64.2 | 862.1 ± 52.1 |
| При действии нимодипина на 15–21-й день беременности | 886.8 ± 66.5 | 1268.9 ± 56.5*** | 1322.2 ± 74.5*** | 1015.3 ± 79.3 |
| При действии стресса на 15–21-й день беременности | 851.8 ± 69.7 | 1189.0 ± 82.4** | 1231.5 ± 93.5*** | 984.0 ± 67.6 |
| При комбинированном действии стресса и нимодипина на 15–21-й день беременности | 842.7 ± 85.3 | 1318.6 ± 94.1** | 1296.1 ± 62.5** | 932.9 ± 77.3 |

П р и м е ч а н и я. В таблице приведены средние значения ± ошибка среднего. Одной, двумя и тремя звездочками обозначены случаи достоверных различий ($P < 0.05$; 0.01 и 0.001 соответственно) при сравнении с исходным уровнем.

более высокой стресс-реактивности самок [22].

Пренатально стрессированные самки реагировали на острый стресс умеренным повышением гормонального ответа по сравнению с таковым у контрольных животных, тогда как у подопытных самцов гормональная реакция была значительно слабее (рис. 1, Б, 2, А, 2). Пероральное введение нимодипина перед стрессированием беременных крыс препятствовало развитию указанных измене-

ний активности ГГАС у взрослых потомков обоего пола. У них сохранялась характерная для нормальных животных адренокортикальная реакция на острый тест-стресс (А, 3, Б, 3). Базальный уровень кортикостерона в плазме крови у этих животных также не отличался от контрольных показателей.

У взрослых самцов крыс, матери которых во время беременности получали нимодипин, адренокортикальная реакция на острый стресс существенно

Т а б л и ц а 2. Уровень кортикостерона (нМ) в плазме крови взрослых самок крыс после микроинфузии норадреналина в III желудочек мозга**Т а б л и ц я 2. Рівень кортикостерону (нМ) у плазмі крові дорослих самиць щурів після мікроінфузії норадреналіну в III шлуночок мозку**

| Условия опыта | Исходный уровень | Время после микроинфузии норадреналина, мин | | |
|--|------------------|---|------------------|---------------|
| | | 30 | 60 | 90 |
| Контроль | 901.4 ± 108.0 | 1693.8 ± 72.8*** | 1190.9 ± 90.9 | 1097.7 ± 83.7 |
| При действии нимодипина на 15–21-й день беременности | 888.9 ± 84.1 | 1424.0 ± 67.6*** | 1398.4 ± 75.3*** | 1025.8 ± 67.7 |
| При действия стресса на 15–21-й день беременности | 939.0 ± 103.3 | 1032.6 ± 48.3 | 1088.8 ± 47.0 | 869.4 ± 66.1 |
| При комбинированном действии стресса и нимодипина на 15–21-й день беременности | 918.2 ± 65.5 | 1349.0 ± 70.2*** | 1258.3 ± 58.1** | 1001.2 ± 57.4 |

Пр и м е ч а н и е. Обозначения те же, что и в табл. 1.

не изменялась, хотя базальный уровень кортикостерона в плазме крови снижался в среднем на 20 % относительно контрольных величин (рис. 2, А, 2). В аналогичной группе подопытных самок, находящихся в стадии диэструса, достоверных изменений базальной секреции кортикостерона не наблюдалось, но постстрессорный уровень гормона в плазме крови был несколько выше, чем у контрольных животных (Б, 2).

При изучении норадренергической реактивности ГГАС выяснилось, что контрольные животные (и самцы, и самки) реагировали на введение норадреналина в III желудочек мозга достоверным повышением уровня кортикостерона в крови на 30-й мин после микроинъекции. У самок этот подъем уровня гормона был более выраженным, чем у самцов (повышение на 90 % по сравнению с 60 % у самцов). К 60-й мин концентрация кортикостерона снижалась практически до исходного уровня (табл. 1; 2).

У пренатально стрессированных самцов крыс реакция адренортикального звена ГГАС на введение норадреналина в III желудочек мозга была более длительной, чем у контрольных животных. Повышение уровня кортикостерона в плазме крови наблюдалось и на 30-й, и на 60-й мин. Уровень кортикостерона на 90-й мин достоверно не отличался от исходного.

Пренатальное применение нимодипина не влияло на индуцированные пренатальным стрессом изменения норадренергической реактивности ГГАС у взрослых самцов (табл. 1). В то же время реакция адренортикального звена ГГАС на внутрижелудочковое введение норадреналина взрослым самкам крыс, которая практически отсутствовала

у пренатально стрессированных животных, полностью сохранялась при условии введения нимодипина в пренатальный период (табл. 2).

Характерно, что введение нимодипина в пренатальный период нестрессированным крысам вызывало у животных обоего пола пролонгацию адренортикальной реакции ГГАС на внутрижелудочковое введение норадреналина. На 60-й мин уровень кортикостерона в крови оставался достоверно повышенным и возвращался к исходной величине лишь на 90-й мин.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение блокатора кальциевых каналов L-типа нимодипина беременным крысам оказывает заметное модифицирующее воздействие на формирование стрессорной и норадренергической реактивности ГГАС у взрослых потомков таких самок. Вполне вероятно, что в развитии наблюдаемых функциональных изменений ГГАС важную роль играет нарушение баланса внутриклеточных концентраций ионов кальция в областях головного мозга, причастных к регуляции ГГАС. В то же время, если учесть возможность прямого действия блокаторов кальциевых каналов на гипоталамические нейроны, секретирующие кортиколиберин, а также на кортикотропоциты передней части гипофиза [23], нельзя исключить и вероятности вовлечения других механизмов в реализацию модулирующего действия нимодипина на функцию ГГАС. Следует также принять во внимание, что нимодипин может взаимодействовать с минералокортикоидными рецепторами гиппокампа [24] и таким способом частично изменять регуляцию тонической секреции кортикостероидов.

В наших экспериментах было обнаружено выраженное повреждающее действие материнского стресса на формирование реактивности ГГАС у взрослых потомков крыс; это полностью подтверждает результаты предыдущих исследований [1]. Интересно отметить, что введение нимодипина перед стрессированием беременных крыс препятствовало развитию индуцированных пренатальным стрессом разнонаправленных изменений реактивности ГГАС у взрослых потомков данных животных, прежде всего у самок. У таких животных реакция ГГАС на стрессорную и центральную норадренергическую стимуляцию восстанавливалась до параметров, характерных для нормальных животных. Подобный эффект нимодипина в отношении изменения реакции адrenoкортикального звена ГГАС на острый стресс был отмечен и у пренатально стрессированных самцов. С учетом полученных нами результатов можно полагать, что кальцийзависимые механизмы существенно вовлечены в развитие функциональных изменений ГГАС, вызванных пренатальным стрессом. При этом наблюдаемые эффекты пренатального стресса, скорее всего, связаны с усилением кальциевой сигнализации в отделах головного мозга, участвующих в регуляции ГГАС. В пользу такого предположения свидетельствуют данные о возрастании амплитуды кальциевого тока в изолированных пирамидных нейронах гиппокампа взрослых крыс, которые являлись потомками стрессированных матерей [14–16]. Очевидно, что протекторное действие нимодипина в значительной степени связано с нормализацией функционирования кальциевых каналов и адекватным сохранением кальциевой сигнализации в пренатальный период онтогенеза. Последний эффект обусловлен тем, что нимодипин способен не только проникать через гемато-энцефалический барьер и избирательно блокировать кальциевые каналы L-типа [25, 26], но и обеспечивать превентивный эффект в отношении некоторых нейродегенеративных изменений [27]. В этой связи особый интерес вызывают данные Някаша и соавт. [28], показавших, что применение нимодипина в пренатальный период препятствует развитию дисфункции надпочечных желез под влиянием пренатальной гипоксии.

При анализе возможных механизмов протекторного эффекта нимодипина в отношении изменений реактивности ГГАС, индуцированных пренатальным стрессом, необходимо учитывать возможность взаимодействия ионов кальция с гормональными медиаторами стресса (прежде всего, с глюкокорти-

коидами, уровень которых значительно повышается в крови беременной матери в результате иммобилизационного стрессирования) [29]. Как известно, глюкокортикоидные гормоны свободно проникают через плацентарный барьер в кровеносную систему плода [30] и оказывают существенное влияние на процессы созревания и дифференцирования нейронов, а также на регуляцию экспрессии клеточного генома фетального головного мозга [31–33]. Кроме того, глюкокортикоиды играют важную роль в обеспечении кальциевого гомеостаза, поскольку взаимодействуют с кальцийсвязывающими белками в гипоталамусе в перинатальный период онтогенеза [13].

Показано, что хроническое введение кортикостероидов приводит к увеличению уровня экспрессии мРНК кальциевых каналов L-типа и усилению кальциевого тока в нейронах гиппокампа; данные эффекты опосредованы активацией минералокортикоидных и глюкокортикоидных рецепторов [34]. Полагают [16], что подобные изменения кальциевого тока наблюдаются и в условиях усиления секреции кортикостероидов под влиянием пренатального стресса. Принимая во внимание ряд данных литературы [31, 32], а также результаты наших предыдущих исследований [1, 35], указывающие на ведущую роль глюкокортикоидных гормонов в механизмах опосредования программирующих эффектов пренатального стресса в отношении стрессорной и норадренергической реактивности ГГАС у взрослых крыс, можно прийти к заключению о том, что кальцийзависимые механизмы, возможно, участвуют и в этих процессах.

Следует отметить, что в реализации эффектов пренатального стресса, помимо глюкокортикоидных гормонов, участвуют и другие факторы, имеющие отношение к стрессу, в частности опиоиды. Так, длительное повышение уровня опиоидов в гипоталамусе и аденогипофизе матери во время хронического стресса способно изменять процессы нейрогенеза в результате прямого действия этих агентов на те нейронные системы, активность которых необходима для формирования нормальной функции ГГАС у взрослых потомков [36, 37]. Ранее мы показали [38, 39], что введение блокатора опиоидных рецепторов налтрексона перед стрессированием беременных матерей препятствует развитию изменений стрессорной и норадренергической реактивности ГГАС у взрослых потомков. Данный факт указывает на причастность опиоидной системы к реализации упомянутых эффектов прена-

тального стресса. Если учесть способность опиоидов активировать кальциевые каналы в мембранах нейронов [40–42], то представляется вероятным, что в наших экспериментах нимодипин, блокируя кальциевые каналы, может препятствовать проявлению действия опиоидов, выделяющихся во время стрессирования беременной матери. Возможно, на этом частично основывается превентивный эффект нимодипина в отношении функциональных изменений ГГАС у взрослых потомков. Косвенным подтверждением такого предположения может являться недавняя демонстрация ингибирующего воздействия блокатора кальциевых каналов нифедипина на индуцируемую морфином секрецию кортикостероидов [43].

Таким образом, резюмируя результаты проведенного исследования, можно прийти к заключению о том, что кальциевая сигнализация существенно вовлечена в развитие у взрослых животных функциональных изменений ГГАС, вызванных пренатальным стрессом. Нимодипин способен осуществлять протекторное действие в отношении этих нарушений за счет коррекции кальциевого гомеостаза в отделах головного мозга, участвующих в регуляции активности ГГАС.

Н. Д. Носенко¹, П. В. Сініцін¹, О. Г. Резніков¹

РОЛЬ КАЛЬЦІЄВОЇ СИГНАЛІЗАЦІЇ В РОЗВИТКУ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН ГІПОТАЛАМО-ГІПОФІЗАРНО-АДРЕНКОРТИКАЛЬНОЇ СИСТЕМИ, СПРИЧИНЕНИХ ПРЕНАТАЛЬНИМ СТРЕСОМ

¹ ДУ “Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України”, Київ (Україна).

Резюме

Досліджено вплив блокатора кальцієвих каналів L-типу німодипіну, діючого на шурів у пренатальний період їх життя, на гормональну реакцію кори надниркових залоз (вимірювану за рівнем кортикостерону в плазмі крові) на гострий стрес або введення норадреналіну в III шлуночок мозку у дорослих нащадків шурів (самців і самиць віком шість і вісім місяців), матері яких в останній тиждень вагітності (з 15-ї по 21-шу добу) щоденно були піддані іммобілізації протягом 1 год. У самців пренатальний стрес послаблював, а у самиць – помірно посилював адренкортикальну реакцію на гострий стрес, індукований одноденною іммобілізацією. Пероральне введення німодипіну в дозі 20 мг/кг перед іммобілізацією вагітних матерів запобігало розвитку зазначених порушень стресової реакції гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної системи (ГГАС) у дорослих нащадків

обох статей. Гормональна реакція кори надниркових залоз на введення норадреналіну в III шлуночок мозку дорослим самицям шурів, що була відсутня у пренатально стресованих тварин, повністю зберігалася після введення німодипіну в пренатальний період. Водночас німодипін не впливав на індуковані пренатальним стресом зміни норадренергічної реактивності ГГАС у дорослих самців. Уведення німодипіну нестресованим вагітним матерям спричиняло модифікуючу дію на формування реактивності ГГАС у дорослих нащадків, що виявлялось у пролонгації адренкортикальної реакції ГГАС на внутрішньошлуночкове введення норадреналіну у самців та самиць, а також у помірному посиленні гормональної відповіді кори надниркових залоз на гострий стрес у самиць. Отримані дані свідчать про істотне залучення кальційзалежних механізмів у процес програмування у дорослих тварин функціональних змін ГГАС, викликаних пренатальним стресом, та про здатність німодипіну здійснювати протекторний ефект щодо цих змін за рахунок послаблення кальцієвої сигналізації в тих ділянках головного мозку, які залучені в регуляцію функції ГГАС.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. А. Г. Резников, В. П. Пишак, Н. Д. Носенко и др., *Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология*, Медакадемія, Черновцы (2004).
2. P. M. Plotsky, “Early postnatal experience alters hypothalamic corticotrophin-releasing factor (CRF) messenger-RNA, median-eminence CRF content and stress-induced release in adult rats,” *Mol. Brain Res.*, **18**, 195-200 (1993).
3. С. М. McCormick, J. W. Smythe, S. Sharma, and M. J. Meaney, “Sex-specific effects of prenatal stress on hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress and brain glucocorticoid receptor density in adult rats,” *Develop. Brain Res.*, **84**, 55-61 (1995).
4. M. Weinstock, “Does prenatal stress impair coping and regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis?” *Neurosci. Behav. Rev.*, **21**, 1-10 (1997).
5. L. K. Takahashi, “Prenatal stress alters brain catecholaminergic activity and potentiates stress-induced behavior in adult rats,” *Brain Res.*, **547**, 131-137 (1992).
6. П. Г. Костюк, О. П. Костюк, О. О. Лук’янець, *Іони кальцію у функції мозку – від фізіології до патології*, Наук. думка, Київ (2005).
7. M. P. Mattson, “Components of neurite outgrowth that determine neural cytoarchitecture: influence of calcium and the growth substrate,” *J. Neurosci. Res.*, **20**, 331-345 (1988).
8. M. P. Mattson, “Calcium as sculptor and destroyer of neural circuitry,” *Exp. Gerontol.*, **27**, 29-49 (1992).
9. E. C. Davis, P. Popper, R. A. Gorski, and E. C. Davis, “The role of apoptosis in sexual differentiation of the rat sexually dimorphic nucleus of the preoptic area,” *Brain Res.*, **734**, 10-18 (1996).
10. M. Rodriguez-Medina, E. Canchola, M. Vergara-Onofre, and A. Rosado, “Ca²⁺/Calmodulin system: participation on rat sexual hypothalamic differentiation,” *Pharm. Biochem. Behav.*, **46**, 697-702 (1993).
11. M. A. Rodriguez-Medina, M. Vergara, M. E. Chavarria, et al., “Changes in hypothalamic calmodulin concentration induced

- by perinatal hormone manipulation in the rat,” *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **61**, 445-450 (1998).
12. M. A. Watson, H. Taylor, and E. D. Lephart, “Androgen-dependent modulation of calbindin-D28k in hypothalamic tissue during prenatal development,” *Neurosci. Res.*, **32**, 97-101 (1998).
 13. E. D. Lephart, M. A. Watson, N. A. Jacobson, et al., “Calbindin-D28k is regulated by adrenal steroids in hypothalamic tissue during prenatal development,” *Dev. Brain Res.*, **100**, 117-121 (1997).
 14. Q. Cai, Z. L. Zhu, X. L. Fan, et al., “Effects of prenatal stress on kinetic properties of high-voltage-activated Ca²⁺ channel in freshly isolated offspring rat hippocampal CA3 pyramidal neurons,” *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, **26**, 1288-1292 (2006).
 15. Q. Cai, Z. L. Zhu, X. L. Fan, et al., “The effects of prenatal stress on Ca²⁺ channel and K⁺ channel of hippocampal CA3 pyramidal neurons in rat offspring,” *Fen Zi Xi Bao Sheng Wu Xue Bao*, **39**, 223-228 (2006).
 16. Q. Cai, Z. Zhu, H. Li, et al., “Prenatal stress on the kinetic properties of Ca²⁺ and K⁺ channels in offspring hippocampal CA3 pyramidal neurons,” *Life Sci.*, **80**, 681-689 (2007).
 17. G. J. Biessels, M. P. ter Laak, A. Kamal, and W. H. Gispen, “Effects of the Ca²⁺ antagonist nimodipin on functional deficits in the peripheral and central nervous system of streptozotocin-diabetic rats,” *Brain Res.*, **1035**, 86-93 (2005).
 18. О. Г. Резніков, “Загальні етичні принципи експериментів на тваринах”, *Ендокринологія*, **8**, 142-145 (2003).
 19. Ю. Г. Балашов, “Флюориметрический микрометод определения кортикостерона: сравнение с другими методами”, *Физиол. журн. СССР*, **76**, № 2, 280-283 (1990).
 20. J. Antunes-Rodrigues and S. M. McCann, “Chemical stimulation of water, sodium chloride and food intake by injection of cholinergic and adrenergic drugs into the third brain ventricle,” *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **133**, 1464-1470 (1970).
 21. P. Harms and S. Ojeda, “A rapid and simple procedure for chronic cannulation of the rat jugular vein,” *J. Appl. Physiol.*, **36**, 391-392 (1974).
 22. Т. Г. Анищенко, Н. Б. Игошева, “Половые различия в стресс-реактивности у бодрствующих и анестезированных крыс при хирургическом стрессе”, *Бюл. эксперим. биологии и медицины*, **113**, № 1, 26-28 (1992).
 23. J. Borycz, A. J. Bugajski, A. Gadek-Michalska, and J. Bugajski, “Calcium channel blockers impair the pituitary-adrenocortical responses to central adrenergic receptors stimulation,” *J. Physiol. Pharmacol.*, **44**, 161-170 (1993).
 24. J. D. Dietz, S. Du, C. W. Boltz, et al., “A number of marketed dihydropyridine calcium channel blockers have mineralocorticoid receptor antagonist activity,” *Hypertension*, **51**, 742-748 (2008).
 25. W. H. Gispen and F. P. Hamers, “Calcium and neuronal dysfunction in peripheral nervous system,” *Ann. New York Acad. Sci.*, **747**, 419-430 (1994).
 26. P. R. D. Bar, J. Traber, T. Schuurman, and W. H. Gispen, “CNS and PNS effects of nimodipin,” *J. Neural. Transm., Suppl.*, **31**, 55-71 (1990).
 27. G. Biessels and W. H. Gispen, “The calcium hypothesis of brain aging and neurodegenerative disorders: significance in diabetic neuropathy,” *Life Sci.*, **59**, 379-387 (1996).
 28. C. Nyakas, B. Buwalda, E. Markel, et al., “Life-spanning behavioral and adrenal dysfunction induced by prenatal hypoxia in the rat is prevented by the calcium antagonist nimodipin,” *Eur. J. Neurosci.*, **1**, 746-753 (1994).
 29. I. L. Ward and J. Weisz, “Differential effects of maternal stress on circulating levels of corticosterone, progesterone and testosterone in male and female rat fetuses and their mothers,” *Endocrinology*, **114**, 1635-1643 (1984).
 30. M. O. Zarrow, J. Philpott, and V. Denenberg, “Passage of ¹⁴C-corticosterone from the rat mother to the foetus and neonate,” *Nature*, **226**, 1058-1059 (1970).
 31. E. R. De Kloet, P. Rosenfeld, J. A. Van Eikelen, et al., “Stress, glucocorticoids and development,” *Stress*, **1**, 1-19 (1996).
 32. S. G. Matthews, “Antenatal glucocorticoids and programming of the developing CNS,” *Pediat. Res.*, **47**, 291-300 (2000).
 33. K. Fukumoto, T. Morita, T. Mayanagi, et al., “Detrimental effects of glucocorticoids on neuronal migration during brain development,” *Mol. Psychiat.*, **14**, 1119-1131 (2009).
 34. S. M. Nair, T. R. Werkman, J. Craig, et al., “Corticosteroid regulation of ion channel conductances and mRNA levels in individual hippocampal CA1 neurons,” *J. Neurosci.*, **18**, 2685-2696 (1998).
 35. А. Г. Резніков, Н. Д. Носенко, Л. В. Тарасенко, et al., “Neuroendocrine disorders in adult rats treated prenatally with hydrocortisone acetate,” *Exp. Toxicol. Pathol.*, **60**, 489-497 (2008).
 36. T. Ohkawa, W. Rohde, F. Gotz, et al., “The effect of an acute maternal stress on endorphin and growth hormone releasing factor in the rat fetus,” *Exp. Clin. Endocrinol.*, **91**, 35-42 (1988).
 37. I. S. Zagon and P. McLaughlin, “Identification of opioid peptides regulating proliferation of neurons and glia in the developing nervous system,” *Brain Res.*, **542**, 318-323 (1991).
 38. Н. Д. Носенко, “Пренатальне застосування налтрексону запобігає порушенням стресової реактивності гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної системи у щурів із синдромом пренатального стресу”, *Ендокринологія*, **13**, № 1, 146-150 (2008).
 39. П. В. Сініцин, “Превентивний ефект пренатального застосування дексаметазону і налтрексону щодо стрес-індукованих порушень норадренергічної реактивності ГГАС”, *Ендокринологія*, **12**, 263 (2007).
 40. E. T. Piro, P. L. Prather, H. H. Loh, et al., “Ca²⁺ channel and adenylyl cyclase modulation by cloned mu-opioid receptors in GH3 cells,” *Mol. Pharmacol.*, **47**, 1041-1049 (1995).
 41. M. Lorentz, B. Hedlund, and P. Arhem, “Morphine activates calcium channels in cloned mouse neuroblastoma cell lines,” *Brain Res.*, **445**, 157-159 (1988).
 42. L. Chen, S. Zou, X. Lou, and H. G. Kang, “Different stimulatory opioid effects on intracellular Ca²⁺ in SH-SY5Y cells,” *Brain Res.*, **882**, 256-265 (2000).
 43. S. Esmaelli-Mahani, M. Fereidoni, M. Javan, et al., “Nifedipine suppresses morphine-induced thermal hyperalgesia: Evidence for the role of corticosterone,” *Eur. J. Pharmacol.*, **567**, 95-101 (2007).