

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ
БЕЛОРУССКОЕ ОБЩЕСТВО ФИЗИОЛОГОВ



**ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ
ОРГАНИЗМА
В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ**

СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ

*Под общей редакцией
доктора медицинских наук, профессора В. С. Улащика
и доктора биологических наук А. Г. Чумака*

МИНСК
РИВШ
2008

УДК 612.8.04:612.015 (082)

ББК 28.707.3

Ф94

Рекомендовано :
Ученым советом Института физиологии
Национальной академии наук Беларуси
(протокол № 7 от 04.09.2008 г.)

Редакционная коллегия :

д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси (гл. ред.) *В. С. Улащик*;
д-р биол. наук, проф. (ред. разд.) *В. Н. Калюнов*;
д-р мед. наук, профессор, чл.-кор. НАН Беларуси (ред. разд.) *В. А. Кульчицкий*;
д-р биол. наук, проф. (ред. разд.) *В. Н. Никаноров*;
д-р биол. наук (ред. разд.) *А. Г. Чумак*;
д-р биол. наук, проф. *Л. И. Арчакова*;
д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси *Ф. И. Висмонт*;
д-р биол. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси *В. В. Солтанов*;
д-р мед. наук, проф. *А. И. Кубарко*;
канд. биол. наук (отв. секр.) *В. С. Левковец*;
канд. биол. наук, доц. *А. В. Сидоров*

Рецензенты :

д-р мед. наук, проф., акад. НАН Беларуси *И. П. Антонов*;
д-р мед. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси *Л. М. Лобанок*;
д-р биол. наук, проф., чл.-кор. НАН Беларуси *Е. И. Слобожанина*

Книга издана при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований

Функциональные системы организма в норме и при патологии :
Ф94 сб. науч. тр. / под ред. В. С. Улащика, А. Г. Чумака. – Минск : РИВШ,
2008. – 454 с.

ISBN 978-985-500-226-1.

Настоящее издание посвящено памяти академика Валерия Николаевича Гурина. Содержит оригинальные и важные материалы по проблемам регуляции функций, полученные физиологами и клиницистами Беларуси, России, Украины и дальнего зарубежья.

Рассчитано на широкий круг медиков и биологов, интересующихся вопросами организации и регуляции процессов жизнедеятельности.

УДК 612.8.04:612.015 (082)

ББК 28.707.3

ISBN 978-985-500-226-1

© Институт физиологии НАН Беларуси, 2008

© Оформление. ГУО «Республиканский институт
высшей школы», 2008



**Валерий Николаевич
ГУРИН
(1938 – 2007)**

ПРЕДИСЛОВИЕ

Почти полвека развитие физиологии в Беларуси связано с научной, педагогической и организационной деятельностью академика В. Н. Гурина. Уйдя из жизни накануне 70-летия, он оставил не только труды, обогатившие отечественную науку и физиологию в особенности, созданную им физиологическую школу, учеников и последователей, но и массу идей и предложений, заслуживающих дальнейшей разработки и продолжения исследований. Поэтому естественным является желание сборник научных статей, впервые выходящий без участия В.Н. Гурина, посвятить его памяти. Это, понятно, во многом определило содержательную часть издания.

Основная особенность его состоит в том, что научным статьям предшествует раздел, в котором ученики, коллеги и друзья В. Н. Гурина рассказывают о нем как видном ученом, педагоге, человеке и организаторе медико-биологической науки. Эти воспоминания дают возможность объективно и всесторонне оценить его заслуги перед наукой и обществом. Они показывают, что В. Н. Гурин был человеком необыкновенно целеустремленным, энергичным, сложным, любящим жизнь во всех ее проявлениях.

Вторая особенность настоящего сборника состоит в том, что основные научные статьи, составляющие три раздела, посвящены проблематике, над которой работал В. Н. Гурин. Среди публикаций много работ из ведущих институтов физиологии стран СНГ, что подтверждает международное признание научных заслуг В. Н. Гурина.

Основное место в издании занимает раздел «Центральные и периферические механизмы терморегуляции». И это символично, ибо именно в разработку проблемы терморегуляции Валерий Николаевич внес наибольший вклад. В нем рассмотрены такие вопросы, как значимость температурного фактора в передаче сигналов в организме, чувствительность интеро- и экстероцепторов в норме и при лихорадке, механизмы интеграции информации от температурных рецепторов в мозге, закономерности поведенческих реакций при изменении температуры. Ряд работ посвящен центральным и периферическим механизмам контроля теплопродукции и теплоотдачи в норме и при патологии, а также анализу механизмов адаптации и дезадаптации организма к температурному фактору.

Во втором разделе помещены статьи, отражающие современное понимание проблем системной регуляции функций организма.

Значительное внимание в них уделяется последним достижениям в развитии физиологии функциональных систем. В статьях академика К. В. Судакова и сотрудников Института нормальной физиологии им. П. К. Анохина (Москва) дана современная трактовка узловых вопросов теории функциональных систем. Сотрудники Института физиологии им. И. П. Павлова (Санкт-Петербург) привели новые материалы о реализации действия сигнальных молекул и афферентно-эфферентных взаимодействиях в организме. В работах коллег из Института физиологии им. А. А. Богомольца (Киев) дана характеристика вклада NO-ергических механизмов в регуляцию функций кровообращения. Функциональной роли монооксида азота и других медиаторных систем посвящены публикации физиологов и клиницистов из научных учреждений Беларуси.

В третьем разделе представлены статьи, отражающие достаточно широкий круг проблем общей физиологии, функциональной биохимии и фармакологии. Освещены новые аспекты регуляторного действия на биохимические и физиологические процессы пуриновых нуклеотидов. Отдельные работы посвящены изменениям состояния системы протеолиза при воздействиях окружающей среды и некоторых видах патологии. В ряде статей излагаются результаты исследований гормональной регуляции отдельных звеньев метаболизма и функций организма.

Если настоящее издание в какой-то мере поможет читателям расширить свои познания в сложных медико-биологических проблемах, затрагиваемых в сборнике, а молодым исследователям найти свой путь в исследовании этих проблем, то это будет лучшим памятником академику В. Н. Гурину, постоянно заботившемуся о развитии фундаментальной науки в стране.

**Профессор В. С. Улащик,
директор Института физиологии
НАН Беларуси**

Раздел первый

**АКАДЕМИК В. Н. ГУРИН
В ВОСПОМИНАНИЯХ
КОЛЛЕГ, УЧЕНИКОВ И ДРУЗЕЙ**

История науки не может ограничиться развитием идей – в равной мере она должна касаться людей, с их особенностями, талантами, зависимостью от социальных условий, страны и эпохи.

С. И. Вавилов



Редактор раздела – профессор В. С. Улащик

АКАДЕМИК В. Н. ГУРИН: ВЕХИ ЖИЗНИ И НАУЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

В. С. Улащик

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Польза, которую ученый как таковой
приносит нации, измеряется количеством
новых знаний, которыми он ее обогащает.

Д. Максвелл

Валерий Николаевич Гурин – представитель замечательной плеяды отечественных ученых, научные труды которых обогатили отечественную физиологию и медицину. Когда-то В. Г. Белинский очень точно заметил, что «зрелище жизни великого человека – всегда прекрасное зрелище: оно возвышает душу и возбуждает деятельность». Поэтому хотелось бы, чтобы люди знали о наиболее важных этапах жизни и деятельности В. Н. Гурина, чтобы не ушли безвестно его имя, его замечательные научные труды и помнили о нем как об оригинальном ученом, талантливом педагоге и организаторе медико-биологической науки в Беларуси. Раскрыть основные черты этой неординарной личности и его фундаментальных научных трудов и призвана настоящая статья. Делается это не только для того, чтобы отдать дань памяти крупному ученому. Это нужно и для истории науки, которая, как известно, складывается из истории научных поисков, побед и ошибок отдельных ученых, больших и малых, разных и сходных в своей преданности науке.

Основные вехи биографии. Валерий Николаевич Гурин родился в январе 1938 г. в Витебске в семье инженера. После окончания в 1955 г. с серебряной медалью школы поступил в Витебский медицинский институт, лечебный факультет которого закончил в 1961 г. После непродолжительной практической врачебной деятельности он в 1963 г. поступил в аспирантуру при кафедре нормальной физиологии МГМИ, возглавляемой профессором А. А. Логиновым. Учебу в аспирантуре он закончил успешной защитой в 1966 г. кандидатской диссертации на тему «Участие аскорбиновой кислоты в механизмах регуляции интероцептивных обменных гомеостатических реакций (связь с активностью гипофизарноадренкортикальной системы)». С 1966 г. по 1971 г. В. Н. Гурин работал вначале ассистентом, а затем доцентом кафедры нормальной физиологии МГМИ (ныне БГМУ). Все эти годы

преподавание он сочетал с интенсивной научной работой. В 1973 г. он был избран заведующим кафедрой нормальной физиологии и защитил докторскую диссертацию на тему «Холинэргические механизмы регуляции обмена свободных жирных кислот». В 1974 г. ему присвоено звание профессора. С этого времени он не только читает лекции и продолжает научные исследования, но и много внимания уделяет подготовке научных кадров. За короткое время работы на кафедре под его руководством защищены одна докторская и семь кандидатских диссертаций.

С 1984 г. В. Н. Гурин работает в должности директора Института физиологии НАН Беларуси. За время работы в этой должности (1984–2005) в полной мере раскрылись творческий потенциал и организаторский талант В. Н. Гурина. Он не только развил и придал новый импульс исследованиям, проводимым до него в институте, но и инициировал исследования по ряду новых направлений, востребованных временем и интересами республики. Благодаря этому Институт физиологии превратился в научный центр, который известен не только в нашей стране, но и за рубежом. Одновременно с 1991 г. он более 10 лет заведовал кафедрой физиологии человека и животных БГУ. В последние годы жизни он руководил лабораторией физиологии функциональных систем, научные исследования которой охватывают широкий спектр проблем системной регуляции функций, главным образом терморегуляции в норме и патологии.

Являясь известным ученым в области физиологии человека и животных, он был крупным организатором медико-биологической науки, неординарным педагогом, общественным деятелем, человеком активной жизненной позиции. В историю науки он войдет не только благодаря основополагающим трудам по проблемам терморегуляции и системной регуляции метаболических процессов и физиологических функций, но и как инициатор создания в 1995 г. отделения медико-биологических (впоследствии медицинских) наук НАН Беларуси и его первый академик-секретарь. Руководя отделением, академик В.Н. Гурин большое внимание уделял формированию новых научных групп и перспективных научных направлений, ориентированных на решение фундаментальных и прикладных задач, укреплению творческих связей с учреждениями Минздрава, развитию международных научных связей. В. Н. Гурину принадлежит ведущая роль в создании журнала от-

деления: Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі: серыя медыка-біялагічных навук (2003).

Весьма широк диапазон его научно-организационной и общественной деятельности. На протяжении многих лет Валерий Николаевич являлся заместителем председателя и членом Президиума Ученого медицинского совета Минздрава БССР, членом Республиканского межведомственного Совета по развитию фундаментальных исследований для медицины, председателем научного совета по физиологии, биохимии и морфологии при Отделении биологических наук АН БССР, членом Совета по координации научной деятельности в области физиологии АН СССР, научного совета АН СССР и АМН СССР по физиологии человека, центрального совета Всесоюзного физиологического общества им. И. П. Павлова, руководителем Программы отделения физиологии АН СССР «Физиологические механизмы терморегуляции», председателем Правления Белорусского физиологического общества, научным координатором Государственных программ фундаментальных исследований «Гомеостаз» и «Экология человека», председателем специализированного совета по защите докторских диссертаций по специальности «Нормальная физиология», членом редколлегии журналов «Доклады НАН Беларуси», «Физиология человека», «Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова», «Криобиология» и др. Много внимания он уделял проблемам духовного объединения славян, являясь председателем Белорусского отделения Международной славянской академии наук, образования, искусств и культуры. В. Н. Гурин много сил и энергии отдавал организации и проведению республиканских и международных симпозиумов, конференций и съездов по наиболее крупным проблемам фундаментальной и прикладной физиологии.

Заслуги В. Н. Гурина перед наукой и обществом получили достойную оценку. В 1986 г. он был избран членом-корреспондентом, а в 1994 – академиком НАН Беларуси. В 1996 г. за цикл работ «Механизмы регуляции в норме и патологии» ему присуждена Государственная премия Республики Беларусь в области науки и техники, в 1998 г. – присвоено звание «Заслуженный деятель науки Республики Беларусь». Неоднократно награждался грамотами Верховного Совета БССР, Министерства здравоохранения и Министерства образования БССР. Он избран членом ряда общественных академий и научных физиологических обществ, а также ино-

странным членом Российской АМН (2001). Награжден почетной медалью им. Н. И. Пирогова.

В. Н. Гурин был неординарной личностью и высокоодаренным человеком, живо интересовался историей, музыкой, литературой и изобразительным искусством, общался с интересными людьми. Он хорошо знал и часто цитировал А. С. Пушкина, А. П. Чехова, Ф. М. Достоевского. В свободное время увлекался охотой, сбором грибов и рыбной ловлей. Как заметил Валерий Николаевич в одном из своих интервью, «природа дала мне такие качества, как любознательность, стремление познать окружающий мир, общительность». Этому природному дару он следовал всю свою жизнь, добавляя к нему неумную энергию и огромное трудолюбие, что и поставило его в ряд выдающихся людей нашей республики.

Научная деятельность В. Н. Гурина. В исследованиях академика В. Н. Гурина можно выделить несколько направлений, обогативших отечественную физиологию и связанных с научными традициями учреждений, в которых он работал. Его творчество опиралось на системный подход – рассмотрение организма как единой целостной функциональной системы. В этом сказалось влияние академика П. К. Анохина, учеником которого считал себя В. Н. Гурин. Поэтому памятную медаль им. П. К. Анохина (2002) он считал своей главной наградой. Значительную часть своих первых научных работ, выполненных на кафедре физиологии МГМИ под руководством профессора А. А. Логинова, он посвятил проблеме взаимодействия механизмов регуляции метаболизма и контроля важнейших системных функций. Это направление, которое может быть названо функциональной биохимией, продолжало интересовать его и в дальнейшем.

В. Н. Гуриным впервые в большом и разноплановом материале была продемонстрирована тесная зависимость обмена липидов в организме и физико-химических свойств липидов мембран от условий существования и силы действия различных раздражителей. При изучении состава свободных жирных кислот плазмы крови в разных условиях установлен специфический характер мобилизации этих метаболитов при стрессах различного происхождения. Гипотезой избирательной мобилизации свободных жирных кислот автор хотел подчеркнуть, что их роль в организме выходит далеко за пределы энергетического значения. В. Н. Гуриным получен важный экспериментальный материал об участии нейромедиаторных

механизмов ЦНС в регуляции липидного обмена при воздействии на организм различных факторов, в том числе и температурного. Этими исследованиями заложены научные основы использования физических факторов для регуляции метаболизма липидов и терморегуляции. В ряде дальнейших исследований была показана важная роль в обмене липопротеидов адрено- и холинореактивных систем. На основании этих работ В. Н. Гуриным было сформулировано положение о том, что в основе нарушений функций и развития ряда патологических состояний лежит несоответствие физико-химических свойств липидов органов и тканей, в том числе и липидов мозга, температуре тела и физиологическому состоянию организма. Этими исследованиями была с новых позиций подчеркнута важность и перспективность изучения адаптивной функции липидов и их роли в развитии патологических состояний, а также обоснованы новые пути коррекции нарушений обмена липидов. Уже в этих работах у автора проявился интерес к проблемам терморегуляции, изучение которых стало смыслом дальнейшей творческой жизни В. Н. Гурина и принесло ему заслуженную славу. Прежде всего, им было показано, что регуляция обмена липидов в организме сопряжена с процессами терморегуляции. Вместе с учениками и сотрудниками (Л. И. Белорыбкина, Ю. И. Богрицевич, В. В. Царюк, И. Н. Семененя, А. И. Кубарко и др.) детально изучен обмен липидов при гипотермии, перегревании организма и лихорадке, а также основные механизмы метаболического обеспечения терморегуляции. Им было впервые экспериментально доказано, что сила температурного воздействия отражается на величине отклонений в жирнокислотном составе липопротеидов крови, особенно на содержании в них арахидоновой кислоты – предшественника многих химических регуляторов обмена веществ.

Результаты упомянутых исследований нашли отражение в многочисленных статьях и книгах В. Н. Гурина: «Обмен липидов при гипотермии, гипертермии и лихорадке», «Холинэргические механизмы регуляции обменных процессов».

Особое значение для физиологии имеют работы В. Н. Гурина, посвященные выяснению механизмов регуляции теплового баланса организма. Важнейшими достоинствами исследований по этому направлению являются: комплексный подход с использованием морфологических, биохимических, электрофизиологических, фармакологических методов и интерпретация полученных результатов

с позиций системной организации функций. Благодаря этому ему вместе с учениками удалось установить важнейшие закономерности и конкретные механизмы участия терморегуляторных центров головного и спинного мозга, вегетативной нервной системы, эндокринных желез и отдельных метаболитов в регуляции теплового баланса в норме, при охлаждении, нагревании и лихорадке. Исследование центральных нейромедиаторных механизмов терморегуляции позволило ему сформулировать концепцию интегративной роли холинэргических нейронов гипоталамуса в контроле процессов теплопродукции и теплоотдачи. Существенным вкладом в термофизиологию явилось обнаружение в гипоталамусе нейронов-термодетекторов с собственным внутринейронным механизмом термочувствительности. Установленное им стимулирующее действие простагландинов на механизмы теплопродукции и консервации тепла явилось важным новым фактором регуляции в центрах.

В. Н. Гурин внес заметный вклад в выяснение роли симпатической нервной системы в терморегуляции. При этом он неизменно подчеркивал, что система терморегуляции тесно сопряжена с другими функциональными системами организма и в этом сопряжении участвует симпатическая нервная система. В результате многочисленных исследований он приходит к заключению, что влияние симпатической нервной системы распространяется как на эфферентные, так и на афферентные звенья системы терморегуляции. Им показано, что симпатическая нервная система играет особую роль в изменениях метаболизма и гемодинамики при действии на организм тепла, холода и пирогенов. Практическое значение имеют установленные различия и их механизмы в формировании реакций организма на охлаждение, перегревание и введение пирогенов. Все эти материалы детально рассмотрены в его монографиях «Терморегуляция и симпатическая нервная система» и «Центральные механизмы терморегуляции». В ней не только излагаются результаты собственных исследований и анализируются данные других авторов (список включает более 390 источников), но и намечаются пути дальнейших исследований по проблеме и возможные направления практического использования уже полученных результатов.

Огромное значение имеют исследования В. Н. Гурина лихорадки и механизмов лихорадочной реакции. Ему принадлежит важное утверждение о том, что лихорадочная реакция существенно

отличается от гипертермии, вызываемой действием на организм высокой температуры, и представляет собой специфическое изменение терморегуляции. Это изменение является важнейшим компонентом сопряженных защитных реакций организма, которые стереотипно развиваются в ответ на инвазию патогена или поступление чужеродного вещества. С повышением температуры одновременно происходит усиление иммунного ответа, что также, по мнению В. Н. Гурина, указывает на защитно-приспособительный характер лихорадки. Им выдвинуты и в дальнейшем подтверждены представления о том, что медиатором лихорадки является интерлейкин-1, продуцируемый фагоцитами при действии на них пирогенов. Большое внимание в исследованиях лихорадки уделялось изучению роли нейропептидов и пептидогидролаз, а также взаимодействию их с нейромедиаторными системами. В. Н. Гуриным с сотрудниками был открыт гипертермический эффект ингибиторов протеиназ, что позволило разработать ряд новых экспериментальных моделей гипертермии. Практическое значение этих работ состояло в том, что они способствовали нахождению новых средств и методов повышения температурной устойчивости организма и коррекции лихорадочных состояний. Широкое признание получил разработанный им с сотрудниками новый принцип ослабления лихорадки посредством мобилизации резервных механизмов антипиретической системы мозга.

В монографии, посвященной этим вопросам («Механизмы лихорадки»), большая роль отводится механизмам антипиретической системы организма. Раскрыто участие в этих механизмах АКГГ, альфа-меланинстимулирующего гормона, аргинин-вазопресина, ангиотензина-II, альфа-адренорецепторов и холинорецепторов гипоталамуса и др. Результаты этих исследований дали возможность обосновать новый принцип ослабления лихорадки, в основе которого лежит использование регулирующих возможностей центров терморегуляции посредством мобилизации резервных механизмов антипиретической системы мозга, способных активизировать процессы теплоотдачи. С этой целью, по справедливому мнению академика В. Н. Гурина, можно использовать не только фармакологические средства, но и физические методы (акупунктура, лекарственный электрофорез и др.).

Одним из важнейших результатов обобщения большого экспериментального материала, полученного в руководимой В. Н. Гу-

риным лаборатории, является разработка концепции деятельности терморегулирующих центров (модель нейронных сетей), в основу которой положен принцип растормаживания нейронов, обладающих тонической активностью и определяющих в обычных условиях баланс активности терморегуляторных эффекторов на периферии. Не без основания В. Н. Гурин считал растормаживание важным принципом работы нервных центров.

Для медицины особый интерес представляет инициированное В. Н. Гуриным изучение субфебрильных состояний организма. Предложены модели создания субфебрилитета центрального и периферического происхождения. Установлено, что субфебрилитет периферического происхождения развивается после начальной лихорадочной фазы и его возникновение зависит от температуры окружающей среды. По важнейшим изменениям в системе терморегуляции тканей субфебрилитет отличается от типичной лихорадки на введение липополисахаридов экспериментальным животным. Субфебрилитет центрального происхождения, согласно полученным данным, развивается без начальной лихорадочной фазы.

Эти интересные и важные исследования продолжили ученики Валерия Николаевича (например, монография И. Н. Семенови «Проблема субфебрилитета: фундаментальные аспекты»). В результате этих работ предложено выделить субфебрилитет как самостоятельную форму нарушения терморегуляции, отличающуюся по ключевым критериям от лихорадки. Исследования по проблеме субфебрилитета, но уже в клинике, продолжаются в Институте физиологии и сегодня.

Одним из новых направлений в научных исследованиях В. Н. Гурина явилось изучение роли биологически активных веществ в регуляторных процессах и терморегуляции, в частности. Так им с сотрудниками впервые начато изучение роли монооксида азота в центральных механизмах регуляции температуры тела. Установлена зависимость процессов теплообмена при действии на организм низких и высоких температур, пирогенов от NO-ергических механизмов мозга. Предложена концепция участия в работе функциональной системы терморегуляции центральных NO-зависимых механизмов и процессов, включающихся в работу антипиретической системы. Высказано предположение, что влияние АТФ на температуру тела может быть связано с усиле-

нием синтеза NO в нейронах, содержащих как синтазу NO, так и P2x-рецепторы. Эти исследования В. Н. Гурина стимулировали выполнение сотрудниками института исследований по сигнальной функции монооксида азота и пуринов. Свидетельством вклада В. Н. Гурина в разработку этой проблемы явилось проведение в Минске в 2003 г. сателитного международного симпозиума «Пурины и монооксид азота (регуляторная функция в организме)». Эти исследования получили международное признание и продолжают развиваться учениками Валерия Николаевича.

В. Н. Гуриным и его учениками в значительной степени уточнена роль биологически активных веществ (БАВ) крови в терморегуляции. Показано, например, что охлаждение сопровождается повышением уровня многих БАВ в крови, прежде всего кортикостерона, норадреналина, дофамина и адреналина. Проявлению действия тепла, как правило, также сопутствуют сдвиги содержания БАВ в крови. Они характеризуются снижением уровня «аварийных» гормонов в крови. При экспериментальной лихорадке отмечается повышение уровня катехоламинов и гормонов коры надпочечников. Содержание цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО) в крови при лихорадке многократно повышается, и в этом проявляется сходство реакции на пирогенны с реакцией на действие высоких внешних температур. На основании этих исследований В. Н. Гурин высказал интересную мысль о том, что от резервов системы БАВ зависит в значительной степени диапазон допустимых температур, за пределами которого нарушения интегральных связей начинают проявляться развитием дискоординации жизненно важных функций, а затем и возникновением необратимых изменений в органах и тканях. Не менее важен вывод автора о том, что изменение гемодинамики и другие изменения активности эффекторных процессов теплообмена во многом обеспечиваются дифференцированной реакцией системы БАВ крови и соответствующих центров. Все эти вопросы нашли отражение в монографии В. Н. Гурина и А. В. Гурина «Терморегуляция и биологически активные вещества крови». Это направление исследований остается актуальным и сегодня и сулит получение важных сведений о системном действии и регуляторных функциях биологически активных веществ.

По известной классификации ученых, предложенной лауреатом Нобелевской премии В. Оствальдом, Валерий Николаевич со-

вместил в себе достоинства романтиков и классиков: у него было успешное начало научной карьеры и столь ее плодотворное продолжение.

Значение того или иного ученого в науке можно оценивать по-разному: по количеству опубликованных работ, по числу трудов, в которых цитируется ученый, и, наконец, по числу учеников, усвоивших и продолжающих разработку основных идей учителя, его методологию и стиль работы. Все эти критерии можно использовать и для оценки научных достижений В. Н. Гурина.

Научное наследие В. Н. Гурина огромно: им опубликовано в серьезных научных изданиях более 400 работ, издано шесть монографий и ряд минитематических сборников. Любовь к науке и стремление к научному творчеству позволили В. Н. Гурину воспитать плеяду талантливых учеников и последователей, создать научную школу по термифизиологии. Под его руководством защищено девять докторских и тридцать кандидатских диссертаций по физиологии и медицине. Пока прошло слишком мало времени, чтобы говорить о сплоченности и идейной силе научной школы, созданной В. Н. Гуриным, но едва ли кто будет отрицать факт ее существования.

Таким образом, В. Н. Гурин своим талантом, трудолюбием и творчеством внес существенный вклад в развитие горячо любимой им физиологии, открыл или содействовал открытию новых научных направлений в биологии и медицине. Труды В. Н. Гурина вызывают сегодня и будут еще долго вызывать глубочайший интерес у специалистов.

В. Н. Гурин скоропостижно умер 1 сентября 2007 г. Похоронен на Московском кладбище Минска. Крупный ученый, видный организатор науки и общественный деятель, замечательный педагог и просто человек, сверкающий различными гранями своего таланта – таким навсегда войдет в историю отечественной физиологии имя Валерия Николаевича Гурина. Его выдающиеся научные труды и творческие достижения всегда будут гордостью не только физиологов, но и всей отечественной науки.

Думается, и к академику В. Н. Гурину можно отнести крылатые слова крупнейшего русского историка С. М. Соловьева: «Народы любят ставить памятники своим великим людям, но дела великого человека суть памятник, поставленный им своему народу».

Публикации о В. Н. Гурине

1. Гурын Валерый Мікалаевіч // Беларуская энцыклапедыя. – Мінск, 1997. – Т. 5. – С. 539.
2. Левин, Р. Нетореные тропы академика Гурина // Мед. вестник. – 10 апр. 1997.
3. Гурын Валерый Николаевич // Библиография ученых Беларуси. – Минск, 1998.
4. Валерий Николаевич Гурин (к 60-летию со дня рождения) // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 1998. – № 1. – С. 132–136.
5. Гурын Валерый Николаевич // Кто есть Кто в Республике Беларусь. – Минск, 2001. – Т. 2. – С. 187–188.
6. Валерий Николаевич Гурин (к 65-летию со дня рождения) // Весці НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук. 2003. № 1. С. 122–124.
7. Гурын Валерый Николаевич // НАН Беларуси: персональный состав. – Минск, 2003. – С. 55–56.
8. Гурын Валерый Николаевич // Республика Беларусь. Энциклопедия. – Минск, 2006. – Т. 3. – С. 282.
9. Габасова, Л. Погоня за временем // Советская Белоруссия. – 27 марта 2007.

О ВАЛЕРИИ НИКОЛАЕВИЧЕ ГУРИНЕ – ПЕДАГОГЕ И НАУЧНОМ РУКОВОДИТЕЛЕ

*Л. И. Белорыбкина, Н. А. Башаркевич, А. И. Кубарко,
А. А. Семенович, А. Н. Харламова*

Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь

Психология человеческих отношений такова, что мы особенно пристально обращаем внимание и запоминаем характерные черты человека, с которым проработали вместе многие годы, прежде всего, по первым впечатлениям. Затем в обычной повседневности наше восприятие ослабевает и обостряется вновь, когда этот человек уходит из коллектива. Это в определенной мере относится к нашей памяти о коллеге, руководителе и учителе Валерии Николаевиче Гурине. Но только в определенной мере, так как для нас он был и остается человеком необыкновенным в силу ряда его замечательных качеств, а не только потому, что он обладал невероятно большим количеством реально заслуженных высоких наград, титулов и званий [1].

В аспирантуру при кафедре нормальной физиологии МГМИ он поступил в 1963 г. Это был полный сил, энергичный молодой человек, сразу расположивший к себе сотрудников кафедры своей пытливостью, трудолюбием, научной устремленностью. Эти качества позволили ему быстро выполнить диссертационное ис-

следование и защитить кандидатскую диссертацию по теме «Участие аскорбиновой кислоты в механизмах регуляции интероцептивных обменных гомеостатических реакций (связь с активностью гипофизарно-адренкортикальной системы)», руководитель – профессор А. А. Логинов. Получив тему исследования, Валерий Николаевич немедленно приступил к работе, начиная, можно сказать, с нуля.

Дело в том, что в связи с недавним приходом на кафедру нового заведующего, профессора А. А. Логинова, поменялась тематика научных исследований, и сотрудники были вынуждены перейти от привычных физиологических методов исследования к освоению биохимических методов. Много общих усилий было затрачено на поиски необходимых реактивов, химической посуды, приборов, которые зачастую невозможно было закупить и приходилось «выпрашивать» на других кафедрах, в других институтах, у знакомых. Однако Валерий Николаевич справился с этими трудностями.

В последующие годы Валерий Николаевич работал на кафедре в должности ассистента (1966–1971), доцента (1971–1973), заведующего кафедрой (1973–1984).

Широта и глубина научного мышления Валерия Николаевича, его высокая коммуникабельность были факторами, которые вскоре позволили этому молодому ученому получить известность за пределами Белоруссии, приобрести коллег и установить дружеские отношения со многими учеными Москвы, Ленинграда, Киева, Новосибирска и других научных центров Советского Союза. Одним из результатов научных контактов был выбор им темы докторской диссертации «Холинергические механизмы регуляции обмена свободных жирных кислот», которую он начал активно выполнять при консультативной помощи известных в стране и за рубежом ученых: физиолога – академика П. К. Анохина и фармаколога – профессора П. П. Денисенко. Благодаря высокой работоспособности Валерия Николаевича он за сравнительно короткий период – семь лет, получил новые научные данные о холинергических механизмах регуляции обмена свободных жирных кислот, позволившие ему в 1973 г. (в 35 лет) защитить докторскую диссертацию, а его первому ученику Ю. И. Богрицевичу – кандидатскую диссертацию. В 1974 г. он был утвержден в ученом звании профессора.

Вскоре Валерий Николаевич формулирует перед коллективом кафедры новое для белорусской физиологии и, как показало время,

весьма плодотворное научное направление – исследование физиологических механизмов регуляции обмена липидов и терморегуляции. Надо было обладать уникальной широтой научного мышления, чтобы уловить связь между такими, казавшимися в то время, разными процессами в организме. С необычайным энтузиазмом он взялся за исследование этой проблемы сам и постепенно вовлек в нее студентов, сотрудников кафедры, для многих из которых эти исследования стали темами их диссертационных работ.

Именно начиная с этого времени, раскрывается высокий научный, педагогический и человеческий потенциал Валерия Николаевича. Справедливости ради надо отметить, что этому способствовали время и обстоятельства, складывавшиеся в 60–70-х гг. в стране, медицинском институте и на кафедре нормальной физиологии в частности. Это было время определенного всплеска интереса к научным исследованиям со стороны молодых людей, время, когда ученый человек был весьма уважаемым и занимал высокое положение в обществе, когда прослеживалась очевидная тенденция к поиску новых путей совершенствования и улучшения высшего образования.

В институте и на кафедре шла смена поколений преподавателей. Освободились места заведующего, ряда преподавателей кафедры нормальной физиологии и 35-летний доктор наук В. Н. Гурин становится ее заведующим. Увеличивается набор студентов, а вместе с ним штат кафедры. Валерий Николаевич приглашает на работу и в аспирантуру целую группу талантливых молодых людей. Здесь тоже раскрылась важная человеческая особенность Валерия Николаевича – видеть в молодых людях их неординарные способности, поверить в них. Таким образом, Валерий Николаевич создал самый работоспособный творческий коллектив сотрудников и обеспечил наивысшие достижения кафедры за все годы ее существования. За годы заведования кафедрой он подготовил семь кандидатов и двух докторов наук.

Валерий Николаевич любил своих учеников, бескорыстно отдавал свои знания, время, силы, вкладывал душу в каждого из них, помогал в житейских вопросах, способствовал их росту. Молодые люди тянулись к нему по разным причинам, среди которых были и его собственная преданность науке, доброе отношение к каждому сотруднику, умение объединять их собственными примерами из повседневной жизни.

Вот воспоминания одной из его учениц.

«Валерий Николаевич был очень хорошим научным руководителем, он помогал своим ученикам пройти весь путь от утверждения темы диссертационной работы до конечной цели – защиты. Сам прирожденный экспериментатор, Валерий Николаевич заражал своим примером – хотелось безусловно повторить его действия: целенаправленно, организованно, скрупулезно, артистично. Его интерес к научной проблеме всегда отличался искренностью и открытостью: всем, что узнавал сам, щедро делился с учениками и коллегами, заинтересованно относился к экспериментальным данным, полученным его учениками. Утром на следующий день после окончания предыдущего эксперимента Валерий Николаевич появлялся на пороге лаборатории, подробно обсуждал ход эксперимента, мотивировал на скорейшую обработку полученных результатов. Выполняя исследования по изучению обмена липопротеидов крови при перегревании животных, приходилось засиживаться на работе до позднего вечера (и даже ночи), но уже на следующий день хотелось продолжать исследование, чтобы побыстрее проанализировать полученные результаты. И тут помощь Валерия Николаевича трудно переоценить. Его эрудиция и доброжелательное отношение помогали быстрее решать поставленные задачи. Один из этапов научной работы – написание статьи. Как же трудно на первом этапе правильно представить полученные данные, обобщить их, проанализировать, выразить свои мысли. Валерий Николаевич всегда быстро приходил на помощь, его мелкий почерк поверх собственных часто неумелых строк решал все проблемы. Сомнения уходили, появлялась стройная концепция полученных данных, хотелось работать дальше. Пример Валерия Николаевича, его замечательные качества – организованность, целеустремленность, трудолюбие, высокая активность помогали работать не уставая, несмотря на параллельную педагогическую нагрузку. Даже летние эксперименты во время отпуска не казались наказанием. С особой благодарностью вспоминаются дружеские пикники, организованные Валерием Николаевичем: с ухой, футболом, непринужденным общением. Настоящим бесценным подарком были традиционные поздравления с Новым годом под бой курантов по телефону».

Проведенные под руководством В. Н. Гурина исследования проблемы нейрогуморальных механизмов регуляции обменных реакций и терморегуляции, продемонстрировали их важное теоре-

тическое и прикладное значение в современной физиологии и медицине. Практический аспект этой проблемы оказался связанным с решением вопросов сохранения работоспособности и поддержания гомеостаза в условиях действия холода или высокой внешней температуры, проблем лихорадки и гипотермии, проблемы фармакологической регуляции температуры тела.

В.Н. Гуриным и сотрудниками были разработаны новые принципы создания экспериментальных моделей гипертермии, а также новый принцип ослабления лихорадки посредством мобилизации резервных механизмов антипиретической системы мозга.

Следует отметить, что Валерий Николаевич с самых первых своих исследований отличался тщательной подготовкой к опытам на животных, особой требовательностью к чистоте эксперимента и воспроизводимости результатов. Вспоминается, какой неподдельный восторг и удовольствие он испытывал при точном введении в третий желудочек мозга крысы того или иного вещества. Такой же точности и скрупулезности в работе он требовал от своих учеников, сотрудников. Работал много, с увлечением, совершенно забывая о времени, с таким же энтузиазмом работал и коллектив кафедры. К примеру, каждый опыт проводился одновременно не менее чем на 40 крысах, и в течение недели таких опытов было несколько.

После ухода В. Н. Гурина с кафедры разработка проблемы терморегуляции продолжилась в руководимом им Институте физиологии АН Республики Беларусь.

Валерий Николаевич внес большие преобразования и в учебный процесс, прежде всего – это ориентация учебного процесса на изучение функций организма с позиций учения П. К. Анохина о функциональных системах. На основе использования системного подхода изменилась методология преподавания физиологии. Системный принцип изложения материала на лекциях и практических занятиях, схемы функциональных систем значительно облегчали восприятие материала студентами, понимание сложной структуры организации и саморегуляции той или иной функции и организма, способствовали развитию профессионального, логического мышления. Благодаря Валерию Николаевичу были установлены широкие контакты с родственными кафедрами и НИИ СССР и ряда зарубежных стран.

Под руководством В. Н. Гурина на кафедре были подготовлены и изданы для студентов «Методические указания и схемы прото-

колов опытов практических занятий по нормальной физиологии», получившие высокую оценку во многих вузах страны. Это учебное пособие облегчало студентам подготовку к занятиям, сэкономило их время, способствовало интенсификации и оптимизации учебного процесса. Одновременно по инициативе Валерия Николаевича с целью унификации преподавания предмета были разработаны и изданы «Методические указания для преподавателей». В эти годы в учебный процесс широко внедряются технические средства обучения, учебные фильмы, программированный контроль знаний студентов, оживляется работа студенческого научного кружка.

В период его заведования кафедрой было проведено интенсивное пополнение ее оборудованием не только для биохимических, но и физиологических, в том числе электрофизиологических, исследований. Электрофизиологические методы все больше стали вводиться в студенческий практикум. В 70-е гг. развертывалась иницилируемая Министерством высшего образования кампания по введению технических средств обучения. Валерий Николаевич всегда чутко реагировал на новые веяния. В частности, несмотря на отсутствие компьютеров, на кафедре была сделана попытка введения программированного контроля знаний студентов и автоматической проверки правильности их ответов на вопросы с помощью блоков простейших электрических переключателей.

При активном участии Валерия Николаевича своеобразную трансформацию получила работа научного студенческого кружка кафедры. Вместо многолюдных, многочасовых заседаний кружка, происходящих под руководством профессора А. А. Логинова, стала проводиться своеобразная «работа по секциям», когда студенты были больше заняты работой с научными руководителями. В это время кафедра привлекала много активных студентов, которые впоследствии стали крупными учеными и функционерами в самых разных областях здравоохранения. Активно готовились научные работы студентов на смотры и конкурсы. В пылу соцсоревнования каждая кафедра пыталась выйти вперед по показателям научной работы студентов. Этот соревновательный настрой достиг апогея перед перестройкой. Он не миновал и кафедры нормальной физиологии и проявился в том, что Валерий Николаевич призвал преподавателей готовить по две студенческие работы на смотр от каждого.

Валерий Николаевич много сделал для совершенствования работы Республиканского общества физиологов. Его собственные

доклады и доклады его учеников на заседаниях общества и его съездах были не только интересны и содержательны, но и являлись своеобразной школой передового опыта и повышения квалификации для участников.

В зрелые годы Валерий Николаевич отличался большим педагогическим талантом. Он тщательно готовился к практическим занятиям и лекциям, каждый раз просматривая последние литературные источники. Он интересно вел практические занятия, умел привить студентам любовь к предмету и сам любил студентов. Студентам не только нравились его занятия и лекции, но им даже нравилось сдавать ему экзамены. На экзамене по нормальной физиологии, который проводил Валерий Николаевич, была удивительно доброжелательная атмосфера. Все мы учились у него тактичному, интеллигентному общению с коллегами и студентами. Подтверждением глубокого уважения студентов к Валерию Николаевичу является то, что его приглашали на юбилейные встречи и тепло вспоминали о нем на таких встречах выпускники медицинского института.

Необходимые качества педагога, лектора, как известно, развиваются постепенно, на протяжении лет. В связи с этим с улыбкой вспоминается первая лекция Валерия Николаевича, которую он читал студентам 2 курса, будучи аспирантом. Лекция была вполне содержательна, но читал ее Валерий Николаевич настолько быстро, что записать было невозможно. На замечания присутствовавшего на лекции профессора А. А. Логинова Валерий Николаевич громко и в какой-то степени возмущенно отвечал, что иначе не успеет все прочитать. В последующие годы он стал замечательным лектором.

Валерий Николаевич был семейным человеком в полном смысле этого слова, трогательно заботился о своих родителях, сестрах. Бывая гостями в его семье, мы видели его преданное отношение к жене Елене Владимировне, трепетное отношение к сыновьям Андрею и Александру. Дети Валерия Николаевича часто бывали на кафедре, а Андрей, будучи студентом медицинского института, был активным кружковцем. Оба его сына в последующем увлеклись наукой и стали докторами наук. С большой гордостью Валерий Николаевич рассказывал о своем отце, Николае Семеновиче, который воевал в Великую Отечественную войну, был танкистом, где, к сожалению, в значительной мере подорвал свое здоровье и рано умер. Рассказывал о том, как в годы войны он (хотя был еще

малышом), его сестра и мать были угнаны в Германию и как мужественно вела себя его мать в то страшное время.

В 1984 г. Валерий Николаевич назначается директором НИИ физиологии АН БССР и в течение года совмещает эту работу с заведованием кафедрой нормальной физиологии Минского медицинского института. В 1985 г. Валерий Николаевич полностью оставляет работу на кафедре.

С его уходом мы еще раз увидели этого человека по оставленным им в коллективе кафедры идеям, начинаниям, заделам. Осталась в памяти демократичность Валерия Николаевича как руководителя кафедры. С ним можно было спорить, делать замечания по тем или иным рабочим вопросам, и если он бурно реагировал на это, но был не прав, то обиду таил недолго и соглашался с оппонентом.

Годы подтвердили несомненную ценность внедрения им в преподавание физиологии системного подхода в изложении механизмов организации и регуляции физиологических функций, подтвердилась плодотворность заложенного им научного направления исследований, остались и были развиты многие его начинания в организации учебного процесса. Сотрудники кафедры сохранили с ним дружеские отношения, продолжили совместные научные исследования, некоторые перешли на работу в НИИ физиологии НАН Беларуси.

В последние годы жизни произошло новое сближение Валерия Николаевича с кафедрой. Он часто приезжал на кафедру, вникал в ее дела, оказывал помощь. Он глубоко переживал разобщение физиологической науки, имевшее место после распада СССР и, в особенности, снижение тяги к науке молодых людей, общий спад научных исследований. Мы видели его состояние и вместе с ним переживали события, происходившие в годы, когда решался вопрос об освобождении его от должности директора института. Кажется, что он так и не смирился с отходом от большой науки и это могло стать одной из причин его раннего ухода из жизни, которую он любил и не мыслил ее без активного занятия наукой.

Валерий Николаевич – автор более 500 печатных работ, в том числе восьми монографий. Под его руководством защищено восемь докторских и тридцать кандидатских диссертаций. Он был активным общественным деятелем, членом различных комитетов, редактором и членом редколлегии ряда журналов [2].

Заслуги Валерия Николаевича перед наукой и обществом высоко оценены многими наградами, высокими званиями, государственной премией. Однако среди них Валерий Николаевич с гордостью выделял памятную Анохинскую медаль за вклад в развитие теории функциональных систем.

За годы совместной работы на кафедре мы прожили, во многом благодаря Валерию Николаевичу, замечательный период своей жизни. И сегодня, мы – его ученики, коллеги и последователи, остаемся искренне благодарными ему за эти годы совместной работы, уроки научного поиска и пережитые мгновения радости маленьких находок и открытий в науке, педагогике и жизни.

Литература

1. Кубарко, А. И. Очерки истории кафедры нормальной физиологии Белорусского государственного медицинского университета / А. И. Кубарко, Л. И. Белорыбкина, А. А. Семенович. – Минск, 2002.

2. Улащик, В. С. // Здоровоохранение. – 2008. – № 1. – С. 59–62.

ПАМЯТИ АКАДЕМИКА В. Н. ГУРИНА

В. А. Матюхин

Российский научный Центр восстановительной медицины
и курортологии, Москва, Россия

Всем известно, что друзья познаются в беде. Это особенно чувствуешь в критических ситуациях. Когда мне довелось лежать несколько раз в реанимации больницы Президента Республики Беларусь и видеть за многие дни пребывания под капельницей и кислородной маской как нелегка судьба тех, кто попадает в замкнутый круг беды и страданий кардиологических болезней, пришлось многое передумать и вспомнить...

Одним из моих спасителей в это трудное время (кроме членов моей семьи и круглосуточной помощи и внимания толковых и умных кардиологов больницы) был дорогой мне Валерий Николаевич Гуринов, светлая ему память. Почти каждое утро (до работы) он приходил к моей постели и приносил все то, что необходимо в той сложной ситуации: приготовленные его супругой Еленой Владимировной особенные клюквенные соки и отвары, фрукты и многое другое, что способствовало улучшению моего состояния и настроения. Особенно помогали его словесные мудрые советы –

что, да как лучше делать, что и когда нужно принимать и какой режим наиболее желателен в той или другой ситуации. При этом он ссылаясь на свой личный горький опыт по своим сердечным болезням, который он «приобрел» в клиниках зарубежья и Москвы, и давал прямо-таки необходимые по жизненным показаниям советы... Спасибо ему.

Прекрасный человек, мыслящий глубоко ученый, Валерий Николаевич великолепно знал историю становления и развития славянства, неоднократно по памяти цитировал Карамзина и других историков и философов, знал многие важные и оригинальные архивные материалы по истории России и Беларуси и находил в этом особенное удовольствие, подчеркивая роль этих знаний в формировании самосознания и чувства любви к Отечеству.

Физиологи мирового сообщества очень ценили и ценят его фундаментальные и важные труды по широкой проблематике, имя которой – Температура и Жизнь. Самые сокровенные тайны и механизмы терморегуляции, этого фундаментального направления современной физиологии, были постоянно в центре его внимания.

Глубокое понимание современных тенденций физиологической науки, международные контакты и постоянные общения с ведущими мировыми учеными и коллективами (Валерий Николаевич был членом Королевского Физиологического общества Великобритании, Почетным Членом Российской АМН), личные контакты с корифеями научных школ России, Украины и других стран давали ему возможность широко и полноценно представлять научные достижения мировой и отечественной науки и ее научных школ на высоком уровне. Особенно он ценил российско-белорусские научные связи и совместные научные исследования по планам Международного Научного Творческого коллектива, созданного по решению Президиума НАНБ и Президиума РАМН.

Вспоминается нелегкая, напряженная работа Валерия Николаевича и его ближайших коллег по созданию медико-биологического отделения (ныне медицинского отделения НАНБ). Следует высоко оценить большую помощь и содействия по этому вопросу тогдашнего Президента НАНБ академика Л. М. Суцени – вдумчивого организатора науки, настоящего ученого и хорошего человека. По научным контактам мы с ним знакомы с 1967 г., когда он выступал с докладом по экологии животных в Новосибирском Академгородке на первой Всесоюзной конференции по этой тематике, который

организовал Институт физиологии СоАН, где мне в то время довелось быть заместителем директора по науке и руководителем Отдела экологической физиологии. Годы, когда Валерий Николаевич был академиком-секретарем и Председателем Белорусского общества физиологов можно с уверенностью оценить как годы активного становления и внедрения научных медико-биологических и эколого-физиологических достижений в жизнь.

Вспоминается мне такой случай. В 1993 г. сложилась сложная ситуация: за мою принципиальную позицию в вопросах оценки влияния радиационных воздействий на население после Чернобыльских событий я был освобожден от должности директора Института радиационной медицины Беларуси. Этот институт я создавал с нуля и в самые трудные годы в течение 5 лет пытался посылно сделать все, что возможно, чтобы правильно проводить научно-практические мероприятия по минимизации последствий катастрофы. Когда я остался без работы, «спасательный круг» мне предложила НАН Беларуси, в лице ее президента – академика Л. М. Суцени и Институт физиологии Национальной академии наук, директором которого был академик В. Н. Гурин. По решению Президиума НАНБ была создана академическая группа по эколого-физиологическим проблемам при Институте физиологии, которая за 15 лет осуществила многие договорные работы и выполнила ряд фундаментальных работ и монографий по экологической физиологии человека и восстановительной медицине, по экологической физиологии и радиационным воздействиям на организмы, по созданию систем жизнеобеспечения (СЖО) после крупных радиационных аварий. Эти комплексные работы проводились по совместным российско-белорусским научным разработкам (основные из них представлены в списке трудов этого сборника), и успеху этих исследований всегда способствовал Валерий Николаевич.

Замечательный семьянин, отец, дед – он высоко ценил роль семьи, дружбы, взаимопомощи и сопереживания при трудных житейских ситуациях. Он и его верная половина – Елена Владимировна дали жизнь талантливым детям – Александру и Андрею, которые уже сегодня являются серьезными учеными и вдумчивыми исследователями, которые приняли от него научную эстафету и, надеюсь, осуществят его задумки и научные напутствия. К ним может присоединиться в свое время и внук Николка.

Валерий Николаевич был заядлым автомобилистом, охотником, любил рыбалку, дальние прогулки в лесу, дружеские посиделки у

костра, задушевную беседу и хорошую шутку. Когда было совсем невмочь по служебным делам и особенно после кляузных несправедливых доносов и нетактичных выступлений и поступков со стороны отдельных лиц, он, скрывая сердечную боль, отшучивался и нередко цитировал какого-то киношного персонажа: «Трудно стало жить на селе без нагана». Этим он выражал крайнюю озлобленность создавшейся ситуацией и как бы подчеркивал необходимость активного противодействия неприятностям и царящему нередко беззаконию в наши непростые дни.

Молчит телефон, нет факсов, нет писем, не слышу знакомого голоса моего незабвенного друга и товарища Валерия Николаевича Гурина. Спасибо тебе, дорогой коллега, за все. Выражаю уверенность, что твои сотрудники продолжают твои славные дела... Низкий поклон тебе и твоим близким. Будем всегда помнить... Ты всегда с нами...

ВАЛЕРИЙ НИКОЛАЕВИЧ ГУРИН – ИНИЦИАТОР СОЗДАНИЯ ОТДЕЛЕНИЯ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК НАН БЕЛАРУСИ

А. Г. Мойсеенок

Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси,
Гродно, Беларусь

Исторически правильно назвать Валерия Николаевича создателем, как принято говорить сейчас, фундаментально ориентированного академического направления по проблемам медицины, оформленного организационно в перспективе в соответствующее Отделение постановлением Президиума АН Белорусской ССР от 26 декабря 1991 г. Эту нелегкую работу в условиях нарастающего кризиса общества, науки и государственного устройства член-корреспондент АН БССР В. Н. Гурин начал значительно раньше, опираясь на поддержку крупных ученых и единомышленников, академиков И. П. Антонова, Д. М. Голуба, Е. Ф. Конопля, Н. Е. Савченко; членов-корреспондентов Ф. В. Олешкевича, А. В. Руцкого, Г. И. Сидоренко, В. С. Улащика. Новый импульс идея создания центра медицинской науки в системе Академии наук суверенной Республики Беларусь получила в связи с вхождением в состав отделения членов АМН СССР, работающих в Беларуси, а также в

связи с избранием В. Н. Гурина 25 февраля 1994 г. академиком АН Беларуси. Постановлением Президиума Академии наук Беларуси № 126 от 20 ноября 1994 г. академик В. Н. Гури́н назначен академиком-секретарем – организатором Отделения проблем медицины АН Беларуси. В результате многочисленных и немалых дискуссий идеологическая направленность деятельности Отделения претерпела изменения и окончательно была согласована с руководством АН Беларуси и Минздравом РБ только к началу 1995 г.

В феврале 1995 г. в соответствии с постановлением Президиума АН Беларуси № 16 от 28 февраля 1995 г. с согласия вышеупомянутых членов Академии было создано Отделение медико-биологических наук АН Беларуси в составе переведенных из Отделения биологических наук членов АН Беларуси и трех академических институтов (физиологии, биохимии и радиобиологии). Отделению медико-биологических наук АН Беларуси были определены приоритетные направления научных исследований:

- раскрытие механизмов саморегуляции физиологических функций и разработка теоретических основ управления компенсаторно-восстановительными процессами;

- выяснение особенностей действия факторов современных экосистем и образа жизни на физиологический статус и здоровье человека;

- разработка медико-биологических проблем, связанных с последствиями аварии на ЧАЭС.

Постановлением Президиума АН Беларуси № 47 от 20 апреля 1995 г. утверждены заместители академика-секретаря (Е. Ф. Конопля, Г. И. Сидоренко) и члены бюро Отделения медико-биологических наук (И. П. Антонов, Д. М. Голуб, Н. Е. Савченко, Ф. В. Олешкевич, А. В. Руцкий, В. С. Улащик, Ф. С. Ларин, Л. М. Лобанок).

В 1995–1996 г.г. Отделение интенсивно развивалось, в его деятельность активно включились члены Российской АМН, работающие в Беларуси, а также вновь избранные члены АН Беларуси: академики В. И. Вотяков, В. А. Матюхин, Г. И. Сидоренко, Е. П. Демидчик, Ф. В. Олешкевич, члены-корреспонденты Г. И. Лазюк, А. Н. Михайлов, О.-Я. Л. Бекиш, В. В. Солтанов, Л. М. Лобанок. Постановлением Президиума НАН Беларуси № 22 от 30 мая 1997 г. были утверждены академик-секретарь ОМБН НАН Беларуси (В. Н. Гури́н), заместители академика-секретаря (Е. Ф. Конопля, Г. И. Сидоренко) и новый состав бюро отделения (И. П. Антонов, О.-Я. Л. Бекиш, В. И. Вотяков, В. А. Матюхин, А. Г. Мойсеенок,

Ф. В. Олешкевич, Н. Е. Савченко). Работа Отделения в конце 90-х гг. далеко не ограничивалась научно-методическим руководством академических институтов, координацией фундаментальных исследований ученых страны в области медицины. Важное значение уделялось межведомственной кооперации, поиску путей сотрудничества с учреждениями Минздрава, внедрению результатов научных исследований в практическое здравоохранение. Особой заботой академика В. Н. Гурина было расширение персонального состава, научной базы Отделения медико-биологических наук, расширение научных связей с учреждениями РАМН. В 2000 г. состав ОМБН НАН Беларуси пополнился членами-корреспондентами Е. Д. Белоенко, В. А. Кульчицким, А. Г. Мойсеенком, Л. П. Титовым, однако вопрос о создании новых учреждений в составе Отделения не был реализован. В июне 2000 г. по инициативе член-корреспондента А. Г. Мойсеенка всемерно поддержанной академиком В. Н. Гуриным было вынесено на Президиум НАН Беларуси предложение о создании в Гродно на базе лаборатории коферментов Института биохимии нового учреждения — Отдела метаболических нарушений НАН Беларуси в качестве самостоятельного учреждения. Данная инициатива была поддержана решением бюро Отделения медико-биологических наук НАН Беларуси от 5 мая 2000 г., но не получила развития из-за позиции тогдашнего руководства Института биохимии. Несостоявшееся новое учреждение, как оказалось впоследствии, оставило открытым вопрос о научном сопровождении предприятий пищевой промышленности РБ, на острую необходимость которого в конце 2000 г. указали руководители НАН Беларуси и Госпищепрома. Однако смена руководства академической науки и заинтересованной отрасли не позволили довести инициативу до логического конца. В сущности, этот вопрос не разрешен до настоящего времени.

Декрет Президента Республики Беларусь «О совершенствовании государственного управления в сфере науки» от 5 марта 2002 г. повлек за собой значительные изменения в сфере руководства фундаментальных и прикладных наук, их приоритетности, нацеленности на решение народно-хозяйственных и социальных задач общества и государства. Как и в других отделениях НАН Беларуси, в Отделении медико-биологических наук осуществлялся поиск новых приоритетных направлений деятельности, новых форм сотрудничества со сферой здравоохранения. Несмотря на то, что приказом НАН Беларуси № 44-К от 24 апреля 2002 г. академик

В. Н. Гурин был освобожден от должности академика-секретаря ОМБН НАН Беларуси, его дальнейшая деятельность как директора Института физиологии, члена бюро ОМБН была направлена на сохранение и развитие Отделения, решающего фундаментальные проблемы медицины. В 2003 г. в состав действительных членов Отделения, академиков были избраны Е. Д. Белоенко, А. Н. Михайлов и А. В. Руцкий, а в 2004 г. член-корреспондентами – Ф. И. Висмонт, И. В. Залуцкий, А. Г. Мрочек, А. Ф. Смянович. Академик Е. Д. Белоенко стал наследником академика В. Н. Гурина как руководителя Отделения медико-биологических наук НАН Беларуси (постановление Бюро Президиума НАН Беларуси от 22 августа 2002 г.).

В связи с утверждением устава НАН Беларуси Указом Президента Республики Беларусь № 56 от 3 февраля 2003 г. «О некоторых вопросах Национальной академии наук Беларуси» приказом НАН Беларуси № 7 от 7 марта 2003 г. Отделение медико-биологических наук НАН Беларуси переименовано в Отделение медицинских наук. В значительной мере – это возвращение к первоначальной идее Валерия Николаевича и его коллег – основателей Отделения по проблемам медицины, видящих Отделение как главное государственное учреждение координации медицинской науки Беларуси. Есть все предпосылки для того, чтобы это намерение воплотилось в жизнь и чтобы потенциал выдающихся представителей медико-биологических и медицинских наук, собранных академиком В. Н. Гуриным в единый творческий центр, был использован до конца отечественным здравоохранением и обществом.

**ВАЛЕРИЙ НИКОЛАЕВИЧ ГУРИН:
ФИЗИОЛОГ, ОРГАНИЗАТОР НАУКИ И ГРАЖДАНИН**

В. П. Реутов, Е. Г. Сорокина, Н. С. Косицын

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,
Москва, Россия

Одна из центральных ценностей, о которой мы можем и должны говорить, – безусловная ценность каждого человека, каждой человеческой жизни...

Д. С. Лихачев (1906–1999)

Валерий Николаевич Гурин был академиком НАН Беларуси, академиком Российской академии медицинских наук, академиком

Международной славянской академии наук, искусств и культуры, академиком Академии космонавтики им. К. Э. Циолковского, лауреатом Государственной премии Республики Беларусь в области науки и техники, заслуженным деятелем науки Республики Беларусь, а также известным ученым в области физиологии человека и животных, создателем научной школы физиологов в Республике Беларусь. Но что означают почетные звания и должности, если за ними не стоит отвечающая этим званиям личность?

Валерий Николаевич Гурин с ранних лет испытывал острое желание творчески реализовать себя. Поэтому вскоре после окончания Витебского государственного медицинского института он в 1963 г. поступил в аспирантуру при кафедре нормальной физиологии Минского государственного медицинского института, а в 1966 г. защитил кандидатскую диссертацию на тему «Участие аскорбиновой кислоты в механизмах регуляции интероцептивных обменных гомеостатических реакций (связь с активностью гипофизарно-адренкортикальной системы)».

И снова годы работы. С 1966 по 1971 гг. В. Н. Гурин — ассистент, а с 1971 по 1973 гг. — доцент кафедры нормальной физиологии Минского государственного медицинского института. Активная работа и личные качества лидера привели к тому, что в 1973 г. он был избран заведующим кафедрой нормальной физиологии в этом же институте. В 1973 г. В. Н. Гурин защитил докторскую диссертацию «Холинергические механизмы регуляции обмена свободных жирных кислот», а в 1974 г. ему было присвоено звание профессора.

В. Н. Гурин исследовал проблемы регуляции температуры тела в норме и при патологии и находил подтверждение своим догадкам в литературе о том, что снижение температуры тела может тормозить обменные процессы и уменьшать выход свободных радикалов. Уже тогда в 70–80-е гг. XX в. Валерий Николаевич обратил внимание на свободные радикалы, которые в повышенных количествах способны повреждать мембраны клеток и субклеточных структур и влияют на жизненный цикл клеток а, возможно, и на продолжительность жизни. Концентрация свободных радикалов всегда возрастает при воспалениях, повышении температуры тела, гипоксиях различного генеза. Свободнорадикальные процессы всегда сопровождают реакции обмена свободных жирных кислот и процессы перекисного окисления липидов. К свободным радика-

лам, влияющим практически на все внутри- и межклеточные взаимодействия, относится и оксид азота. В. Н. Гурин одним из первых в стране проявил интерес к этой вездесущей молекуле, которая вначале стала молекулой года, а потом и последних десятилетий. Им была разработана концепция участия в работе функциональной системы терморегуляции центральных NO-зависимых механизмов и процессов, которые включаются в работу антипиретической системы. За последнее десятилетие В. Н. Гурин провел три конференции, которые посвящались проблеме оксида азота в биологии и медицине.

Однако одной из основных проблем исследования для В. Н. Гурина стала проблема терморегуляции и изучение механизмов системной регуляции метаболических процессов. Исследование центральных нейромедиаторных механизмов терморегуляции позволило В. Н. Гурину сформулировать концепцию интегративной роли холинергических нейронов гипоталамуса в контроле процессов теплопродукции и теплоотдачи. Впервые были получены данные, свидетельствующие о принципиальном различии в реакциях гипоталамических структур на высокую внешнюю температуру и действие пирогенов. Валерий Николаевич доказал зависимость обмена липопротеидов плазмы крови от функционального состояния адрено- и холинореактивных систем при лихорадке и иных патологических состояниях. Им были исследованы механизмы взаимодействия системы регуляции теплового баланса организма и иммунной системы, а также разработан новый перспективный принцип ослабления лихорадки посредством мобилизации резервных механизмов антипиретической системы мозга. Выдвинута концепция деятельности терморегулирующих центров (модель нейронных сетей), в основу которой положен принцип растормаживания эффекторных нейронов, обладающих тонической активностью, и определяющих в обычных условиях баланс активности терморегуляторных эффекторов на периферии.

В 1984 г. Валерий Николаевич Гурин стал директором Института физиологии АН Белоруссии. Он всегда последовательно соблюдал принцип преемственности тематик научных исследований. Благодаря В. Н. Гурину дальнейшее развитие получила теория академика И. А. Булыгина о базовом принципе функционирования популяций нейронов на уровне ганглиев, сегментарных и супрасегментарных отделов нервной системы. Валерий Николае-

вич обосновал принцип «растормаживания» в нервной системе, в основе которого лежит изменение конвергентно-дивергентных взаимоотношений. Дальнейшее развитие и экспериментальные доказательства этого принципа в регуляции висцеральных функций получены сотрудниками Института при моделировании патологических состояний в условиях нарушения процессов теплопродукции и теплоотдачи.

По инициативе В. Н. Гурина впервые была начата экспериментальная разработка одной из наиболее актуальных и наименее разработанных проблем современной физиологии и медицины – проблемы субфебрильных состояний организма. Широкий круг научных интересов академика В. Н. Гурина, глубокое теоретическое обоснование новых представлений и концепций, создание научной школы в республике принесли ему заслуженное признание среди специалистов. За цикл работ «Механизмы терморегуляции в норме и патологии» в 1996 г. ему была присуждена Государственная премия Республики Беларусь.

В 1986 г. В. Н. Гури́н был избран членом-корреспондентом АН БССР. С 1991 г. по совместительству заведовал кафедрой физиологии человека и животных БГУ, а в 1995 г. организовал и по 2002 г. возглавлял в должности академика-секретаря Отделение медико-биологических наук АН Беларуси. В 1994 г. избран академиком АН Беларуси, в 1998 г. присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки Республики Беларусь».

Результаты научной деятельности В. Н. Гурина изложены более чем в 500 печатных работах, восьми монографиях, он – автор ряда изобретений, редактор учебных пособий для студентов, получивших высокую оценку во многих вузах страны и за рубежом. Под руководством В. Н. Гурина защищены восемь докторских и тридцать кандидатских диссертаций.

На протяжении многих лет В. Н. Гури́н был заместителем председателя и членом Президиума Ученого медицинского совета Минздрава БССР, членом Республиканского межведомственного научного совета по развитию фундаментальных исследований для медицины, председателем Научного совета по физиологии, биохимии и морфологии при Отделении биологических наук АН Беларуси, членом Совета по координации научной деятельности в области физиологии АН СССР, научного совета АН СССР и АМН СССР по физиологии человека, центрального совета Всесоюзно-

го физиологического общества им. И. П. Павлова, руководителем Программы Отделения физиологии СССР «Физиологические механизмы терморегуляции».

Академик В. Н. Гурин был также бессменным председателем Правления Белорусского физиологического общества, членом Физиологического общества Великобритании, членом Комитета по Государственным премиям Республики Беларусь в области науки и техники, членом комиссии по премиям НАН Беларуси, председателем совета по защите докторских диссертаций, членом редколлегии журналов «Доклады НАН Беларуси», «Физиология человека», «Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова», «Криобиология», «Нейробионика».

Руководя Отделением медико-биологических наук НАН Беларуси, создание которого в 1995 г. во многом было связано с его инициативой и активным участием, академик В. Н. Гурин особое внимание уделял вопросам укрепления позиций отделения в системе НАН Беларуси, формированию новых научных групп и перспективных направлений, ориентированных на решение фундаментальных и прикладных задач по актуальным научным проблемам, укреплению творческих связей с Минздравом Республики Беларусь, развитию международных научных связей.

История науки знает имена тех ученых, которые внесли выдающийся вклад в развитие того или иного направления исследования. Значительно меньше мы знаем о тех людях, которые сами, будучи известными учеными, способствовали успехам своих учеников и коллег. Валерий Николаевич Гурин был ученым, организатором науки и гражданином, который был способен предвидеть новые перспективные направления исследований. Он был замечательным лектором и докладчиком, способным в краткой форме интересно изложить лекционный курс, результаты собственных исследований или провести анализ многочисленных данных литературы. Поведение его с коллегами, учениками и сотрудниками всегда было таким, что никогда нельзя было почувствовать, что он занимает достаточно высокое положение в научной иерархической системе.

Валерий Николаевич всегда обращался к самому главному и существенному, потому что умел видеть суть вещей и людей. Он никогда никому не завидовал, потому что сам был талантлив и обладал редким даром открывать в других людях новые таланты.

Он умел слышать и понимать других. Он мог брать на себя ответственность, представляя научной общественности новое открытие или, выдвигая перспективного молодого ученого на должность заведующего лабораторией или кафедрой, и его интуиция практически никогда не давала сбоев. Он был одним из тех немногочисленных ученых, которые могли среди множества научных работ выделить достойную и открыто высказать или написать в рецензии, что именно эта работа открывает новый этап в развитии того или иного научного направления. Он не ждал, как на ту или иную работу отреагирует западное научное сообщество. У него была безошибочная научная интуиция и свое видение научных проблем. Его личностные качества всегда оставались на высоте и отвечали всем его званиям и наградам. Наверное, действительно, по словам А. Эйнштейна, моральные качества замечательного человека имеют большее значение для его поколения и для исторического прогресса, чем чисто интеллектуальные достижения.

Западники и славянофилы... Противостояние их взглядов и мнений имеют уже не одну вековую историю. Валерий Николаевич Гурин был одним из тех ученых, кто поддерживал научные связи с европейскими и американскими учеными. Однако он не забывал о российских и украинских коллегах. Он чувствовал и говорил, что без связи с предшествующими поколениями нет единого народа, потому что для проявления единства необходимы традиции, передаваемые из поколения в поколение. Валерий Николаевич часто говорил на конференциях и симпозиумах: «мы приложим все усилия, чтобы наши коллеги-славяне чувствовали себя в Минске лучше, чем у себя дома», и его слова практически никогда не расходились с делом. Много внимания Валерий Николаевич Гурин уделял проблемам духовного объединения славян, являясь председателем Белорусского отделения Международной славянской академии наук, образования, искусств и культуры. Проведенная в 1997 г. по его инициативе научная конференция «Славянские народы: история и современность», получила широкий общественный резонанс во многих странах.

Говорят, что хорошо заканчивать периоды жизни по звонку времени. Для В. Н. Гурина звонок еще не прозвучал. Его жизнь еще не исчерпала запаса физических и творческих возможностей, которыми он обладал. Он мог бы еще жить и работать. Он написал и сделал меньше, чем задумал и мог бы еще сделать. В субботу 1 сентя-

бря 2007 г. у Валерия Николаевича Гурина внезапно остановилось сердце. В этот день он был на даче. Те, кто последними видели Валерия Николаевича, рассказали, что вечером (приблизительно в 17 часов) он после работы решил отдохнуть. Так он сказал. А быть может, он, будучи до самого конца своей жизни тактичным человеком, почувствовал, что может умереть, и не хотел никого испугать? Рядом ведь были младший сын и маленький внук, которые на следующий день должны были улететь в Лондон. Он взял лодку, недалеко отплыл от берега. Через непродолжительное время с берега заметили, что в лодке никого не видно. Когда подплыли к лодке, – в ней лежал Валерий Николаевич, уже мертвый...

Авторы статьи благодарят всех белорусских коллег, общение с которыми позволило понять условия жизни и деятельности В. Н. Гурина в последние годы, и приносят свои извинения родным, близким и друзьям В. Н. Гурина за то, что не смогли сделать все возможное, чтобы Валерий Николаевич мог по-прежнему жить и работать. Простите и Вы нас, Валерий Николаевич, простите за все...

ВСПОМИНАЯ ВАЛЕРИЯ НИКОЛАЕВИЧА ГУРИНА

В. Ф. Сагач, Л. Н. Шаповал

Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины,
Киев, Украина

Мы не могли не откликнуться на приглашение Института физиологии НАН Беларуси и Белорусского общества физиологов принять участие в издании тематического сборника, посвященного памяти академика В. Н. Гурина и не случаен выбор представленного к публикации материала. Именно Валерий Николаевич Гуринов был первым ученым в постсоветском «физиологическом» пространстве, который организовал и провел конференцию, названную «Роль монооксида азота в процессах жизнедеятельности». К этому моменту еще не была получена Нобелевская премия за открытие физиологической значимости оксида азота. В нашей стране исследования функциональной значимости оксида азота еще только разворачивались, хотя к тому моменту в отделе физиологии кровообращения Института физиологии им. А. А. Богомольца уже был проведен ряд исследований в этом направлении и получен ряд приоритетных результатов, за которые коллектив сотрудников от-

дела в 1996 г. получил первую Государственную премию Украины в области науки и техники. Естественно нам было очень интересно пообщаться с коллегами, работающими в рамках этой проблемы. В тот период проведение конференции было очень актуальным и своевременным. Эта первая конференция, в работе которой принимали участие ученые и России, и Украины и республики Беларусь, уже носила статус международной. Открытие конференции было проведено в очень торжественной обстановке в Президиуме АН Беларуси, после чего все переместились в Институт физиологии, который тогда возглавлял Валерий Николаевич. Мы, сотрудники Института физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, принимавшие участие в ее работе, хорошо помним тот теплый прием, ту совершенно домашнюю обстановку, которую сумели создать Валерий Николаевич и сотрудники Института физиологии для всех участников конференции. Конференция была проведена на таком высоком уровне, она была настолько полезной для всех нас, что все ее участники пришли к выводу о целесообразности продолжить обсуждение этих вопросов на белорусской земле в последующие годы. На какой-то период времени такого рода конференции стали традиционными.

Валерий Николаевич с большим уважением относился к окружающим его людям. У нас в отделе часто вспоминают, как он встречал киевский поезд с сотрудниками нашего института, приехавшими на очередную конференцию. Наши сотрудники были очень удивлены, увидев Валерия Николаевича на вокзале в шесть часов утра. При этом он не стал беспокоить водителя институтского транспорта, а приехал на вокзал на личном автомобиле.

Валерий Николаевич Гурин – известный ученый, научно-исследовательская работа которого была в значительной степени связана с проблемами терморегуляции и системной регуляции метаболических процессов в норме и патологии. Комплексный подход к решению проблемы с использованием современных физиологических, электрофизиологических, морфологических и фармакологических методов исследования позволил ему вместе с коллективом сотрудников определить степень и характер участия нервных структур головного и спинного мозга, вегетативной нервной и эндокринной систем в регуляции теплового баланса организма в термонеutralных условиях, при гипо- и гипертермии, лихорадке.

Не зря говорят, что человек не может умереть, пока он жив в памяти людей. Валерий Николаевич сохранился в нашей памяти как человек огромной эрудиции, как человек с выдающимися организаторскими способностями, как человек, умевший сплотить вокруг себя коллектив одномышленников, и наконец, как очень добрый и отзывчивый человек. Звание академика и кресло академика-секретаря АН Беларуси не мешало ему общаться на равных и с докторами наук, и с аспирантами.

Мы рады, что сотрудничество между физиологами Украины и Беларуси продолжается.

МОИ ВОСПОМИНАНИЯ ОБ АКАДЕМИКЕ ВАЛЕРИИ НИКОЛАЕВИЧЕ ГУРИНЕ

И. Н. Семененя

Министерство здравоохранения Республики Беларусь

Год назад, 1 сентября 2007 года, в День знаний, перестало биться сердце видного белорусского ученого, педагога, организатора науки, доктора медицинских наук, профессора, академика Национальной академии наук Беларуси, иностранного члена Российской академии медицинских наук, заслуженного деятеля науки и лауреата Государственной премии Республики Беларусь Валерия Николаевича Гурина. Он умер за несколько месяцев до своего 70-летия. Не очень долгая, но очень плодотворная и яркая жизнь.

Как ученый-физиолог Валерий Николаевич был известен далеко за пределами нашей страны. Он обогатил любимую термофизиологию трудами основополагающего значения. Его, опытного педагога, обожали студенты. Многие могли позавидовать его мудрости и организованности. Это касалось как подготовки учеников, кандидатов и докторов наук, так и руководства кафедрами, институтом, отделением медико-биологических наук, научными обществами, общения с коллегами, друзьями. Он всегда умел найти оптимальное решение в любой ситуации, подсказать, как правильно действовать в том или ином случае. Такому умению способствовало, кроме врожденных качеств, постоянное общение с профессорским корпусом и академической элитой АМН СССР, РАМН, РАН, коллегами других государств. На высоком уровне была организована работа руководимого им Отделения медико-

биологических наук НАН Беларуси, всегда четко, безукоризненно проходили выборы в члены НАН Беларуси.

Работая рядом с Валерием Николаевичем на протяжении многих лет, я прошел хорошую школу научной и педагогической деятельности, школу жизни. Защитил под его руководством кандидатскую и докторскую диссертации, приобрел большой запас общих и специальных знаний, научился основам организационно-управленческой деятельности, познакомился со многими интересными людьми. Я считаю большим везением в своей жизни знакомство и длительное общение, рабочее и неформальное, с Валерием Николаевичем Гуриным.

Было у Валерия Николаевича несколько хобби. Одно из них – увлечение историей и культурой славянских народов. Яркий след он оставил, руководя Белорусским отделением Международной славянской академии наук, образования, искусств и культуры. Интересно проходили встречи членов славянской академии в Отделении медико-биологических наук НАН Беларуси в бытность Валерия Николаевича академиком-секретарем отделения. Там бывали такие известные люди Беларуси, как композитор А. Богатырев, балетмейстер В. Елизарьев, актеры Н. Еременко (старший), В. Гостюхин и многие др. С высоты прожитых лет, умудренные богатейшим жизненным опытом они много и увлеченно рассказывали об интереснейших событиях в истории нашей страны и братских славянских государств. Очень нравилось Валерию Николаевичу слушать рассказы А. В. Богатырева о его личных встречах с И. В. Сталиным. Всегда разгорались оживленные дискуссии, принимались и реализовывались организационные решения по вопросам укрепления и дальнейшего развития международного славянского содружества (понятно в пределах своей компетенции). Заметным событием явилась организованная и проведенная по инициативе Валерия Николаевича в 1997 г. в Минске научная конференция «Славянские народы: история и современность». Большое удовольствие я тогда получил, созерцая бурную, довольно продолжительную дискуссию между Валерием Николаевичем и русско-болгарским мыслителем Тодором Дичевым по острым вопросам славистики.

Валерий Николаевич хорошо знал русскую поэзию и русскую классическую литературу, с удовольствием цитировал А. С. Пушкина, М. Ю. Лермонтова, Ф. И. Тютчева. Любил поговорить о произведениях Ф. М. Достоевского, М. Е. Салтыкова-Щедрина,

И. С. Тургенева, Н. В. Гоголя, А. С. Грибоедова, других писателей, в деталях знал их биографии. Не меньше Валерий Николаевич интересовался историей славянских государств и русской религиозной философией.

Валерий Николаевич всегда очень нежно и тепло вспоминал своих родителей, боготворил маму, был прекрасным отцом. Вместе с супругой, Еленой Владимировной, они вырастили двух сыновей, увлеченных наукой. Оба – доктора наук, профессора. Старший, Андрей, защитил докторскую в 34 года, младший, Александр, – в 27. Очень любил Валерий Николаевич своего внука Колю.

Академик В. Н. Гурин умел работать, отдыхать, жить. Он прожил красивую жизнь и ушел красиво – с удочкой в руках среди красот белорусской природы.

ВАЛЕРИЙ НИКОЛАЕВИЧ ГУРИН В БЕЛОРУССКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ УНИВЕРСИТЕТЕ

*И. И. Солодовникова, Г. И. Захаревская,
Г. С. Полюхович, А. Г. Чумак*

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Валерий Николаевич Гурин заведовал кафедрой физиологии человека и животных БГУ, одной из наиболее «старых» в университете (организована в 1922 г.), с 1991 по 2003 гг. – по совместительству. Это солидный срок, сопоставимый с периодом руководства Л. П. Розанова, И. А. Ветохина и Г. С. Юньева.

Преподаватели биологического факультета относились к Валерию Николаевичу с глубоким уважением, и не потому, что он был академиком. На биофаке традиционно господствуют очень демократические правила в общении преподавателей между собой и студентами. Часто сотрудники факультета обращались к «своему» академику за методическими советами как к опытному профессору, иногда с житейскими просьбами как к врачу и руководителю Отделения медико-биологических наук НАН Беларуси. Никому никогда не отказывая, выслушав коллегу, Валерий Николаевич порой садился к телефонному аппарату и начинал набирать номера многочисленных знакомых и друзей, работающих в клиниках Минска. Вообще Валерий Николаевич очень любил общение по телефону, любил звонить некоторым сотрудникам домой, что

воспринималось как знак особого доверия. Поручая сотрудникам узнать какую-либо информацию, например, придет ли в Минск на конференцию известный академик, он сердился, если те медлили и начинали искать почтовый адрес. «А телефон зачем?» – несколько театрално вопрошал Валерий Николаевич, и тотчас, по памяти, набирал нужный номер. Помнил он десятки номеров телефонов и редко обращался к записной книжке. Даже в последние годы, когда он работал на полставки профессора кафедры и присутствовал на факультете только во время предусмотренных расписанием занятий, найти его в перерыве чаще всего можно было разговаривающим по телефону. Темы телефонных бесед касались работы Белорусского общества физиологов или участия в различных физиологических или общественных мероприятиях. Заканчивал разговор обычно своей стандартной, почти «факсимильной» фразой «Держим контакт!».

Глубоко переживая разделение союзных республик и распад Советского Союза, Валерий Николаевич стремился сохранить связи между физиологами СНГ. Для этого он использовал то, что являлся академиком Российской академии медицинских наук, членом многих международных организаций и академий. Большое значение он придавал усилиям Правлений физиологических обществ стран Содружества по организации I съезда физиологических обществ СНГ (Российская Федерация, Дагомыс, 2005), и, несмотря на серьезные материальные издержки, принял участие в его подготовке и работе.

В конце прошлого и начале нынешнего десятилетия по инициативе и под руководством Валерия Николаевича было проведено более 10 международных симпозиумов, конференций и съездов, на которые неизменно приглашались известные ученые, коллеги и друзья – физиологи из Москвы, Санкт-Петербурга, Киева, Берлина, Венгрии, Сербии и других стран. Научные встречи постоянно проводились под эгидой не только Института физиологии и Национальной академии наук, но и с прямым участием Белорусского физиологического общества, председателем которого он был почти 20 лет. Даже когда ему нездоровилось, Валерий Николаевич организовывал научные встречи тепло и радушно. Привлекаемые для их проведения сотрудники, считали для себя почетным, когда председатель оргкомитета и Белорусского общества физиологов поручал какое-либо дело. Благодаря его энергии, прозорливости и работоспособности сегодня Белорусское общество физиологов

официально зарегистрировано в Министерстве юстиции Республики Беларусь, успешно работает, входит в состав Союза физиологических обществ СНГ и расширяет свою уставную деятельность.

Многому научились преподаватели кафедры у Валерия Николаевича как методиста и опытного педагога высшей школы. Он никогда не формализовал учебный процесс, не «засушивал» его, считал некоторые «бюрократические» процедуры необходимыми помехами, но не более. Говорил о том, что в вузе должна быть «критическая масса умных людей». Главным в высшей школе полагал личность педагога и студента. Идея Валерия Николаевича о применении в преподавании физиологии одноразовых брошюр малого практикума по физиологии, раздаваемых каждому студенту на год, внедренная прежде на кафедре нормальной физиологии БГМУ, а затем и на кафедре физиологии человека и животных БГУ, опередила общепринятый сегодня аналогичный методический прием в средней школе (типографским способом изданные рабочие тетради по предметам).

Студенты Валерия Николаевича любили. Как пример можно привести чтение им спецкурсов «Физиология функциональных систем» и «Физиология терморегуляции» на протяжении более чем пятнадцати лет и пользовавшихся популярностью у юных физиологов. Весной 2004 г., перед приемом очередного экзамена по одной из названных дисциплин Валерий Николаевич узнал, что оценку нужно ставить по десятибалльной шкале. Он прежде всего громко высказал свое мнение о нововведении (мягко говоря, отрицательное). Затем пошел в соответствующую кафедральную аудиторию и уединился там с группой студентов. Мы с удивлением видели, как из аудитории с периодичностью в 5 минут выходят с горящими глазами необыкновенно счастливые студенты. Потом вышел сам профессор и радостно пояснил – «это хорошие студенты, я им всем поставил «десять». А вот те двое юношей – прогульщики, пропускали лекции. Я им поставлю только «девять»! «Интрига» события была в том, что по инструкциям «десятки» следовало ставить только за «выдающиеся» ответы, и у некоторых студентов это была единственная такая оценка за все время обучения в университете! Валерий Николаевич никогда не жалел оценок. Не жалел их и на государственном экзамене по биологии или при защите дипломных работ как многолетний Председатель Государственной экзаменационной комиссии. Но он никогда не был «добреньким»! Если студент того заслуживал, «двойка» по

любой шкале ему была гарантирована, даже по итогам государственного экзамена. Но это случалось крайне редко и вызывало у него большие переживания. Валерий Николаевич считал важным и пропагандировал такой принцип преподавания, в соответствии с которым неудовлетворительные оценки следует использовать при промежуточной аттестации учащихся, но не по итогам курса. В этом видна его многолетняя педагогическая мудрость.

Валерий Николаевич никогда не «жадничал» и делился с преподавателями методической литературой. Ему дарили много авторских экземпляров учебников, пособий, руководств. Он тут же приносил их на кафедру и отдавал преподавателям. В последний учебный год работы Валерий Николаевич разработал новый курс лекций по биологии, назвав его «Биологически активные вещества крови и функциональные системы организма». Он с большим вдохновением над ним работал, делал выписки, составил базовую учебную программу. Преподавателям показалось, что для него было немного неожиданным то, что слушать этот курс записалось более 100 студентов разной биологической специализации. И у каждого он принял зачет по «классической» устной форме, не прибегая к распространенному сейчас тестированию. К тестам академик относился с недоверием.

Те, кто слушал лекции Валерия Николаевича, запомнят навсегда его «живое» изложение. Часто он брал на лекцию только кусок мела. Возвращался воодушевленным, пружинящей, «подпрыгивающей» походкой и говорил: «Не зря сегодняшний день прожит». Можно сказать его же словами – вся жизнь Педагога прожита не зря.

ВАЛЕРИЙ НИКОЛАЕВИЧ ГУРИН: БОЛЬШОЙ УЧЕНЫЙ И ЗАМЕЧАТЕЛЬНЫЙ ЧЕЛОВЕК

М. Н. Ткаченко

Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины,
Национальный медицинский университет
им. А. А. Богомольца, Киев, Украина

Воспоминания о замечательных людях возникают перед нами как заветы поколений.

И. В. Гете

В плеяде выдающихся физиологов, активно и плодотворно работавших в государствах Содружества в конце XX в. и начале ны-

нешнего, особое и достойное место занимает Валерий Николаевич Гурин.

В. Н. Гурин считал себя учеником академика П. К. Анохина, блестящим исследователем в области регуляции функциональных систем человека и животных. Целесообразно здесь вспомнить лекцию Валерия Николаевича на VII Анохинских чтениях «Растормаживание пейсмекеров высших автономных центров и его значение в деятельности функциональных систем». Он разработал новую модель контроля теплопродукции и теплоотдачи в живых организмах.

Я познакомился с Валерием Николаевичем в 2001 г. на конференции «Функциональная роль монооксида азота и пуринов», которая проходила в Минске 13–14 сентября. Я – молодой доктор наук, сотрудник отдела физиологии кровообращения Института физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, и аспирант нашего отдела Виктор Яроцкий представляли на конференции Киев. Научные форумы по оксиду азота для меня представляют всегда большой интерес. Более двадцати лет занимаюсь изучением роли эндотелия, гуморальных веществ эндотелиального происхождения в развитии сосудистых реакций, сосудистой реактивности при атерогенезе, артериальной гипертензии, действии малых доз радиации, в процессе старения. По приезду в Минск приятно удивился, узнав, что на первом пленарном заседании конференции буду сопредседательствовать вместе с директором Института физиологии им. И. П. Павлова РАН Джаном Петровичем Дворецким, которого знал еще с конца 80-х гг., был в его лаборатории кровообращения в Колтушах и даже участвовал в экспериментах по деэндотелизации сосудов при исследовании рабочей гиперемии, и директором Института физиологии НАН Беларуси В. Н. Гуриным. Валерий Николаевич при первом же знакомстве произвел впечатление демократичного, доступного, толерантного, предельно внимательного и обаятельного человека. Он очень быстро определял основную идею каждого доклада, задавал точные вопросы и любил быть инициатором научных дискуссий. Должен заметить, что на минских конференциях «зачинщиков» таких дискуссий было немало. Нельзя не вспомнить непревзойденного и артистичного С. А. Поленова («Пьера Ришара» российской физиологии), энергичного, импульсивного и не менее талантливого В. П. Реутова. На мой взгляд, В. Н. Гурин был примером классического университетского профессора. Как известно, долгие годы он возглавлял кафедру

нормальной физиологии Минского государственного медицинского института.

Посчастливилось мне вместе с моим научным руководителем членом-корреспондентом НАН Украины В. Ф. Сагачем участвовать и в юбилейной конференции и сателлитном симпозиуме «Пурины и монооксид азота (регуляторная функция в организме)», которые проходили в Минске 7–8 октября 2003 г. и были посвящены 50-летию Института физиологии НАН Беларуси. Киевский поезд в Минск прибывает в шесть часов. Выходим с В. Ф. Сагачем из вагона, на перроне я вижу встречающего В. А. Кульчицкого и направляюсь к нему. Обаятельнейший Владимир Адамович глазами дает мне понять, что я должен обратить внимание на мужчину, стоящего рядом с ним, в котором узнаю Валерия Николаевича. Несмотря на раннее утро и занятость в организации юбилейных институтских торжеств, директор Института физиологии В. Н. Гурин счел нужным приехать на вокзал и лично встретить киевских гостей. Такие моменты остаются в памяти навсегда.

В Минск на конференции по оксиду азота и пуринам съезжались известные и авторитетные ученые, такие как Д. П. Дворецкий, С. А. Поленов, А. Д. Ноздрачев, В. А. Отеллин из Санкт-Петербурга, О.А. Гомазков, В.П. Реутов из Москвы, Мартин Нихельманн (Humboldt University of Berlin). В них участвовали и белорусские исследователи – В. А. Кульчицкий, В. В. Солтанов, Л. М. Лобанок, А. Г. Чумак, Ф. И. Висмонт (Минск), А. П. Солодков, В. И. Шебеко (Витебск), В. В. Зинчук, Н. Е. Максимович (Гродно) и др.

В. Н. Гурин поддерживал научный поиск молодых сотрудников. Особенно это было показательно во время обсуждения стендовых докладов. Ко мне как одному из руководителей стендовой секции он обратился с просьбой: «Обязательно посмотрите стенды. И нужно выступить в обсуждении. Прошу Вас отметить не только наши работы. Хорошо работают и в Витебске, и в Гродно...»

Хотелось бы особо отметить не только высокий научный уровень, но и прекрасную организацию научных форумов в Минске. В этом была заслуга и Валерия Николаевича, и сотрудников Института (В. А. Кульчицкий, В. В. Солтанов, А. Г. Чумак, Л. А. Сурганова, В. С. Левковец). В 2003 г. гости юбилейных торжеств совершили поездку в музей архитектуры и быта.

Мне посчастливилось общаться с Валерием Николаевичем и в неформальной обстановке. Он хорошо знал литературу, разби-

рался в живописи, интересовался историей. Кстати, с симпатией он относился к запорожскому казачеству. Вспоминаю интереснейшую дискуссию с В. Н. Гуриным и Д. П. Дворецким о творчестве Л. Н. Толстого, Ф. М. Достоевского и А. П. Чехова. Оказалось, что Валерий Николаевич – толстовец, а мы с Джаном Петровичем – больше тяготеем к Ф.М. Достоевскому (к А. П. Чехову каждый из нас относился однозначно – с восторгом). Образность мышления, яркие и точные характеристики отличали рассуждения В. Н. Гурина о творчестве и личности гениального писателя. В 2003 г. Валерий Николаевич с гордостью показывал нам Институтский музей. Был у В. Н. Гурина и фирменный подарок каждому гостю – буханка хлеба «Нарачанскі» и бутылка гарэлкі «Белая Русь».

В. Н. Гурин был патриотом Беларуси, ему удалось возглавить не только белорусскую физиологическую школу, но и стать одним из лидеров мировой физиологии. Валерий Николаевич был носителем уникального жизненного и интеллектуального опыта. О нем можно сказать словами знаменитого киевского физиолога и геронтолога академика В. В. Фролькиса «Есть талант творческий, есть талант человеческий. Когда они сливаются в одном человеке – это возвышает всех». В Украине академика В. Н. Гурина всегда уважали, ценили, любили и будут помнить как выдающегося ученого, крупнейшего организатора науки, яркую личность и просто хорошего человека.

REMINISCENCE TO VALERII NIKOLAEVICH GURIN (1938–2007)

D. M. Djuric

Professor and Director, Institute of Medical Physiology,
School of Medicine University of Belgrade,
President, Serbian Physiological Society, Belgrade, Serbia

During December 2007 I heard that an outstanding scientist and distinguished professor and academician Valerii Nikolaevich Gurin prematurely died. It touched me deeply taking into consideration that professor Gurin (as a former president of Belarusian Physiological Society and as a director of the Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus) accepted my invitation to participate

at the Congress of Physiological Sciences in Belgrade three years ago together with other internationally recognized scientists. During mentioned congress two colleagues and friends, professors Gurin from Minsk and Sudakov from Moscow, organized symposium «Emotions and motivations» and professor Gurin also gave a nice lecture about emotional stress and cytokines. For most participants especially from my country it was a celebration to learn about scientific progress and possible application in this field, and having opportunity to personally introduce inheritors of Pavlov, Anokhin etc. During evening we enjoyed together in music, wine and food discussing intensively about different themes including scientific, personal and historical topics. He told me about his difficult childhood, about his family and about his scientific progress. I was feeling pure Slavic spirit in his discussions but the rest of people were also delighted by his presentation of Belorussian vodka so called «front vodka». For the New Year 2006 and 2007 we exchanged Season's greetings written by Cyrillic alphabet. However for 2008 his answer was missing and I tried to check what happened with my friend. Unfortunately I received an official confirmation from his institute that academician Valerii Nikolaevich Gurin, an outstanding physiologist, great teacher, and important public figure suddenly passed away.

Although we did not know each other for a long period of time I realized that his life was dedicated to creative work, full of high ideals, combined with a search for knowledge, truth, and giving of community service, benevolence and philanthropy. I am sure that with his death not only Belarusian but also world physiology lost one remarkable and unique man in real sense of the world.

VALERY NIKOLAJEWITSCH GOURINE – EIN GUTER KOLLEGE UND ENGER FREUND MEINER FAMILIE

M. Nichelmann

Humboldt-Universität zu Berlin, Deutschland

Valery Gourine war einer meiner besten Freunde. Wir hatten den gleichen Humor, verstanden uns oft ohne Worte und wollten gemeinsam durch intensive Forschung die Welt ein wenig verbessern. In jungen Jahren, bereits bevor wir uns persönlich kennen lernten, arbeiten wir an einem ähnlichen Dissertationsthema: Valery beschäftigte sich mit

der Wirkungsweise der Ascorbinsäure in der Leber und in anderen Teilen Organen. Ich wies nach, daß im Gehirn eine gebundene Form der Ascorbinsäure existiert, die mit großer Wahrscheinlichkeit die eigentliche Wirkform des Vitamins ist.

Die Weichen für unser persönliches Kennenlernen wurden im Juni 1984 gestellt. Am Leningrader Pavlov-Institut wurde unter Leitung von Professor Gourin eine Problemkommission zur multilateralen Zusammenarbeit zwischen den sozialistischen Ländern gebildet. Sie erhielt den Namen INTERVIS und sollte arbeitsteilig wissenschaftlich bedeutsame physiologische Fragen in den Problembereichen: (1) Neurohumorale Regulation des Gefäßtonus und der regionalen Durchblutung; (2) Mechanismen der Salz-Wasser-Homöostase; (3) Regulation der endokrinen Funktionen während des Stresses; (4) Zelluläre und molekulare Mechanismen der Verdauung und Absorption sowie ihrer neurohumoralen Regulation; (5) Neurohumorale Organisation der Aktivität der glatten Muskulatur; (6) Physiologische und verhaltensbiologische Mechanismen der Thermoregulation und der Bioenergetik bearbeiten. Zu allen Themenbereichen wurden ein internationaler Koordinator sowie nationale Kuratoren für die Themenbearbeitung bestimmt. Zum internationalen Koordinator des Problemkreises 6 wurde ich bestellt. Ich leitete damals in der DDR den Bereich Verhaltensphysiologie der Humboldt-Universität zu Berlin.

Der Themenkomplex 6 beinhaltete die Schwerpunkte: (1) Zentrale und autonome Mechanismen der Thermoregulation bei Mensch und Tier unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen; (2) Periphere Mechanismen thermoregulatorischer Prozesse; (3) Angewandte Aspekte der Thermoregulation und (4) Physiologische Mechanismen der Temperaturreistenz des Organismus; (5) Steuerung des Wachstums. Nationaler Kurator der Sowjetunion war Valery Gourin, der kurz zuvor zum Direktor des Physiologischen Instituts der nationalen Akademie der Wissenschaften Belorusslands berufen worden war.

Wir trafen uns erstmalig in Berlin, um Einzelheiten der Zusammenarbeit zu besprechen. Dieses Treffen war der Beginn einer langen und sehr fruchtbaren Zusammenarbeit, die schließlich zu einer festen Freundschaft führte.

Gemeinsame Tagungen zu ausgewählten Themen des 6. Schwerpunktes fanden in Minsk, in Pec (Ungarn), Prag, Jablona bei Warschau und schließlich in Beichlingen bei Weimar in den letzten Tagen vor dem Zusammenbruch der DDR statt. Wir versicherten uns

gegenseitig, daß unsere bewährte Zusammenarbeit und Freundschaft weiterhin bestehen bleiben würde.

Was die Beziehungen zwischen Valery Gourine und mir betrafen, so wurde dieser Treueschwur von beiden Seiten beflissen eingehalten. Valery gab 1990 ein Buch in russischer Sprache in Minsk heraus, das die Hauptvorträge, die in Minsk 1988 gehalten worden waren im vollen Wortlaut enthielt. Auf der gleichen Tagung wurde ein internationales Buchprojekt „Handbuch der Thermoregulation“ detailliert diskutiert. Es sollte im ersten Band die Mechanismen der Thermoregulation vergleichend beschreiben, im zweiten Band sollten die Besonderheiten der Thermoregulation und Bioenergetik landwirtschaftlicher Nutztiere dargestellt werden und der dritte Teil sollte schließlich der Thermoregulation kleiner Säuger und poikilothermer Tiere vergleichend gewidmet sein. Federführende Autoren sollten neben Gourine und Nichelmann, Eckehardt Simon aus Bad Nauheim (BRD) und Ladilav Jansky aus Prag sein. Besonders Simon aus Bad Nauheim, dem *Mekka der Thermoregulation*, unterstützte des Projekt als Initiative osteuropäischen Länder, da ein ähnliches in der Bundesrepublik Deutschland geplantes Vorhaben gescheitert war.

Im Herbst 1988 fand in Tromso ein großes internationale Meeting zur Thermoregulation statt. Peter Pierau, ein gemeinsamer Freund von Valery und mir, trug unser Projekt vor, da ich selbst nicht teilnehmen konnte. Es fand nicht ausreichende Zustimmung, so daß wir es als gescheitert betrachten mußten.

In Minsk organisierten wir gemeinsam Tagungen zur Temperaturregulation, z.B. 1995 *Thermoregulation and Temperatur Adaptation*, 1997 *Temperature Control in Health and Disease*, 2002 *Medico-Biological Problems of Thermophysiology*, 2004 *Problems of Thermoregulation in Biology and Medicine*. Die Proceedings sind jeweils in Buchform erschienen.

Im Jahre 2001 wurde in Minsk eine wissenschaftliche Zeitschrift „News of Biomedical Sciences“ gegründet. Wesentliche Forschungsergebnisse meiner Berliner Arbeitsgruppe wurden darin veröffentlicht wie z. B. «*Development of Physiological Control Systems in Avian Embryos*», eine Übersichtsarbeit zur epigenetischen Temperaturadaptation beim Vogel: *Activation of thermoregulatory control elements in precocial birds during the prenatal period* (2004) und schließlich eine Synopsis eigener Untersuchungen und Überlegungen der letzten 40 Jahre «*What is the Optimum Temperature for animal keeping?*»

Zwischen unseren beiden Instituten fand ein reger Wissenschaf­tleraustausch statt. So konnten zu Studienaufenthalten bzw. zu Tagungen mehr als 12 Wissenschaftler aus Minsk nach Berlin und eine ähnliche Anzahl von Forschern von Berlin nach Minsk reisen. 1993 organisierten wir in Berlin gemeinsam mit der International Society for Applied Ethology und der European Association for Animal Production einen internationalen Kongress für angewandte Ethologie, an dem 240 Wissenschaftler aus 24 Ländern mit 155 Beiträgen teilnahmen. 22 Wissenschaftler aus den ehemaligen sozialistischen Ländern trugen ihre Ergebnisse vor, denn ein wesentliches Ziel des Kongresses war es auch, die wissenschaftliche Kooperation zwischen ost- und westeuropäischen Wissenschaftlern zu fördern. An der inhaltlichen Ausrichtung der Konferenz waren Valery Gourine und seine Mannschaft wesentlich beteiligt.

Die enge Zusammenarbeit führte schließlich dazu, daß das Institut in Minsk immer mehr zu meiner zweiten wissenschaftlichen Heimat wurde. Mein Buch «Temperatur und Leben, publiziert in der DDR im Urania-Verlag, wurde von Wladimir Kultschitzky in die russische Sprache übersetzt und erschien 2000 in Minsk. Im Jahre 2001 wurde ich von der Medizinischen Universität Minsk zum Ehrendoktor (Dr. h. c.) ernannt. Gleichzeitig erhielt ich alle Rechte eines Universitätsmitgliedes und publizierte meine nachfolgenden wissenschaftlichen Arbeiten unter der wissenschaftlichen Obhut der Minsker Universität.

Zwischen der Gourine-Familie und meinen Angehörigen entwickelte sich schnell eine enge Freundschaft. Im Jahre 1995 begleitete mich meine Frau erstmalig nach Minsk. Wir besuchten den Botanischen Garten, der unmittelbar neben dem Institutsgebäude gelegen ist, streiften durch die herrlichen Parkanlagen der Stadt, fuhren mit der schnellen und preiswerten Metro, wandelten durch die neuerrichtete Altstadt, wurden in die herrlich an einem Stausee gelegene Gourinesche Datscha eingeladen und verlebten gemeinsam schließlich ein Wochenende im Gästehaus am Naratschsee. Bei all diesen Aktivitäten fiel auf, daß der ansonsten extrem sportliche Valery G. ein merkwürdiges Respekt vor dem Wasser hatte und uns immer dann, wenn mir einige Meter in den See hinausschwammen, mit Blicken, mit Rettungsringen und manchmal auch mit dem Boot mehr oder weniger auffällig verfolgte.

Meine Frau und ich waren auch zu den Feierlichkeiten, die anlässlich des 65. Geburtstages von Valery Gourine stattfanden, eingeladen. Wir hörten uns eine Vielzahl von Toasts an, brachten selbst zwei auf das

Wohl des Jubilars aus, begossen das alles mit gutem Belorussischen Wodka und fuhren schließlich durch Wind und Wetter wieder nach Berlin zurück.

Valery Gourine und seine Frau waren mehrfach in Berlin. Wir zeigten ihnen die Sehenswürdigkeiten der Stadt auf den Straßen und auf dem Wasser. Eine halbtägige Schiffsreise über die Spree und dem Landwehrkanal führte uns vorbei am Bundestag, der East-Site Gallery, und an der Stelle des Landwehrkanales, wo Karl-Liebknecht und Rosa-Luxemburg 1918 ermordet worden waren.. In Erinnerung geblieben sind schließlich ein Tagesausflug nach Potsdam, eine Reise nach Thüringen, einschließlich eines Besuches in Weimar und eines Grillabends auf dem Schloß Beichlingen sowie einer Exkursion zum Landschaftsschutzgebiet am Müritzsee mit Besuch der Seeadlerkolonie sowie dem Bisongehege.

Gourines Söhne Alexander und Andrei waren in Berlin mehrmals unsere Gäste. Als meine Frau und ich im Herbst 2002 zu einem Kongreß nach Oxford führen, bot uns Alexander an, der zu dieser Zeit mit seiner Familie einen Urlaub auf Zypern verbrachte, einige Tage in seinem Haus in London zu wohnen.

Im Sommer 2007 wollten wir einige Tage unseres Urlaubs gemeinsam mit unserer Enkeltochter, die in der Schule auch Russisch lernt, auf der Datscha von Valery verbringen. Wir betrachteten das als eine gute Möglichkeit, sie mit unseren weißrussischen Freunden bekannt zu machen und ihre Kenntnisse der russischen Sprache im aktiven Gespräch mit Muttersprachlern zu üben und zu festigen. Leider mußten wir diese Reise aus persönlichen absagen.

In den letzten Augusttagen 2007 telefonierte ich mit Valery, teilte ihm diese Absage endgültig mit und versicherte ihn, daß wir diesen Besuch im kommenden Jahr nachholen würde. Als ich mich nach seinem Gesundheitszustand erkundigte, meinte er – wie immer bei solchen Gelegenheiten – daß er nicht so schlecht sei.

Offensichtlich hatte er seine Kreislauferkrankung nicht ernst genug genommen. Vor seinem 65. Geburtstag rief er mich an, und fragte ob er bei uns in Berlin mit seiner Frau übernachten könne, da er in eine Klinik im Westen Deutschlands fahren und sich am Herzen operieren lassen müsse. Ich riet ihm dringend, seine berufliche Belastung einzuschränken, da seine zahlreichen Aktivitäten – Leitung des Akademieinstituts, Leiter einer Forschungsabteilung im selben Institut, Leiter des Instituts für Physiologie an der Universität, Leiter der Abteilung für

Grundlagenforschung in der Akademie Institut, Mitglied zahlreicher wissenschaftlicher Gremien in Belarus und Rußland – niemand ohne gesundheitliche Schäden auf die Dauer tolerieren könne, auch dann nicht, wenn er körperlich gut trainiert und durchaus fit sei. Ich sagte ihm auch, daß weniger in seinem Fall mehr sei. Als Physiologe war er sicher der gleichen Meinung.

Die Trauer meiner Familie um Valery Gourine ist tief und echt. Mir bleibt lediglich der Trost, daß es mir möglich war, einen Teil meines wissenschaftlichen und persönlichen Weges gemeinsam mit ihm zu gehen.

IN MEMORY ACADEMICIAN PROFESSOR VALERY NIKOLAEVICH GOURINE

B. Tzschentke

Institute of Biology, Humboldt-University of Berlin, Berlin, Germany

Professor Valery Nikolaevich Gourine, academician of the National Academy of Sciences of Belarus and the Russian Academy of Medical Science, chairman of the Belarus Society of Physiologists, passed away one year ago on the 1st of September 2007, aged 70 years. It is a great loss for the international society of physiologists. From my visits of the Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus as well as numerous international scientific meetings I have known him as a progressive and supportive, but also entertaining and funny person. Under the direction of Professor Valery Nikolaevich Gourine of many years standing, the Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus was developed into an East European centre of research on the field of thermoregulation. Under his aegis international scientific meetings on temperature control in health and disease were organized regularly in Minsk. The presentations of these meetings were published in ambitious proceedings or since 2001 in the new started international scientific journal 'News of Biomedical Sciences'. In June 2006 Professor Valery Nikolaevich Gourine organized the symposium 'Adaptation to Various Ambient Temperatures' on the VIII World Congress of the International Society for Adaptive Medicine in Moscow, Russia, the last time where I met him personally.

Since 1995 an intensive scientific exchange between the Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus in Minsk

and my working group of the Institute of Biology of the Humboldt-University of Berlin, Germany, occurred with the goal to investigate the perinatal development of neuronal hypothalamic thermosensitivity using the bird as a model. The following review, dedicated to the remembrance of the academician Professor Valery Nikolaevich Gourine, is a summary of this more than 10 years research. Parts of this puzzle were investigated, for instance, together with Alexander V. Gourine (influence of Bombesin), Tatiana Petruchuk (inherently neuronal cold-sensitivity) and Katsiaryna Melianchuk (influence of ATP, neuronal development in juvenile ducklings) from the Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus and Valery Dunai (development of neuronal NOergic mechanisms) from the Belarussian State University in Minsk. On the other hand, my former PhD and postdoctoral students Dietmar Basta and Oliver Janke presented there results on the effect of epigenetic temperature adaptation and acute warm or cold load on the development of thermoregulatory mechanisms in birds during the international meetings on thermoregulation organized by Professor Valery Nikolaevich Gourine in Minsk.

The memory about a nice man and great scientist will be in our heart.

Раздел второй

ЦЕНТРАЛЬНЫЕ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ

Среди огромного числа современных функциональных систем, как интегративных образований целого организма, особое впечатление производит динамичный комплекс физиологических механизмов, составляющих аппарат терморегуляции.

В. Н. Гурин



Редактор раздела – профессор В. А. Кульчицкий

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА НА СЕРДЕЧНЫЙ РИТМ У КРЫС ПОСЛЕ БЛОКАДЫ АДРЕНО- И ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ

О. А. Азев, О. Г. Тихонович

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Известно, что подъем температуры тела ведет к увеличению частоты сердечных сокращений (ЧСС) [1; 2]. Изменения ЧСС происходят как за счет внутрисердечных механизмов, так и за счет системных – изменения активности симпато-адреналовой системы и ветвей сердечных нервов. Вклад перечисленных элементов в регуляцию сердечного ритма при различных температурах тела неизвестен.

Предполагалось, что изучение изменений ЧСС и вариабельности сердечного ритма (ВСР) в контроле и при фармакологической блокаде влияний на сердце со стороны ЦНС позволит оценить вклад симпатических и блуждающих нервов в формирование сердечного ритма при различных температурах тела.

Материалы и методы. Исследование проведено на 18 наркотизированных (30 мг/кг нембутала и 500 мг/кг уретана) внутрибрюшинно белых крысах линии Вистар массой 300–350 г. Постоянную глубину наркоза поддерживали путем периодического введения дополнительных доз анестезирующей смеси.

Нагревание животных производился с помощью электрической грелки с контролируемой температурой. Охлаждение обеспечивалось путем обкладывания крыс пакетами со льдом или с хладоагентом. Животных изначально охлаждали до 29 °С, затем размещали в экранированной камере, накладывали электроды для регистрации электрокардиограммы (ЭКГ), включали нагревание и начинали регистрацию. Производилась запись ЭКГ в диапазоне изменения ректальной температуры от 29 °С до 39 °С без введения какого-либо из препаратов. Затем то же самое проводилось с животными после введения им атропина, метопролола или обоих препаратов.

ЭКГ, данные о ректальной температуре и отметки момента инъекций препаратов вводились в компьютер через 12-разрядный аналогово-цифровой преобразователь (ADC-100k/12-8, «Спецприбор», Минск) записывались и обрабатывались с помощью про-

граммы «InputWin», разработанной в Институте физиологии НАН Беларуси.

ЧСС оценивалась путем автоматизированного программного подсчета интервалов между зубцами R-R ЭКГ. Текущее значение ВСР рассчитывалось как модуль разницы длительностей двух смежных кардиоинтервалов.

Блокада парасимпатических входов к сердцу осуществлялась в/б инъекциями 0,4 мл 0,125 % раствора (0,5 мг на одно животное или 1,25 мг/кг) атропина (неизбирательный блокатор м-холинорецепторов), а симпатических входов введением 0,4 мл, 3 % раствора (12 мг на одно животное или 30 мг/кг) метопролола (избирательный, кардиоселективный, β 1-адреноблокатор).

Результаты и обсуждение. Все эксперименты были разделены на две группы в зависимости от линейных или фазных изменений ЧСС при повышении температуры. В первую вошли данные с линейным характером ответов (группа 1, $n = 9$), во вторую с фазным (группа 2, $n = 9$). Данные о ЧСС и ВСР в каждой группе усреднены и представлены на рисунке.

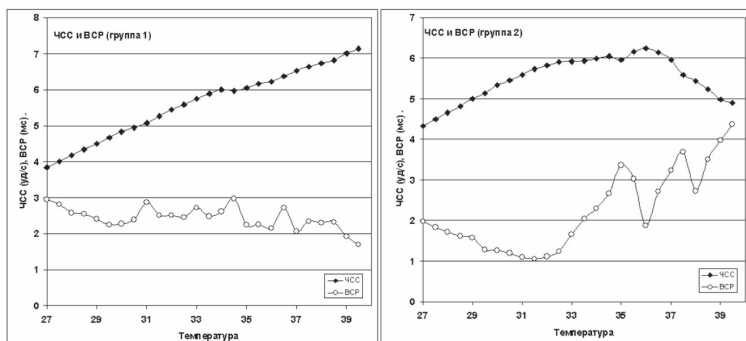


Рис. Изменения частоты сердечных сокращений и вариальности сердечного ритма у двух групп белых крыс. Группа 1 (слева) с монотонным равномерным увеличением ЧСС при нагревании и группа 2 (справа) – с фазным.

Из рисунка видно, что в первой группе животных с ростом температуры наблюдалось снижение ВСР, что свидетельствовало об ослаблении активности в сердечных ветвях блуждающего нерва, оказывающих тормозной эффект на сердечный ритм, и о «растормаживании» сердца. Во второй группе наблюдалось снижение ЧСС в области высоких температур (36 °C – 39,5 °C) на 29 % (с 6,3 до 4,9 уд/с или с 380 до 295 уд/мин), которое сопровождалось

ростом ВСР, свидетельствующим об усилении активности в сердечных ветвях блуждающего нерва и о торможении сердца.

На данном этапе нет возможности объяснить разнонаправленные реакции сердечного ритма и вагусной активности у животных разных групп при повышении температуры тела. Можно лишь предположить, что у животных первой группы имеется дефицит функциональных резервов сердца (например из-за ишемии или очагового некроза миокарда) и для поддержания адекватного кровотока его торможение со стороны блуждающих нервов не требуется. Такое явление могло бы наблюдаться также у ослабленных по каким-либо причинам крыс. Возможно, также, что это связано со статусом животного в стайной иерархии.

Инъекции атропина в первой группе крыс при температурах тела от 29 °С до 34 °С не оказывали никакого эффекта на ЧСС. Это свидетельствует о том, что в сердечных ветвях блуждающих нервов не происходило изменений активности. При температурах от 34 °С до 39 °С сдвиги активности были очень небольшими – при 39 °С инъекция атропина снижала ЧСС на 11,8 %.

Во второй группе крыс при 29 °С блуждающий нерв также слабо реагировал, но по мере роста температуры разница в ЧСС у контрольных и «ваготомированных» атропином животных нарастала и при 30 °С составила 4,2 %, а при 39 °С – 72,7 %.

Таким образом, снижение ЧСС, характеризующее активность блуждающих нервов, у крыс второй группы при высоких ректальных температурах почти в семь раз превышала таковую у животных первой группы.

У крыс первой группы инъекции атропина снижали ВСР очень незначительно и лишь при высоких температурах. У животных второй группы при 39 °С этот показатель уменьшался в 4,9 раза, свидетельствуя о значительном уровне активности в сердечных ветвях блуждающего нерва у крыс второй группы.

Если инъекции атропина вызывали изменения ЧСС только при высоких температурах тела, то инъекции метопролола были одинаково эффективны во всем диапазоне исследованных температур в обеих группах крыс. Они снижали ЧСС в среднем на 28,3 % (от 24 до 31%) у животных первой группы и на 31,1 % (от 29 % до 37 %) во второй группе.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у крыс обеих групп сердечные ветви симпатических нервов активируют

сердце во всем диапазоне температур. Степень возбуждения сердца такова, что его устранение приводит к снижению ЧСС примерно на треть.

Обращает на себя внимание тот факт, что инъекции метопролола увеличивают вариабельность сердечного ритма в среднем в 1,5–2,4 раза (в зависимости от температуры).

Изменения ЧСС происходят как за счет внутрисердечных (в частности, влияние температуры на водитель сердечного ритма), так и за счет системных механизмов – изменения активности симпато-адреналовой системы и ветвей сердечных нервов.

Одновременная блокада симпатических и парасимпатических входов к сердцу метопрололом и атропином фактически денервирует сердце, лишая его как возбуждающих, так и тормозных нервных влияний. В этих условиях изменение ЧСС от температуры будет в основном определяться ее влиянием на нервный аппарат сердца и на гуморальные факторы (количество и активность в крови адреналина, норадреналина, стероидных гормонов и т. д.).

Наши эксперименты показали, что после одновременной блокады симпатических и парасимпатических входов к сердцу метопрололом и атропином ЧСС увеличивается практически линейно с ростом температуры в обеих группах крыс. Из этого можно заключить, что разный характер ответов животных разных групп на нагревание не связан напрямую с симпатической нервной регуляцией поскольку инъекции метопролола производили примерно одинаковый эффект на работу сердца в обеих группах крыс. Тип ответа сердца на нагревание практически полностью определяется характером изменения активности в сердечных ветвях блуждающего нерва.

Список литературы

1. *Гурин, В. Н.* Центральные механизмы терморегуляции / В. Н. Гурин В. Н. – Минск, 1980.
2. *Taylor, E. W. J. Therm. Biol / E. W. Taylor, Y.M. Ihmied.* – 1995. – Vol. 20. – P. 55–59.

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ РАЗМЕРОВ ЗРАЧКА И СЕРДЕЧНОГО РИТМА В УСЛОВИЯХ ЛОКАЛЬНОГО ТЕМПЕРАТУРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Д. А. Александров, В. И. Яновская, А. И. Кубарко

Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь

Регуляция размера зрачка и сердечного ритма осуществляется преимущественно механизмами автономной нервной системы (АНС). Размер зрачка определяется соотношением тонуса преганглионарных парасимпатических нейронов ядра Эдингера-Вестфала среднего мозга и преганглионарных симпатических нейронов боковых рогов спинного мозга на уровне Th_1 . Частота и ритм работы сердца определяются соотношением тонуса преганглионарных парасимпатических нейронов ядра блуждающего нерва продолговатого мозга и преганглионарных симпатических нейронов боковых рогов спинного мозга на уровне $Th_1 - Th_4$. Получены экспериментальные данные о том, что в нормальных условиях частота и ритм сердечных сокращений задаются залпами нервных импульсов, которые поступают к сердцу из ядра блуждающего нерва и модулируются воздействием симпатической нервной системы [2]. Одним из подходов для определения соотношения тонуса симпатического и парасимпатического отделов АНС является оценка вариабельности сердечного ритма (ВСР) по величине коэффициента отношения мощности спектра колебаний низкой частоты к мощности спектра высокой частоты. Однако в ряде работ высказывается сомнение о возможности адекватной оценки состояния тонуса отделов АНС по данным анализа вариабельности сердечного ритма, так как сердечный ритм контролируется не всей АНС, а преимущественно волокнами нейронов АНС грудных сегментов и продолговатого мозга и находится под влиянием минеральных ионов, катехоламинов, глюкагона, тиреоидных и других гормонов [3]. В то же время, имеющиеся определенные сходства и различия в механизмах нервной регуляции размеров зрачка и работы сердца, дают основание, сопоставляя данные об изменении диаметра зрачка и ритма сердечных сокращений, получить дополнительные сведения о том, в какой мере вариабельность сердечного ритма отражает соотношение тонуса отделов АНС.

Цель исследования – изучение вариабельности изменений размеров зрачка и ритма сердца в условиях локального температурного воздействия.

Материалы и методы. Обследовано 15 практически здоровых студентов Белорусского государственного медицинского университета (6 мужчин, 9 женщин; возраст испытуемых составлял от 20 до 22 лет, средний возраст 21,6 год). Исследование световой чувствительности проводилось после 20-минутного периода темновой адаптации в состоянии физического и психологического комфорта испытуемых в соответствии с требованиями по обеспечению воспроизводимости методов количественного исследования сенсорных функций [4]. В качестве локального температурного воздействия (ЛТВ) были выбраны действия тепла и холода на кисть руки.

Исследование изменений размера зрачка проводилось в три этапа с 15-минутными интервалами между этапами: без ЛТВ (контроль); на фоне погружения кисти левой руки в теплую воду, $t = 41\text{ }^{\circ}\text{C}$, время экспозиции 4 мин.; на фоне двукратного погружения кисти левой руки в холодную воду, $t = 4\text{ }^{\circ}\text{C}$, в течение 1 мин. с 2-минутным перерывом. Изменения размера зрачка регистрировали при помощи цифрового фотоаппарата Canon PowerShot A520 в режиме видеокамеры с разрешением 640×480 ppi с использованием щелевой лампы ЩЛ-2Б (объектив $\times 8$, окуляр $\times 8$) в течение 30 с в конце ЛТВ. Видеофайл разбивали на кадры и анализировали вертикальный радиус зрачка (PЗ) в мм на каждом втором кадре (каждые 200 мс).

Для изучения тонуса и реактивности АНС в условиях ЛТВ использовали анализ вариабельности сердечного ритма (ВСР) по нормированным 5-минутным интервалам ЭКГ [1], записанным в ходе контрольного этапа исследования и на фоне ЛТВ. Анализ ВСР осуществлялся с использованием компьютерной программы Бриз-М (ИМО Интеркард, Республика Беларусь). Для оценки состояния АНС использовалась оценка показателей LF, HF, соотношения LF/HF ВСР, отражающих преимущественно состояние тонуса симпатического (СНС) и парасимпатического (ПСНС) отделов АНС и их соотношения, а также оценивалась мощность спектра VLF как показателя, отражающего состояние надсегментарного уровня регуляции [1].

Полученные данные обработаны методами вариационной статистики при 95 %-ом уровне надежности. Анализ соответствия

вида распределения признака закону нормального распределения проводился с использованием критерия Шапиро-Уилка.

Результаты и обсуждение. У подавляющего большинства испытуемых превалирующей реакцией зрачка на воздействие тепла является сужение, а на воздействие холода – расширение (контроль – $1,98 \pm 0,08$ мм; тепловое воздействие – $1,94 \pm 0,07$ мм; холодное воздействие 1 – $2,13 \pm 0,12$ мм; холодное воздействие 2 – $2,15 \pm 0,13$ мм; холодное воздействие в целом – $2,14 \pm 0,12$ мм). Поскольку РЗ при первом и втором погружении руки в холодную воду значимо не отличался, при анализе данных в дальнейшем мы использовали его средние значения во время холодного воздействия. РЗ достоверно различался при воздействии тепла и холода ($P < 0,05$; критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони), однако по сравнению с контролем значимых отличий выявлено не было.

Учитывая, что РЗ находится под преимущественным контролем АНС, полученные данные могут указывать на изменение баланса тонуса АНС при ЛТВ: при действии тепла в сторону ПНС, а на действие холода в сторону СНС. Для проверки данного заключения нами были проанализированы изменения параметров ВСР обследуемых в условиях ЛТВ. Было выявлено значимое увеличение при действии тепла показателя LF (45,9 % (интерквартильный отрезок 25–75 %: 41,1–51,4 %); 50,4 % (43,5–53,1 %)*; 46,1 % (43,2–53,8 %)) и соотношения LF/HF (1,44 (1,14–1,63); 1,66 (1,16–2,06)*; 1,26% (1,10–1,84)). Показатель HF при действии тепла значимо снижался (32,8% (30,3–37,4 %); 30,9 % (26,3–36,2 %)*; 35,7 % (29,2–39,3 %); где * – $P < 0,05$ по сравнению с контролем (критерий Фридмана и Вилкоксона)), а VLF практически не изменялся (21,9 % (18,1–23,9 %); 20,2 % (15,8–21,2 %); 17,8 % (17,0–20,3 %)). Обращает на себя внимание относительно высокая мощность спектра HF (норма (N) 10–30 %) и LF (N 15–45 %) ритмограммы и низкая – VLF (N 20–60 %) компоненты в нашем исследовании (границы N даны по [1]).

Между изменением РЗ и показателей ВСР существует определенная взаимосвязь. Так, хотя при сравнении полученных совокупных данных по трем этапам исследования статистически значимых корреляционных связей выявлено не было, при действии холода определялась значимая умеренной силы корреляционная связь между РЗ и показателем VLF ($r_{PЗ-VLF} = 0,56$; $P < 0,05$, критерий Пирсона). Эти результаты согласуются с данными Р. М. Баевского

о том, что мощность спектра VLF кардиоритмограммы отражает не только активность автономного отдела СНС, но и характеризует систему более сложных влияний со стороны надсегментарного уровня регуляции. По характеру изменения среднего PЗ нами было выделено 4 группы: PЗ уменьшался при тепловом и увеличивался при холодном воздействии – 1; увеличивался, затем уменьшался – 2; прогрессивно уменьшался – 3; прогрессивно увеличивался – 4. Характер изменения PЗ и отношения LF/HF в ходе ЛТВ представлен на рисунке.

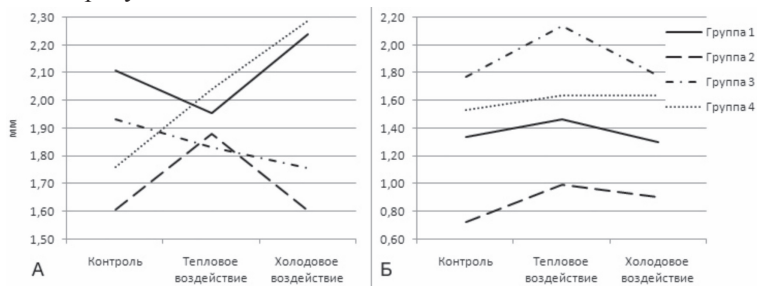


Рис. Изменение PЗ (А) и соотношения LF/HF (Б) в ходе ЛТВ

Как видно, характер изменения PЗ во многом зависит от его исходного уровня, и, вероятно, от исходного тонуса АНС. Так, при его сильном исходном сужении ($r = 1,6$ мм), зрачок отвечал четким расширением на действие тепла (что могло отражать увеличение тонуса СНС) с последующим восстановлением PЗ до исходного уровня при действии холода. При большем исходном PЗ (2,1 мм) наблюдалась противоположная реакция: сужение зрачка на действие тепла и его восстановление до исходного значения на действие холода. При промежуточных значениях PЗ реакция на действие тепла повторяла таковую в крайних группах, а на действие холода была противоположной.

В то же время, независимо от исходного соотношения мощности спектра ВСП (LF/HF) направленность изменений этого отношения была одинаковой: на действие тепла отношение возрастало, что может свидетельствовать о повышении тонуса СНС и его снижении на действие холода.

У трех человек в аналогичных условиях ЛТВ была повторно записана ЭКГ и проведен анализ ВСП. Показана высокая степень воспроизводимости результатов ВСП ($r_{LF/HF1-LF/HF2} = 0,88$; $P < 0,05$, критерий Пирсона).

Выводы:

1. Реакция зрачка на действие тепла и холода зависела от его исходных размеров. Направленность изменения размеров зрачка вероятно отражает соотношение тонуса отделов АНС, прежде всего на уровне среднего мозга и грудных сегментов спинного мозга.

2. Характер изменения соотношения мощности спектров низкой и высокой частоты отражает преимущественно соотношение тонуса отделов АНС на уровне продолговатого мозга и грудных сегментов спинного мозга.

3. Одновременная оценка значений изменения размеров зрачка и ВСР расширяет возможности для более полного и корректного заключения о состоянии тонуса и реактивности отделов АНС.

Список литературы

1. *Баевский, Р. М.* Вестн. аритмол. / Р. М. Баевский [и др.]. – 2001. – № 24. – С. 65–87.
2. *Покровский, В. М.* Клинич. физиол. кровообращения / В. М. Покровский. – 2006. – № 1. С. 22–27.
3. *Хаютин, В. М.* Кубанский науч. мед. вестн. / В. М. Хаютин [и др.]. – 2006. – № 9. – С. 153–160.
4. *Shy, M. E.* Neurology / M. E. Shy [et al.]. – 2003. – Vol. 60. – P. 898–904.

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ NADPH-D, АЦЕТИЛХОЛИН-ЭСТЕРАЗЫ И ФЕРМЕНТОВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА В ОБОЮДНОМ ЯДРЕ КРЫСЫ ПРИ ГИПЕРТЕРМИИ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

В. Н. Бочарова, Е. Н. Савчина

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Известно, что важная роль в поддержании температуры тела принадлежит гипоталамическим структурам головного мозга, содержащим тепло- и холодочувствительные нейроны. Функции модуляторов афферентных и эфферентных сигналов осуществляют другие отделы ЦНС. Наряду с классическими медиаторами (ацетилхолин, моноамины), возбуждающими и тормозными аминокислотами большое внимание уделяется вопросам изучения роли монооксида азота (NO) в регуляции различных физиологических функций [1]. Показано, что NO участвует в центральных механизмах теплообмена при действии пирогенных веществ и высокой внешней температуры [2]. Установлено, что эндогенные пирогены,

образующиеся в организме при системном введении липополисахарида (ЛПС), обладают нейротропным действием [3]. Одним из механизмов их нейротропного действия при системном действии ЛПС является активация рецепторного аппарата афферентных волокон блуждающего нерва в брюшной полости. Участие блуждающего нерва в передаче афферентных сигналов из брюшной полости в ЦНС при развитии лихорадки показано электрофизиологическими исследованиями [4; 5].

Однако в проблеме механизмов, которые вовлекаются в развитие гипертермии, вызываемой системным действием ЛПС и высокой внешней температурой, остается еще много неизученных вопросов. Остается малоизученным вопрос участия NO и холинергических структур обоюдного ядра (*n. ambiguus*) в системных реакциях организма по поддержанию температурного гомеостаза при пирогеновой лихорадке и действии высокой внешней температуры.

Для идентификации NO-продуцирующих нейронов применяется реакция на никотинамид адениндинуклеотидфосфат диафоразу (NADPH-d), которая является маркером NO-синтазы [1]. Фермент ацетилхолинэстераза (АХЭ) принимает участие в гидролизе ацетилхолина и является маркером холинергических нейронов [6].

Цель настоящего исследования – изучить в мозге по цитофотометрическим показателям изменения активности NADPH – d, АХЭ и ферментов энергетического обмена при гипертермии, вызванной системным действием ЛПС и высокой внешней температуры.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 20-ти наркотизированных эфиром крысах – самцах массой 250–300 г. Животные находились в стационарных условиях вивария при температуре воздуха $22 \pm 1,0$ °C со свободным доступом к воде и пище. Экспериментальную лихорадку вызывали внутрибрюшинным введением ЛПС *Escherichia coli* (LPS) в дозе 5 мкг/кг. Контролем служили животные, которым вводили апирогенный физиологический раствор. Материал для исследования брали через 120 мин после введения ЛПС и физиологического раствора. Тепловой стресс вызывали нагреванием животных в хорошо вентилируемой камере при 35 °C в течение 120 мин. Ректальную температуру (РТ) измеряли с помощью трех-канального электронного термометра с миниатюрными терморезисторами СТ3-14, сигнал с которых подавался на цифровой вольтметр В7-38. Объектом ис-

следования служило *n. ambiguus*. После трепанации черепа полностью извлекали головной мозг и выделяли продолговатый мозг. Из области, соответствующей локализации *n. ambiguus* вырезали кусочек ткани, наклеивали на охлажденные блоки, помещали в криостат и готовили серийные срезы толщиной 10 мкм. Расположение *n. ambiguus* определяли на малом увеличении микроскопа с использованием атласа Paxinos, Watson (1992).

Для выявления NO-синтезирующих нейронов использовали методику на NADPH-d Vincent, Kimura (1992), так как она является топомическим маркером степени активности и локализации нейрональной NO-синтазы [5]. Активность ферментов энергетического обмена сукцинат – и лактатдегидрогеназы (СДГ, ЛДГ) определяли на серийных срезах тетразолиевым методом по Пирсу (1962). Активность фермента АХЭ, принимающего участие в гидролизе ацетилхолина, выявляли по методу Ель Бодави и Шенк (1967). Об активности ферментов судили по плотности образующегося осадка формазана для NADPH-d, СДГ и ЛДГ и ферроцианида меди – для АХЭ. Оптическую плотность в цитоплазме нейронов измеряли с помощью цифровой камеры, вмонтированной в микроскоп-фотометр MPV-2 (Leitz), специальных светофильтров (C0 и C4) и предназначенной для этой цели компьютерной программы Scion for Windows, разработанной корпорацией Scion, для обработки и анализа изображений, записанных в файлы с камеры Leica DC 300 F. Результаты опытов статистически обрабатывали с применением критерия Стьюдента. Для гистологического исследования срезы окрашивали по методу Ниссля-Шабадаша (1953).

Результаты и обсуждение. Результаты проведенных исследований показали, что в контроле в *n. ambiguus* присутствуют нейроны с высокой активностью NADPH-d. Цитоплазма таких нейронов была заполнена плотным грубозернистым осадком темно-синего цвета. Наряду с такими клетками выявлялись клетки со слабой и средней окраской цитоплазмы. Форма и размер таких клеток были разнообразными. Нейроны с высокой активностью NADPH-d имели вид вытянутого веретена, треугольника, звездчатую или округлую форму с радиально разветвленными отростками. Отростки от тела клетки начинались утолщением и по мере удаления заметно утончались и разветвлялись. В зависимости от количества отходящих отростков наблюдались уни-, би- и мультиполярные нейроны. Нейроны с высокой активностью NADPH-d в *n. ambiguus* распола-

гались как на значительном расстоянии друг от друга, так и вступали в сложные взаимоотношения между собой, формируя кластеры из двух-пяти и более NADPH-d позитивных нейронов, переплетаясь между собой отростками. Темноокрашенные отростки, отходящие от тел нейронов, отчетливо просматривались на большом расстоянии. Активность NADPH-d выявлялась и в эндотелиоцитах кровеносных сосудов, но она была ниже, чем в нейронах. Полагают, что NO, синтезируемый эндотелиальными клетками кровеносных сосудов, является ключевым фактором релаксации сосудов [7].

В *n. ambiguus* обнаружены нейроны с высокой, средней и умеренной активностью АХЭ. Большинство из них имело высокую активность фермента. Согласно данным авторов [6] в нейронах с высокой активностью АХЭ присутствует и высокая активность холинацетилтрансферазы – фермента, принимающего участие в синтезе АХ. В отдельных нейронах осадок гистохимической реакции и вовсе отсутствовал. В ядре нейроны располагались диффузно. Межклеточное пространство было плотно заполнено АХЭ – позитивными нервными волокнами.

Известно, что нейронная активность связана с клеточным метаболизмом, в котором участвуют окислительно-восстановительные ферменты. Результаты исследования показали, что в *n. ambiguus* преобладает гликолитический путь превращения углеводов.

Через 120 минут после введения ЛПС *E. coli* в дозе 5 мкг/кг в условиях повышения температуры на 1.2 °С активность NADPH-d в нейронах *n. ambiguus* увеличивалась на 25 %. Перикарионы отдельных нейронов были заполнены плотным грубозернистым темно-синим осадком, в некоторых нейронах ядро не контурировалось. Активность фермента повышалась в нервных отростках и эндотелиоцитах кровеносных сосудов. Активность АХЭ в нейронах повышалась на 16 %, ЛДГ – на 40 %, а СДГ – на 38 %.

Через 120 минут после в/б введения ЛПС *E. coli* (5 мкг/кг) в условиях предварительного введения блокатора L-NAME (25 мг/кг) РТ не повышалась в отличие от животных, которым вводили только ЛПС. Активность NADPH-d в нейронах уменьшалась на 33 %.

Приведенные выше данные свидетельствуют о том, что при введении ЛПС в условиях блокады NO-синтазы лихорадочная реакция на эндотоксин ослабевает. Можно полагать, что NO-зависимые механизмы *n. ambiguus* участвуют в системных реакциях организма по поддержанию температуры тела.

Действие высокой внешней температуры 35 °С через 120 мин вызывало повышение РТ в среднем на 1,6 °С. Активность NADPH-d в нейронах и их отростках усиливалась на 30 %. Активность ферментов энергетического обмена в нейронах снижалась: СДГ – на 18 % ($p < 0,05$), ЛДГ на 21 %, АХЭ – на 28 %.

При окраске по методу Ниссля в *n. ambiguus* после введения ЛПС и воздействия высокой внешней температуры выявлялись нейроны, которые приобретали черты умеренно хромофобных клеток. У некоторых клеток по периферии цитоплазмы базофильная субстанция Ниссля была значительно уменьшена, достаточно хорошо окрашена ядерная мембрана ядра и ядрышка. Ядро эктопировано к одному из полюсов клетки. Такое состояние характерно для функционального напряжения клетки.

Таким образом, получены данные, свидетельствующие об усилении активации NO-синтазы в нейронах и эндотелиоцитах *n. ambiguus* как при действии эндотоксина, так и при внешнем нагревании животных. Выявленные разнонаправленные изменения активности АХЭ и ферментов энергетического обмена, вероятно, связаны с разными механизмами температурной регуляции при гипертермических состояниях, вызванных действием ЛПС и высокой внешней температурой.

Список литературы

1. Реутов, В. П. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / В. П. Реутов [и др.]. – М., 1997.
2. Гурин, А. В. Успехи физиол. наук / А. В. Гурин. – 1997. – № 1. – Т. 28. – С. 53–60.
3. Гурин, В. Н. Механизмы лихорадки / А. В. Гурин. – Минск, 1993.
4. Лапша, В. И. Нейрофизиология / В. И. Лапша [и др.]. – 2000. – № 2. – Т. 32. – С. 112–119.
5. Watkins, L. R. *Brain Res* / L. R. Watkins [et al.]. – 1994. – Vol. 639. – P. 283–299.
6. Bruce, J. *Brain Res* / J. Bruce. – 1981. – Vol. 219. – № 1. – P. 190–195.
7. Охотин, В. Е. Морфология / В. Е. Охотин, В. В. Куприянов. – 1996. – № 4. – Т. 110. – С. 17–22.

ХРОНОХИРУРГИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ (НА МАТЕРИАЛЕ КЕСАРЕВЫХ СЕЧЕНИЙ)

*А. В. Бычков¹, И. Н. Семененя², С. М. Хиневиц³,
Н. С. Сердюченко⁴, С. А. Васильев⁵, Т. Б. Бокуть¹, Г. Ф. Цыхун¹*

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Министерство здравоохранения Республики Беларусь

³Центр эстетической медицины «Хиневиц и Ко», Минск, Беларусь

⁴1-я городская клиническая больница, Минск, Беларусь

⁵5-я городская клиническая больница, Минск, Беларусь

В соответствии с методологией хронохирургического исследования [1; 2] и требованиями системного подхода в хронобиологии операций разработана хронохирургическая модель высокого уровня, прогнозирующая эффективность кесаревых сечений в зависимости от времени проведения операций и тяжести клинических ситуаций. Информация для формирования базы данных ($N = 5168$ случаев) взята в 1 и 5 ГКБ г. Минска. Матрица для моделирования состоит из 539 строк. Откликом z (критерием оптимизации) послужила функция, представляющая собой взятый трижды логарифм продолжительности послеоперационного периода: $z = \ln[\ln[\ln(hours)]]$, где $hours$ – послеоперационный период (часов). Модель прогнозирует указанную функцию послеоперационного периода в зависимости от следующих факторов:

t_1 – момент извлечения ребенка, ч (время II пояса в десятичном выражении); диапазон изменения t_1 составляет от 0 до 24 (не включая) ч;

t_2 – сезонное время выполнения операций в десятичном выражении, вычисленное по формуле:

$$t_2 = month + \left[\frac{day - \left(\frac{24 - t_1}{24} \right)}{days_in_month} \right]$$

где $month$ – порядковый номер месяца выполнения операций; day – день (число месяца) выполнения операций; t_1 – время суток в момент извлечения ребенка; $days_in_month$ – количество дней в месяце; диапазон изменения t_2 составляет от 1 до 13 (не включая); t_3 – год выполнения операций (четырёхзначная цифра); диапазон

изменения t_3 составляет от 1996 до 2006; y , % – характеристика тяжести клинических ситуаций (клинического фона), вычисленная по формуле:

$$y = \frac{\sqrt{(urgency \cdot duration)}}{6,962} \cdot 100,$$

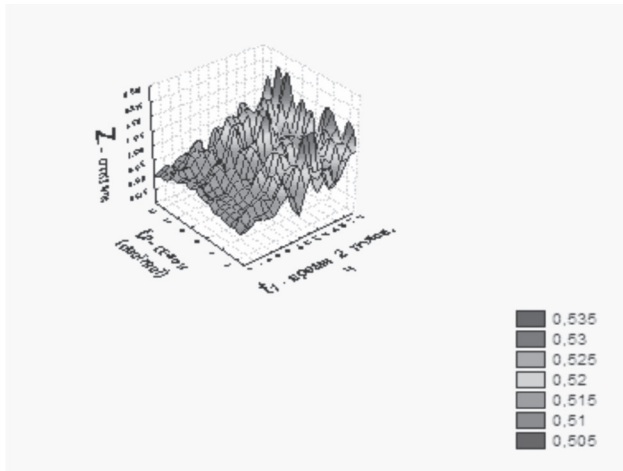
где *urgency* – срочность операций («1» – плановые, «2» – экстренные); *duration* – продолжительность операций, мин; 6,962 – среднее по выборке $N = 5168$ значение y .

Модель характеризуется объясненной дисперсией $R^2 = 0,504$ при 13 оцененных параметрах (модель информативна при $R^2 > 0,5$). $R^2 = 0,504$ означает, что коэффициент парной корреляции, вычисленный с использованием взвешивающей переменной между фактическими значениями функции продолжительности послеоперационного периода $\ln[\ln[\ln(hours)]]$, зафиксированными в 539 точках для моделирования, и соответствующими им прогнозами модели составляет: $r = + 0,710$ ($p < 0.001$, $N = 539$ до взвешивания, $N = 5168$ после взвешивания). Каждый из параметров модели статистически значим ($p < 0.001$). Модель интегрируема, удовлетворяет перечню критериев для оценки качества моделей, предложенным в методологии хронохирургического исследования [1], прошла тестирование по первичным данным [2].

Первый этап тестирования показал следующее. Степень соответствия прогнозов модели фактическим значениям отклика $\ln[\ln[\ln(hours)]]$ в исходной выборке характеризуется коэффициентом корреляции $r = + 0,427$ ($p < 0,001$, $N = 5168$). Подчеркнем, что указанный уровень корреляции превышает максимальную корреляцию между фактическими значениями характеристик в исходной выборке $N = 5168$. Корреляция между годом выполнения операций t_3 и $\ln[\ln[\ln(hours)]]$ составляет $r = - 0,370$ ($p < 0,001$, $N = 5168$); между характеристикой тяжести клинических ситуаций y и $\ln[\ln[\ln(hours)]]$ – $r = + 0,176$ ($p < 0,001$, $N = 5168$). Для сравнения отметим, что прежняя двухфакторная версия модели, разработанная по той же выборке $N = 5168$ при группировке материала по 96 точкам и 9 оцененным параметрам, характеризуется степенью соответствия прогнозов модели фактическим значениям отклика $\ln[\ln[\ln(hours)]]$ в исходной выборке $r = + 0,238$ ($p < 0,001$, $N = 5168$).

Прогнозы модели высокого уровня приведены в естественный вид путем обратного преобразования (потенцирования): $hours =$

$e^{[e^{(e^z)}]}$, где e – основание натурального логарифма, $e = 2,718$ (как указано выше, $z = \ln[\ln[\ln(hours)]]$, $hours$ – продолжительность послеоперационного периода, часов). Визуализация формы поверхности отклика в зависимости от t_1 и t_2 дана на графике.



Из графика видно, что поверхность отклика характеризуется выраженным рельефом. (При отсутствии влияния факторов t_1 и t_2 поверхность отклика приняла бы форму плоскости, параллельной рассматриваемым осям). Наиболее резкий перепад высот имеет место вблизи границы суточных циклов: самые высокие отметки соответствуют интервалу $t_1 = 23-24$ ч, самые низкие – интервалу $t_1 = 0-4$ ч. Для интервала t_1 , соответствующего второй половине суток, рельеф более выражен: здесь расположены более высокие участки и имеют место более резкие перепады высот. При изменении сроков сезона t_2 изменяется форма зависимости отклика от времени суток t_1 , что свидетельствует о существовании взаимодействия между факторами t_1 и t_2 .

Ниже приведены интегральные, полученные путем вычисления определенного интеграла, прогнозы отклика.

Интегральные прогнозы продолжительности послеоперационного периода для интервала изменения t_1 0–24 ч (в расчете на 1-часовой интервал) при $t_2 = 1,5$ (середина января), $t_2 = 2,5$ (середина февраля), $t_2 = 3,5$ (середина марта), $t_2 = 4,5$ (середина апреля), $t_2 = 5,5$ (середина мая), $t_2 = 6,5$ (середина июня), $t_2 = 7,5$ (середина июля), $t_2 = 8,5$ (середина июля), $t_2 = 9,5$ (середина сентября), $t_2 =$

10,5 (середина октября), $t_2 = 11,5$ (середина ноября), $t_3 = 12,5$ (середина декабря) составляют соответственно (часов): 210 (январь, $n = 378$), 216 (февраль, $n = 395$), 210 (март, $n = 403$), 210 (апрель, $n = 342$), 211 (май, $n = 372$), 205 (июнь, $n = 515$), 206 (июль, $n = 526$), 209 (август, $n = 465$), 210 (сентябрь, $n = 468$), 211 (октябрь, $n = 382$), 208 (ноябрь, $n = 476$) и 209 (декабрь, $n = 446$). Прогнозы по месяцам получены при среднем по матрице для моделирования значения $t_3 = 2002,7$ и среднем значении характеристики тяжести клинических ситуаций $y = 100,0$ %. Как видим, разница в прогнозах модели по месяцам составляет 11 ч, т. е. месячные прогнозы довольно однородны. Некоторое сокращение послеоперационного периода, возможно, имеет место в июне–июле.

Для сравнения отметим, что интегральные прогнозы продолжительности послеоперационного периода для 2-часовых интервалов t_1 (0–2, 2–4, 4–6, 6–8, 8–10, 10–12, 12–14, 14–16, 16–18, 18–20, 20–22, 22–24 ч), усредненные по месяцам, изменяются в пределах 202–223 ч. Разница в прогнозах для указанных интервалов t_1 составляет 21 ч. Усреднение по месяцам выполнено путем вычисления среднего арифметического для 12 прогнозов, полученных при указанных выше значениях t_2 , соответствующих серединам каждого из 12 месяцев, при $t_3 = 2002,7$, $y = 100,0$ %.

Таким образом, согласно прогнозам модели влияние сезона проведения рассматриваемых операций на продолжительность послеоперационного периода менее выражено, чем влияние времени суток.

Обратим внимание на следующий методический момент. Прогнозы регрессионных моделей для центра факторного пространства наиболее точны. Среднее значение t_2 по рассматриваемой системе составляет 7,213. Однако значение $t_2 = 7,213$, соответствующее центру рассматриваемого факторного пространства, характеризует время года, относящееся к началу июля, т. е. отражает частный случай. Из данного примера видно, что при расчете обобщенных (взятых при усреднении прочих факторов) прогнозов для интервалов t_1 методически оправдано именно усреднение по всем 12 месяцам, а не взятие среднего значения t_2 по рассматриваемой системе.

При изучении прогнозов модели на уровне полуциклов t_1 0–12, 12–0 ч (время II пояса, соответствующее зимнему в РБ) при $t_3 = 2002,7$, $y = 100,0$ % обнаружено следующее:

1) для каждого из 12 месяцев имеет место закономерность: при извлечении ребенка в первой половине суток прогнозируемый

послеоперационный период короче, чем таковой при извлечении ребенка во второй половине суток. Средний для 12 месяцев интегральный прогноз послеоперационного периода для t_1 , приходящегося на первый полуцикл (в расчете на 1-часовой интервал), составляет 204,3 часа (стандартная ошибка $\pm 0,6$ часа, $n = 12$). Для второго полуцикла соответствующая цифра составляет 214,3 часа (ошибка $\pm 1,4$ часа, $n = 12$). Различия между полуциклами значимы ($p < 0,001$). В указанном соотношении полуциклов проявляется согласованность прогнозов модели;

2) для каждого из 12 месяцев вариабельность прогнозов модели для 1-часовых интервалов t_1 в пределах первого полуцикла ниже, чем таковая в пределах второго полуцикла. Оценка вариабельности прогнозов для 1-часовых интервалов по величине стандартного отклонения дает для первого полуцикла стандартное отклонение $\pm 2,0$ часа ($n = 12$), для второго – $\pm 4,9$ часа ($n = 12$).

Более высокая эффективность операций, выполненных в первой половине суток, согласуется с результатами других наших исследований по хронохирургии, выполненных на ботаническом, зоологическом и медицинском материале. В данный момент по каждой из имеющейся в нашем распоряжении баз данных хронохирургические модели дорабатываются в соответствии с требованиями системного подхода (см. ст. в настоящем сборнике). Мы рассчитываем, что после разработки по каждой базе данных моделей высокого уровня станут более определенными выводы о соотношениях полуциклов 0–12, 12–0 ч как в отношении прогнозов, характеризующих эффекты последствия t , так и в отношении вариабельности указанных прогнозов. Вместе с тем нам представляется, уже сейчас есть основания утверждать: выполнение операций хирургического характера биологически оправдано в первую половину суток в ситуациях, относящихся к условной биологической норме (без выраженной хирургической и иной патологии).

Что касается различий в степени вариабельности прогнозов хронохирургических моделей, в зависимости от t , в частности, по полуциклам 0–12, 12–0 ч, такие выводы должны быть подтверждены на другом материале (прогнозами иных моделей высокого уровня). В настоящий момент мы допускаем следующее. Отмеченные выше различия в вариабельности прогнозов по полуциклам t_1 могут иметь объективный характер, а могут быть связаны с неточностью прогнозов рассматриваемой модели вследствие относи-

тельно небольшого количества наблюдений в интервале t_2 , 12–0 ч (основная часть операций приходится на интервал 9–11 ч).

Материал по кесаревым сечениям собран и проанализирован в рамках проекта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований № Б06-273.

Список литературы

1. Бычков, А. В. Нейрогуморальные механизмы регуляции функций в норме и патологии: сб. науч. ст. / А. В. Бычков [и др.]. – Минск, 2007. – С. 280–286.

2. Бычков, А. В. Сигнальные механизмы регуляции физиологических функций: сб. науч. ст. / А. В. Бычков [и др.]. – Минск, 2007. – С. 47–51.

СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД В ХРОНОХИРУРГИИ

А. В. Бычков

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Направления реализации системного подхода в хронохирургии (хронобиологии операций): максимизация количества рассматриваемых факторов и опорных точек (детализация матрицы) для моделирования; рассмотрение комплексных (составных) предикторов и откликов; стандартизация процедур в рамках моделирования; универсальность (применимость методики разработки-исследования моделей к результатам любых документальных исследований и опытов); состыковка и анализ объединенных однотипных баз данных (по регионам, типам операций и прочим признакам). Эмпирические нелинейные регрессионные оптимизационные модели, отвечающие системе указанных требований, мы называем хронохирургическими моделями высокого уровня (класса).

Эволюция наших подходов в хронобиологии операций связана с переходом от однофакторных моделей с предиктором t (t – время суток в момент операций) к многофакторным (рассмотрение t и предикторов, конкретизирующих клинический/экологический фон), разработкой методологии хронохирургического исследования, тестированием прогнозов моделей по первичным (несгруппированным) данным, повышением класса моделей. Первые 4-факторные хронохирургические модели высокого уровня разработаны нами в мае 2008 г. на материале кесаревых сечений и вивисекции червя *Eisenia foetida* (Sav.). Модель по кесаревым сечениям (см. в на-

стоящем сборнике) построена по 539 точкам при 13 оцененных параметрах (5168 точек после взвешивания, объем выборки $N = 5168$, сжатие данных: $5168/539 = 9,6$ раза). Модель по вивисекции *E. foetida* разработана по исходным экспериментальным данным без группировки по 337 точкам при 12 параметрах.

Последовательность действий разработчика: 1) предварительный анализ (выявление, оценка связей в рассматриваемой системе, испытание, идентификация предикторов, откликов, дисперсионный анализ, оценка необходимости группировки); 2) группировка материала (формирование матрицы для моделирования); 3) разработка модели (поиск уравнения регрессии); 4) оценка модели по критериям качества (адекватности); 5) тестирование прогнозов по первичным данным; 6) исследование прогнозов при различных комбинациях предикторов; 7) формулировка практических рекомендаций по оптимизации рассматриваемых операций.

Если группировка материала необходима, мы используем единый порядок (стандарт) компоновки матриц. Стандарт применим к выборкам равномерным и неравномерным, с полным и неполным охватом рассматриваемых временных циклов, при значительном и небольшом объеме наблюдений, при некоррелированных и коррелированных предикторах, при выраженной и невыраженной вариабельности изучаемых признаков, при рассмотрении любого количества факторов. Стандарт обеспечивает: а) однозначность матриц для моделирования (любая конкретная выборка при заданных параметрах группировки, т. е. заданных группирующих признаках и заданных размерах группирующих интервалов, предполагает одну и только одну конкретную матрицу); б) эффективное сжатие данных (иные варианты группировок не дают столь выраженного увеличения корреляции между предикторами и откликом); в) ослабление степени коррелированности предикторов. Методология хронохирургического исследования предлагает стандартный перечень критериев для оценки качества (адекватности) моделей. Тестирование моделей по первичным данным производится при моделировании по сгруппированному материалу (матрицам) и осуществляется в следующем порядке. На первом этапе вычисляется коэффициент парной корреляции r между фактическими значениями отклика в исходной выборке и соответствующими им прогнозами модели. На втором этапе тестирования на материале исходной выборки оценивается эффективность оптимизации t в группах сравнения,

однородных по клиническому (экологическому) фону. Ввиду выраженной корреляции между прогнозируемым откликом и предиктором (предикторами) клинического фона при любом уровне оптимизации, возникает проблема: случаи, которые соответствуют рекомендуемым моделью прогнозам отклика, характеризуются более легкими клиническими ситуациями, чем случаи, соответствующие нерекомендуемым моделью прогнозам отклика. При указанной сопряженности прогнозов отклика и характеристик тяжести клинических ситуаций нарушается принцип сравнения при прочих равных условиях. Для любого конкретного уровня оптимизации следует подбирать такую структуру групп сравнения, при которой уровни (градации случаев), выделенные по величине прогнозируемого отклика, значимо не различаются по клиническому фону. Тогда случаи, приходящиеся на рекомендуемые моделью прогнозы отклика, находятся примерно в таких же (сопоставимых) условиях, как и случаи, приходящиеся на нерекомендуемые моделью прогнозы отклика. При правильной организации групп сравнения случаи, характеризующиеся рекомендуемыми моделью значениями прогнозируемых откликов, должны выгодно и значимо отличаться по величине фактических откликов от соответствующих им случаев, характеризующихся нерекомендуемыми моделью значениями прогнозируемых откликов. Если проблема сопряженности прогнозов отклика и клинического фона не решается при использовании наиболее естественных факторных группировок первичного материала, рекомендуем увеличивать детализацию групп сравнения до тех пор, пока не будет достигнута сопоставимость случаев, выделенных по величине прогнозов отклика. Базовым и, по-видимому, оптимальным для проведения данного этапа тестирования является 100%-ый уровень оптимизации (в исходной выборке сравниваются случаи, которые характеризуются значениями прогнозов отклика ниже и выше среднего). На третьем этапе тестирования те же группы, которые рассматривались на втором этапе, сопоставляются по моменту t . При правильной организации групп сравнения эффективность оптимизации подтверждается наличием значимых различий указанных групп по величине t .

Лежащие в основе концепции хронохирургии эмпирический принцип и системные требования, в частности, стандарт тестирования моделей по первичным данным, определяют технологию разработки моделей. Количество фактических точек, описывае-

мых моделью, соотнесенное со степенью детерминированности конкретной рассматриваемой системы, становится критерием для оценки качества модели (детерминированность оценивается по параметрам корреляции в рассматриваемой системе). Интегрируемость моделей становится желательным, но необязательным условием (компьютерный расчет позволяет интегральные оценки откликов для тех или иных пределов изменения предикторов, заменить точечными оценками при любой детализации рассматриваемых интервалов, например, 100 или 1000 точек на 1-часовой интервал t). Введение левых и правых псевдоточек в целях замыкания временных циклов, т. е. достижения сопоставимости значений прогнозов моделей вблизи границ циклов, оправдано, если указанный прием повышает информативность модели (при работе со сгруппированным материалом должны параллельно повышаться информативность и степень соответствия прогнозов первичным данным). Тестирование по первичным данным способствует решению проблемы мультивариантности направлений разработки моделей (на стадии «шлифовки» модели, когда прирост информативности замедляется, резко уменьшается количество вариантов разработки, при которых одновременно повышается информативность и степень соответствия прогнозов первичным данным). Проведение тестирования уменьшает жесткость требований к отсутствию коррелированности предикторов.

С нашей точки зрения, стандартизация необходима в вопросах, связанных со степенью детерминированности рассматриваемых систем. К такому кругу вопросов относятся следующие. При каком уровне корреляции между фактическими значениями отклика в исходной выборке и соответствующими им прогнозами считать модель адекватной? Корреляция между фактическими значениями отклика в исходной выборке и соответствующими им прогнозами модели должна быть теснее, чем корреляция между фактическими откликами в исходной выборке и тем из предикторов, который наиболее тесно коррелирует с откликом. Возможно, минимальным (критическим) уровнем корреляции здесь следует считать $r \sim \pm 0,4$. При каком минимальном (критическом) уровне корреляции между предикторами и откликом в выборке показана разработка моделей по несгруппированному материалу? Наш опыт позволяет предложить здесь в качестве стандарта $r \sim \pm 0,5$. В ситуациях, когда группировка необходима, какой минимальный (критический) уровень

корреляции допустим между откликом и предиктором, наиболее тесно коррелирующим с откликом в матрице для моделирования? Представляется, что в качестве стандарта здесь можно также предложить $r \sim \pm 0,5$. Если по матрице получаем $r < \pm 0,5$, можно сначала попытаться преобразовать те или иные характеристики, например, прологарифмировать. Если путем преобразования данных стандартный уровень $r \sim \pm 0,5$ не достигается, следует уменьшить детальность группировки (увеличить степень сжатия данных).

При изучении моделей высокого уровня для каждого рассматриваемого фактора важен корректный подход к получению интервальных и точечных прогнозов отклика, усредненных по остальным факторам. На первый взгляд, наиболее естественным кажется усреднение посредством использования средних по матрице для моделирования значений предикторов (прогнозы любой регрессионной модели для центра факторного пространства наиболее надежны). При изучении моделей высокого уровня такая оценка представляет собой лишь частный результат и корректна, по видимому, только в случае отсутствия в рассматриваемой системе выраженных факторных взаимодействий.

В отношении эмпирических хронохирургических моделей, которые рассматривались нами до сих пор (ранее мая 2008 г.), следует однозначно считать неправомерной экстраполяцию прогнозов, выходящую за пределы, соответствующие диапазонам фактических значений предикторов. С нашей точки зрения, в отношении моделей высокого уровня указанный вывод неочевиден. По идее, в категории моделей высокого уровня повышение класса модели должно увеличивать возможности экстраполяции. Мы предполагаем, что в ряде ситуаций модели высокого уровня позволяют умеренную экстраполяцию по какому-либо одному фактору (не по нескольким факторам одновременно).

Универсальность (широкая применимость) методики как элемент системного подхода не требует от исследователя каких-либо специальных усилий, т. к. определяется объективным существованием предмета хронохирургии. Поскольку динамика устойчивости любых биологических объектов к воздействиям хирургического характера подчиняется временным закономерностям, сферой приложения методов хронобиологии операций могут быть любые отрасли науки и практики, имеющие отношение к биологическим системам и связанные с воздействиями на эти системы факторов

хирургического плана. Базы данных для формализации методами хронохирургии могут формироваться на основе информации, фиксируемой в документации, которая сопровождает деятельность человека в области хирургии, трансплантологии, в частности, с использованием стволовых клеток, вспомогательных репродуктивных технологий, разработки вакцин, биотехнологии, ветеринарии, племенного дела, сельского, лесного хозяйства и т. д. Наряду с комплексом обычно заносимых сведений базы данных должны содержать точную информацию о моментах проведения операций: времени суток, дате, месяце, годе.

В целях выяснения устойчивости эффектов t , оценки наличия/отсутствия взаимодействий эффектов t и географического фактора проведения операций, определения места факторов t в системе иных действующих факторов глобального характера (географических, генетических, климатических, демографических) исследования по хронобиологии операции должны дублироваться по регионам. Параллельно однотипные базы данных состыковываются, объединяются и анализируются в системе с использованием блоков (по регионам, типам операций и прочим признакам).

С повышением уровня моделей увеличивается актуальность использования суперкомпьютерной техники. Время, затрачиваемое на выполнение каждого шага при поиске уравнения регрессии, пропорционально сложности (громоздкости) модели, т. е. количеству оцениваемых параметров и сложности функций при каждом из таких параметров. Наш опыт разработки нелинейных хронохирургических моделей показывает, что возможности стандартных РС находятся в пределах 15–25 оцениваемых параметров.

Таким образом, ориентирами хронохирургии являются: системность, факторный подход, выявление и учет наиболее существенных связей в рассматриваемых системах, эффективное сжатие данных посредством группировки материала, разработка, внедрение стандартов на всех этапах моделирования-исследования прогнозов, достижение разумного компромисса между адекватностью описания матриц для моделирования и уровнем соответствия прогнозов моделей первичным данным. Система получения и использования знаний в хронохирургии обеспечивает: адекватный подход к материалу, расширение круга рассматриваемых задач, повышение эффективности исследований. Внедрение системного подхода способствует становлению хронобиологии операций как точной научной дисциплины.

МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА У КРЫС И КРОЛИКОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОСТОЯНИЯ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ И ВЫРАЖЕННОСТИ ЭНДОТОКСИНЕМИИ

Ф. И. Висмонт

Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь

Общеизвестно, что ведущим универсальным звеном в патогенезе нарушений жизнедеятельности при экстремальных состояниях организма и различных заболеваниях как инфекционной, так и неинфекционной природы является токсинемия, выраженность которой во многом предопределяется активностью детоксикационной и эндотоксинэлиминирующей функций гепатоцитов и клеток Купфера [3; 4].

В последние годы установлено, что печень играет важную роль в образовании и деградации физиологически активных веществ белковой и пептидной природы, участвующих в регуляции температуры тела. Показана тесная взаимосвязь между функциональной активностью терморегуляторных структур мозга и уровнем в крови так называемых белков острой фазы, синтезируемых гепатоцитами [1; 2]. Выявлено, что от функционального состояния печени зависит и активность процессов метаболизма йодсодержащих гормонов щитовидной железы [6], участвующих в регуляции температуры тела [5].

Однако изучение роли бактериальной эндотоксинемии, детоксикационной и эндотоксинэлиминирующей функций печени в формировании тиреоидного статуса и регуляции температуры тела не было предметом специального исследования.

Целью проводимых нами исследований было выяснение значимости фактора детоксикационной функции печени и эндотоксинемии в терморегуляции.

Материалы и методы. Объектом исследования были беспородные крысы и кролики, изолированная из организма печень, смешанная кровь, а предметом исследования – процессы терморегуляции, детоксикации, обмена белков плазмы крови, активность системы гипофиз – щитовидная железа и температура тела. В работе использованы известные модели эндотоксинемии, эндотокси-

новой лихорадки, острого токсического поражения печени СС14, гипер- и гипотиреоза. Для создания модели эндотоксинемии, как и лихорадки, использовали бактериальный липополисахарид (ЛПС) пирогенал или эндотоксин *E. coli* (Sigma, США). О степени эндотоксической интоксикации судили по содержанию в крови веществ группы «средних молекул» (СМ), степени токсичности плазмы крови (СТК) и продолжительности наркотического сна (ПНС).

В плазме крови экспериментальных животных определяли активность ингибиторов протеиназ α_1 -антитрипсина (α_1 -АТ) и α_2 -макроглобулина (α_2 -МГ), содержание методом иммуноферментного анализа интерлейкинов (ИЛ), а также гормонов: ТТГ, три- (T_3) и тетраiodтиронина (T_4) радиоиммунным методом с помощью наборов производства ХОП ИБОХ НАНБ.

Все полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной статистики.

Результаты и обсуждение. В опытах на крысах и кроликах показано, что ЛПС в различных дозах оказывает в организме неоднозначное влияние на процессы терморегуляции и температуру тела. В условиях эндотоксинемии в зависимости от ее выраженности может иметь место как повышение, так и понижение активности процессов энергообеспечения организма, катаболизма белков, процессов детоксикации и температуры тела. Так, введенный в кровотоки ЛПС у кроликов в дозе 0,5 мг/кг или внутривентриально у крыс в дозе 5,0 мг/кг вызывал развитие лихорадочной реакции и повышение температуры тела за счет как активации процессов термогенеза, так и уменьшения теплоотдачи. В дозе 20 мг/кг и более ЛПС вызывал эндотоксиновый шок, приводил к снижению температуры тела и к развитию гипотермии.

Опыты показали, что развитие эндотоксиновой лихорадки сопровождается у крыс активацией процессов термогенеза, детоксикации, системы гипофиз – щитовидная железа, повышением активности α_1 -АТ и α_2 -МГ в плазме крови. Установлено, что в выявленных изменениях при эндотоксиновой лихорадке на периферии имеет важное значение повышение содержания ИЛ-6, но не интерлейкина-1 β в крови, а также активности системы гипофиз-щитовидная железа. В опытах на гипо- и гипертиреоидных животных было выявлено, что именно повышение концентрации T_3 в крови имеет важное значение для активации термогенеза и процессов детоксикации.

В условиях эндотоксического шока, выраженной гипотермии и эндотоксинемии имело место снижение детоксикационной функции печени, угнетение тиреотропной функции гипофиза, снижение концентрации T_3 и повышение уровня ИЛ-1 β , но не ИЛ-6 в крови.

Таким образом, были основания полагать, что направленность и характер изменений в процессах теплообмена, их гормонального и гуморального обеспечения при действии бактериального эндотоксина зависят от выраженности эндотоксинемии, состояния детоксикационной функции печени. Как известно, развитие эндотоксинемии зависит не только и не столько от поступления в кровотоки избыточного количества эндотоксинов, сколько от недостаточности антиэндотоксиновой защиты. Подтверждение было получено в опытах с введением ЛПС животным с функциональной недостаточностью печени.

В опытах на кроликах и крысах установлено, что в условиях острого токсического поражения печени CCl_4 (2,0 мл/кг масляного раствора 1:1, интрагастрально) гипертермическая реакция на эндотоксин не возникает. Опыты также показали, что в зависимости от функционального состояния печени, ее детоксикационной функции одна и та же доза ЛПС может привести к повышению температуры тела, не оказывая на нее влияния или вызывая гипотермию. Установлено, что действие ЛПС в условиях предварительной затравки животного CCl_4 усугубляет нарушения в системе гипофиз – щитовидная железа, вызываемые гепатотропным ядом, и сопровождается значительным снижением активности α_1 -АТ в крови. Выявлено, что введение α_1 -АТ (20 мг/кг) в кровотоки приводит к повышению температуры тела, к стойкой и длительной гипертермии. Действие в организме α_1 -АТ сопровождается повышением активности детоксикационной функции печени и системы гипофиз – щитовидная железа.

Известно, что конверсия тетраiodтиронина в триiodтиронин, в основном происходящая в печени, – одно из ведущих звеньев метаболизма тиреоидных гормонов [6]. В связи с изложенными выше данными представляло интерес выяснить влияние гипо- и гипертиреоза на состояние детоксикационной функции печени и формирование терморегуляторных реакций организма у крыс при эндотоксической лихорадке.

Установлено, что направленность и характер изменений в процессах теплообмена и детоксикации в условиях действия бактери-

ального эндотоксина зависит от активности системы гипофиз – щитовидная железа, уровня трийодтиронина в крови. Выявлено, что у гипертиреодных крыс (ежедневное введение в течение 20 дней на 1%-ом крахмальном растворе трийодтиронина гидрохлорида в дозе 30 мкг/кг) действие бактериального эндотоксина сопровождается более выраженной активацией процессов детоксикации и теплообразования и что развитие эндотоксиновой лихорадки протекает с более высокими значениями подъема температуры тела. У крыс с экспериментальным гипотиреозом (ежедневное введение в течение 20 дней на 1%-ом крахмальном растворе тиреостатика мерказолила в дозе 25 мг/кг) развитие лихорадочной реакции на ЛПС характеризуется вялым течением, более низкой активностью процессов детоксикации и энергетического обеспечения организма. Действие в организме пирогенала у таких животных не сопровождается развитием характерных изменений детоксикационной функции печени и содержания трийодтиронина в крови.

Следовательно, есть основания заключить, что тиреоидный статус организма и состояние печени, ее детоксикационной функции, взаимосвязаны и имеют важное значение в поддержании температурного гомеостаза, а также определяют характер формирования терморегуляторных реакций организма на действие бактериального эндотоксина. Выявленные особенности изменения процессов детоксикации и терморегуляции в условиях действия пирогенала при гипо- и гипертиреозе позволяют говорить, что уровень йодсодержащих гормонов в крови, и трийодтиронина в частности, наряду с процессами детоксикации, является важным фактором поддержания температурного гомеостаза и патогенеза эндотоксиновой лихорадки. Есть основания полагать, что и увеличение содержания $\alpha 1$ -АГ в крови является важным фактором в механизмах развития лихорадки, вызываемой бактериальным эндотоксином. Очевидно, что система протеолиза и эндогенных ингибиторов протеиназ крови, определяя уровень «медиаторов» острофазового ответа и лихорадки, может в организме из фактора регуляции стать фактором патогенеза.

Таким образом, полученные данные позволяют заключить, что направленность и характер изменений процессов теплообмена и их гормонального и гуморального обеспечения, возникающих под влиянием бактериального эндотоксина, зависят от функционального состояния печени, ее детоксикационной функции. Учитывая,

что выраженность эндотоксинемии зависит не только и не столько от поступления в общий кровоток избыточного количества эндотоксинов, сколько от недостаточности детоксикационной и эндотоксинэлиминирующей функции печени, есть основания считать, что их недостаточность является ключевой в трансформации эндотоксинемии как физиологического явления в патогенный процесс.

Список литературы

1. Висмонт, Ф. И. Бюл. эксперим. биол. и мед. / Ф. И. Висмонт, О. Г. Шуст. – 2000. Т. 129. – № 7. – С. 39–41.
2. Гурин, А. В. Ингибиторы протеиназ и цитокины крови в механизмах гипертермии при стрессе / А. В. Гурин. – Минск, 2003.
3. Маянский, Д. Н. Патофизиология / Д. Н. Маянский. – 1985. – № 4. – С. 80–86.
4. Яковлев, М. Ю. Успехи соврем. биол. / М. Ю. Яковлев. – 2003. – Т. 3. – № 1. – С. 31–40.
5. Clark, W. G. Pharmacol. Ther / W. G. Clark, J. M. Lipton. – 1983. Vol. 22. – № 2. – P. 249–297.
6. Greg Kelly, N. D. Altern. Med. Rev / N. D. Greg Kelly. – 2000. – Vol. 5. – № 4. – P. 306–333.

НЕКОТОРЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПОСЛЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ *IN VITRO*

С. М. Вишневецкая

Могилевский государственный университет им. А. А. Кулешова,
Могилев, Беларусь

При изучении вопросов, связанных с действием на организм повышенной температуры, мы неизменно обращаемся к работам В. Н. Гурина, который был и всегда останется для нас наиболее авторитетным отечественным специалистом в этих вопросах, выдающимся педагогом и экспериментатором. В своей монографии «Терморегуляция и биологически активные вещества» он упоминает, что реакции организма на сдвиги температуры внешней среды принято делить на три группы: терморегуляторное поведение, изменения вегетативных функций и интенсивности метаболических процессов. Третью группу составляют процессы температурной компенсации – изменения физико-химического состояния мембранных структур и макромолекул, способствующие поддер-

жанию жизненных функций на клеточном уровне [2]. Важнейшую роль в процессах терморегуляции играет кровь, она же является одной из важнейших интегративных систем организма позвоночных животных.

В рамках системного подхода, кроме реакций, направленных на увеличение теплоотдачи, при рассмотрении поведения системы крови в условиях гипертермии необходимо принимать во внимание ранние перестройки составляющих ее элементов. Адаптационные изменения генетической активности интерфазных клеток обеспечиваются на уровне хроматина [3]. Показано изменение характеристик хроматина лимфоцитов цельной крови при 41,7 °С после инкубации в течение 30, 60 и 360 мин [1]. При изучении сопряженных изменений различных клеток крови в ответ на повышение температуры *in vitro* мы обнаружили, что уже через час большинство нейтрофилов цельной крови приобретает апоптотический фенотип (неопубликованные данные).

Целью данной работы являлось выяснение особенностей хроматина лейкоцитов периферической крови после кратковременного теплового шока (42 °С, 15 минут). За выбранный промежуток времени в клетках еще не успевают включиться все механизмы клеточной гибели. Показано также, что этого времени оказывается достаточно для обнаружения ранних изменений структурных параметров хроматина, в частности, после действия химических генных индукторов [3].

Материалы и методы. Для эксперимента была взята цельная кровь с антикоагулянтом из локтевой вены здоровых добровольцев женского (4 человека) и мужского пола (4 человека). Небольшую часть крови исследовали на автогемоанализаторе Abacus (Австрия). Кровь в количестве 1 мл помещали в пластиковые пробирки и инкубировали 15 минут при 42 °С (тепловой шок) и 37 °С (контроль). Мазки крови до и после инкубации фиксировали смесью Никифорова, окрашивали красителем галлоцианин-хромовые квасцы [3] и исследовали методом световой микроскопии (микроскоп AxioImager A1, Carl Zeiss ×1000, NA 0,3). Полученные цифровые снимки лимфоцитов и нейтрофилов (не менее 10 с каждого препарата) в оттенках серого обрабатывали и измеряли с помощью программы ImageJ. Определяли морфологические характеристики ядра и клеток (параметры границ и текстуры, доля гранулярного (ГХ), перигранулярного хроматина и эухроматина (ЭХ), ядерно-

цитоплазматическое соотношение) на улучшенных изображениях. Полученные данные обрабатывались методами непараметрической статистики с помощью программы STATISTICA.

Результаты и обсуждение. У лимфоцитов после 15-минутного теплового шока преимущественно наблюдались гипохромизация ядра, сокращение доли ГХ (достоверность различий по критерию Уилкоксона, $p = 0,093$) и увеличение площади ЭХ ($p = 0,069$). Доля площади, занимаемой ГХ в ядрах лимфоцитов, уменьшалась в пяти случаях из восьми. В остальных трех пробах наблюдалось незначительное увеличение доли ГХ (на 1,9–3,6 %). Изменения ГХ в контрольных пробах по сравнению с исходными значениями не достоверны ($p = 0,67$), доля ЭХ не отличается от таковой до инкубирования ($p = 1,0$). Сколько-нибудь значительных изменений перигранулярного хроматина после инкубирования не наблюдалось. Изменения компонентов хроматина нейтрофилов после инкубации были не достоверны.

Анализ взаимосвязей между морфометрическими параметрами лимфоцитов и нейтрофилов показал обратную зависимость между долей ГХ на изображениях ядер лимфоцитов ($r = 0,69$, $p = 0,06$) и нейтрофилов ($r = -0,8$, $p = 0,01$) после теплового шока и интегральной оптической плотностью (ИОП), а также площадью ядер нейтрофилов. Поскольку ИОП представляет собой сумму оптических плотностей всех пикселей области интереса, то эта двойная зависимость вполне объяснима. Увеличение оптической плотности происходит в основном за счет увеличения числа пикселей, а не их средней оптической плотности, которая, к тому же, после воздействия не претерпевает никаких изменений.

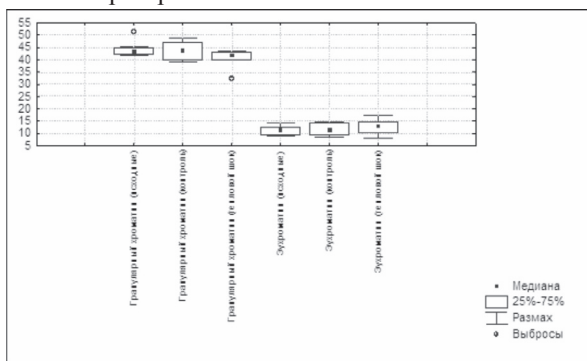


Рис. Компоненты хроматина лимфоцитов, % от общей площади ядра

При изучении корреляций ИОП и площади ядра для отдельно взятых вариантов выявлена их тесная прямая связь. В отличие от лимфоцитов, площадь ядер которых не меняется, у нейтрофилов этот показатель увеличивается после теплового шока, преимущественно в мазках крови доноров мужского пола (изменение достоверно в трех случаях из четырех). Причем, чем больше площадь нейтрофилов до инкубации, тем меньше оказывается площадь их ядра на препаратах после теплового шока ($r = -0,17$ по Спирмену, $p = 0,03$).

Межклеточные взаимодействия между нейтрофилами и лимфоцитами имеют двусторонний характер, однако мнения различных авторов расходятся по поводу того, какую из популяций считать ответственной за возникновение наиболее ранних изменений при функциональных нагрузках. Лимфоциты при активации выделяют в кровь широкий спектр биологически активных пептидных факторов, и это дает основание предполагать их ключевое значение. В качестве аргумента в пользу ведущей роли нейтрофилов в срочных реакциях ряд авторов высказывает предположение о функциональной неоднородности этой популяции, которая служит основой их действия в качестве пускового звена при действии различных экстремальных факторов [4].

После 15-минутного теплового шока цельной крови *in vitro* наблюдаются перестройки хроматина с изменением морфологии как лимфоцитов, так и нейтрофилов. Нами обнаружена обратная зависимость содержания ГХ в ядрах лимфоцитов после теплового шока от коэффициента вариации нейтрофилов по размеру клеток до инкубации, т. е. чем более неоднородной морфологически была популяция нейтрофилов у донора, тем более выражены признаки метаболической активности в ядрах лимфоцитов после действия высокой температуры. Однако размер клеток нейтрофилов не обнаруживает взаимосвязи с размером ядра. Вместе с тем ИОП ядер нейтрофилов после теплового шока оказывается тем меньше, чем больше ядерно-цитоплазматическое соотношение лимфоцитов до инкубации. Эта корреляция характеризуется большей степенью достоверности, нежели вышеупомянутая зависимость между коэффициентом вариации нейтрофилов по размеру клеток и содержанием ГХ в ядрах лимфоцитов после теплового шока ($p = 0,015$ против $0,03$).

ИОП ядер нейтрофилов не зависит от содержания гранулоцитов в крови, взятой для эксперимента. Однако та же оптическая плотность оказывается тем выше, чем выше в крови содержание

лимфоцитов. Данная корреляция ($r = 0,83$ по Спирмену, $p = 0,04$) наблюдается, если не учитывать два случая, считая их отклоняющимися от общей закономерности. Оба этих случая (один донор женского, один мужского пола) имеют свои особенности, позволяющие высказать некоторые предположения о природе таких отклонений. В первом случае в крови у донора после теплового шока определялось с большой вероятностью очень высокое содержание ЭХ по сравнению с нулевой точкой и достоверное снижение ГХ в ядрах лимфоцитов, что резко отличало этот вариант от всех остальных. Во втором случае исходная доля ГХ в ядрах лимфоцитов была очень высокой (51 %, тогда как обычно встречается содержание около 40 %). У первого донора при низком содержании лимфоцитов определяется самая высокая ИОП, у второго ИОП была наиболее низкой в выборке.

Таким образом, лимфоциты после теплового шока имеют морфологические признаки метаболической активации. Ядра становятся более светлыми, практически не меняются по размеру, у них снижается ИОП, доля ГХ и повышается доля ЭХ. Ядра нейтрофилов, напротив, расширяются, растет их ИОП. Поскольку мы не занимались изучением молекулярно-биохимических аспектов этих явлений, наши выводы могут оказаться поспешными. Известно, что хотя реакция организма на тепло не требует интенсификации энергетического обмена с неизбежным увеличением теплопродукции, при развитии гипертермии зачастую возрастают затраты на работу отдельных органов, а также на реакции, обеспечивающие динамическую адаптацию. Особое значение для сохранения жизнеспособности имеют процессы, направленные на поддержание сопряженной деятельности функциональных систем организма [2]. Одним из механизмов, обеспечивающих структурное и функциональное единство организма, принято считать иммунологическую реактивность. Исходя из этих положений, перестройки хроматина лимфоцитов и нейтрофилов в данном случае предпочтительно считать имеющими отношение к адапционным реакциям на клеточном уровне.

Список литературы

1. Акулч, Н. В. Гомеостазис: анализ концепции с точки зрения межклеточных взаимодействий / Н. В. Акулч, Н. Г. Кручинский. – Могилев, 2004.
2. Жукоцкий А. В. Микрофотометрический анализ интерфазных ядер гепатоцитов в норме и при функциональных нагрузках: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1984.

3. Нейтрофил и экстремальные воздействия / А. Н. Гребенюк [и др.]. – СПб., 1998.

4. Гурин, В. Н. Терморегуляция и биологически активные вещества крови / В. Н. Гурин, А. В. Гурин. – Минск, 2004.

ВЛИЯНИЕ АКТИВАЦИИ ИЛИ БЛОКАДЫ ЦЕНТРАЛЬНЫХ АДЕНОЗИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ТЕМПЕРАТУРУ ТЕЛА У КРЫС

Ю. В. Гайкович

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

В литературе имеются данные, свидетельствующие о том, что аденозин выполняет важные функции нейротрансмиттера и/или нейромодулятора в центральной нервной системе. Показано, что аденозин способен вовлекаться в центральные механизмы регуляции сердечной деятельности, тонуса сосудов, а также дыхания, изменения показателей которых обеспечивают регуляцию теплообмена живого организма.[3; 5; 6]. Имеются экспериментальные свидетельства того, что АТФ, основной предшественник аденозина, способен вовлекаться в центральные механизмы регуляции температуры тела в различных температурных условиях и при эндотоксической лихорадке [2]. Однако проблема участия аденозина в центральных механизмах терморегуляции мало изучена.

Задачей настоящего исследования было изучить изменения температуры тела в условиях активации или блокады центральных аденозиновых рецепторов.

Материалы и методы. Опыты выполнены на 107 взрослых (массой 230–300 г) крысах линии «Вистар». Все эксперименты проводились в специально оборудованном термостатируемом (25 ± 1 °С) помещении с автоматически регулируемым световым (6° – 18° : день/ 18° – 6° : ночь) и вентиляционным режимом. Перегревание крыс осуществляли путем повышения температуры воздуха в камере до 35 °С в течение 2 часов до введения препарата и 3 часов после.

Регистрацию глубокой температуры тела осуществляли при помощи телеметрической установки «Minimitter» (США) ($\pm 0,01$ °С), состоящей из телеметрических датчиков, имплантируемых животным внутривентриально, и приемников, которые принимали от

датчиков сигналы и передавали их на компьютер. Температура чувствительного элемента датчика соответствовала глубокой температуре тела животного.

Введение веществ крысам в полость третьего желудочка осуществляли однократно через предварительно (за 7–10 дней) живленные канюли с помощью микрошприца в объеме 5 мкл. Для изменения активности центральных рецепторов аденозина использовали агонист A1 рецепторов 2-хлороаденозин (CADO) («Sigma», США) в дозе 25 мкг, а также неселективный блокатор аденозиновых рецепторов 8-р (сульфопенил)теофиллин (8-SPT) («Sigma», США) в дозе 50 мкг. Во всех сериях контрольной группы животных вводили искусственную спинномозговую жидкость (иСМЖ). Для воспроизведения общепринятой модели лихорадки использовали эндотоксин – липополисахарид (ЛПС) *Escherichia coli* («Sigma», США), который вводили крысам внутривенно в дозе 50 мкг/кг.

Полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами дисперсионного статистического анализа. Различия сравниваемых показателей считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Опыты показали, что в термонейтральных условиях (25 °С) введение 2-хлороаденозина в третий желудочек мозга крысам приводило к выраженному гипотермическому эффекту. Снижение глубокой температуры тела начиналось сразу же после введения препарата и через 30 мин температура достигала $35,71 \pm 0,32$ °С ($P < 0,05$), что было на 1,9 °С ниже, чем в контроле. В ходе дальнейшей регистрации к 195-й минуте температура тела у опытных животных достоверно не отличалась от температуры тела животных контрольной группы.

Введение блокатора 8-SPT сопровождалось выраженным гипертермическим эффектом. Температура повышалась более чем на 1,0 °С и через 60 мин достигала $38,1 \pm 0,4$ °С ($P < 0,05$). В этих же температурных условиях 8-SPT, введенный в третий желудочек мозга совместно с 2-хлороаденозином, полностью блокировал развитие гипотермии, вызываемой CADO, свидетельствуя о том, что центральное действие аналога аденозина в этих условиях опосредуется через активацию A1 рецепторов.

Введение CADO в 3-ий желудочек мозга в условиях высокой температуры окружающей среды (35 °С) не вызывало достовер-

ных изменений температуры у опытной группы животных по сравнению с контрольной, в то время как блокада центральных аденозиновых рецепторов при помощи 8-SPT проявлялась достоверным повышением температуры тела. К 30-й минуте после введения различие температуры тела у крыс опытной ($38,6 \pm 0,5^\circ\text{C}$) и контрольной ($36,7 \pm 0,3^\circ\text{C}$) групп стало статистически достоверным ($P < 0,05$) и составило $1,8^\circ\text{C}$. На 170-й минуте температура тела у животных экспериментальной группы достигла максимального значения ($39,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$), что было на $2,9^\circ\text{C}$ выше, чем у крыс контрольной группы ($36,5 \pm 0,12^\circ\text{C}$) ($P < 0,05$). Эффект препарата сохранялся в течение всего периода наблюдения (180 мин).

При гипертермии, вызываемой эндотоксином ЛПС *E.coli*, центральное введение САДО на втором пике лихорадки (через 120 мин после внутрибрюшинного введения эндотоксина) сопровождалось снижением глубокой температуры тела у крыс. В течение 90 мин после инъекции препарата температура тела экспериментальных животных снизилась до $37,7^\circ\text{C}$, что было на $0,7 \pm 0,09^\circ\text{C}$ ($P < 0,05$) ниже, чем у животных, которым вводили ЛПС и иСМЖ по той же схеме (внутрибрюшинное введение ЛПС, за которым через 120 мин следовала инъекция в третий желудочек иСМЖ). Через 2 часа наблюдалось восстановление показателей температуры тела опытных животных до уровня показателей в контроле.

Введение в третий желудочек крысам 8-SPT приводило к усилению гипертермической реакции, вызываемой эндотоксином. Повышение температуры в этой группе животных составило в среднем 1°C по сравнению с контрольной группой. Введение 8-SPT за 5 мин до инъекции САДО предотвращало снижение температуры тела, наблюдаемое у крыс при введении агониста без предварительной блокады центральных аденозиновых рецепторов.

В связи с обсуждаемым вопросом большое значение имеют литературные сведения о том, что аденозин в ЦНС выступает, главным образом, в роли тормозного медиатора [5]. Характерно, что аденозин оказывает тормозное влияние на высвобождение многих нейротрансмиттеров, включая, гамма-аминомасляную кислоту (ГАМК), ацетилхолин, серотонин, норадреналин, дофамин, которые в той или иной мере принимают участие в регуляции температуры тела [5]. Кроме того, было показано, что термочувствительные нейроны переднего гипоталамуса обладают способностью изменять электрическую активность под влиянием АТФ, основно-

го предшественника аденозина. АТФ вызывает повышение электрической активности некоторых теплочувствительных нейронов в переживающих срезах переднего гипоталамуса [1]. Учитывая наши данные о том, что CADO (в/ж) вызывает гипотермический эффект у крыс в термонейтральных условиях, можно предположить, что агонист посредством активации A1-рецепторов способен приводить к снижению активности центров теплопродукции ствола головного мозга. Возможно также тормозное влияние CADO на высвобождение из пресинаптического депо различных нейротрансмиттеров, принимающих участие в центральных механизмах терморегуляции. Однако эти предположения нуждаются в дальнейшей экспериментальной проверке.

Список литературы

1. Меленчук, Е. В. Весті НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук. / Е. В. Меленчук, Б. Тшентке, А. В. Гурин. – 2002. – № 2. – С. 26–28.
2. Попутников, Д. М. Новости медико-биол. наук. / Д. М. Попутников [и др.]. – 2004. – № 1. – С. 147–157.
3. Barraco R. A., el-Ridi M. R., Ergene E., Phillis J. W. // Brain. Res. Bull. – 1991. – Vol. 26. – P. 59–84.
4. Braas K. M., Newby A. C., Wilson V. S., Snyder S. // J. Neurosci. – 1986. – Vol. 6. – P. 1952–1961.
5. Dunwiddie T. V., Masino S. A. // Ann. Rev. Neurosci. – 2001. – Vol. 24. – P. 31–55.
6. Herlenius E., Lagercrantz H. // J. Physiol. – 1999. – Vol. 518. – P. 159–172.

ВЛИЯНИЕ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТОГО УГЛЕРОДА НА ТЕРМОРЕГУЛЯТОРНЫЕ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА ПРИ ДЕЙСТВИИ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭНДОТОКСИНА

К. Н. Грищенко, А. Ф. Висмонт

Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь

Известно, что от функционального состояния печени во многом зависит степень эндотоксинемии, а также активность процессов дейодирования йодсодержащих гормонов щитовидной железы [6], участвующих в регуляции температуры тела [1; 2]. В последнее время показана значимость детоксикационной функции печени в терморегуляции и патогенезе эндотоксиновой лихорадки [2]. Од-

нако значение функционального состояния печени, гепатоцитов и звездчатых макрофагов печени (клеток Купфера) в формировании тиреоидного статуса организма и терморегуляции до сих пор остается мало изученным и во многом не ясным.

Целью настоящего исследования явилось выяснение роли гепатоцитов и звездчатых макрофагов печени в механизмах формирования тиреоидного статуса организма и терморегуляторных реакций при действии бактериального эндотоксина.

Материалы и методы. Опыты выполнены на взрослых наркотизированных белых крысах обоего пола массой 130–160 г и кроликах-самцах массой 2,5–3,5 кг. Для создания экспериментальной модели эндотоксиновой лихорадки использовали бактериальный липополисахарид (ЛПС) пирогенал (производства НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи, Россия), который вводили крысам однократно внутривентриально в дозе 5,0 мкг/кг. Острое токсическое поражение печени вызывали однократным интрагастральным введением животным масляного раствора (1:1) четырёххлористого углерода (CCl₄) из расчета 5,0 мл/кг веса крысам и 2,0 мл/кг веса кроликам. Селективную депрессию клеток Купфера (КК) вызывали у животных введением в кровоток раствора гадолиния хлорида (GdCl₃) в дозе 10 мг/кг.

Температуру кожи, как и ректальную температуру, измеряли у крыс с помощью электротермометра ТПЭМ-1. Взятие для исследований крови и ткани печени у животных проводилось сразу после декапитации. Содержание тиреотропного и йодсодержащих гормонов в плазме крови определяли радиоиммунным методом с помощью тест-наборов производства ИБОХ НАН Беларуси.

Все полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной статистики с помощью критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. В опытах на крысах установлено, что внутривентриальное введение животным ЛПС приводит к слабывыраженной гипертермии и активации системы гипоталамо-гипофиз-щитовидная железа. Выявлено, что в условиях пирогеналовой лихорадки, через 120 и 180 мин после инъекции ЛПС, в плазме крови крыс повышается концентрация тиреотропного гормона (ТТГ) на 58,3 % ($p < 0,05$, $n=10$) и 50,0 % ($p < 0,05$, $n = 10$), а уровень трийодтиронина (Т₃) снижется на 40 % ($p < 0,05$, $n = 10$), в то время как содержание тетраiodтиронина (Т₄) повышалось на 24,1 % ($p < 0,05$, $n = 10$)

через 180 мин действия в организме животных бактериального эндотоксина. Содержание ТТГ, T_3 и T_4 в плазме крови у животных контрольной группы ($n = 8$) через 120 и 180 мин после внутрибрюшинного введения апиrogenного физиологического раствора, составляло: $1,5 \pm 0,16$ и $1,3 \pm 0,16$ мМЕ/л, $1,3 \pm 0,15$ и $1,3 \pm 0,14$ нМоль/л, $57,1 \pm 3,35$ и $54,3 \pm 3,11$ нМоль/л соответственно.

Показано, что острое токсическое поражение печени CCl_4 сопровождается угнетением системы гипофиз–щитовидная железа, процессов теплообмена и снижением температуры тела. Так, через 12 и 24 часов после введения CCl_4 ректальная температура у крыс снижалась, соответственно, на $1,2 \pm 0,12$ °C ($p < 0,05$, $n = 12$) и на $1,5 \pm 0,13$ °C ($p < 0,05$, $n = 10$). Длительность гипотермии у животных составляла 1–2 суток. Снижение температуры тела было обусловлено угнетением теплопродукции, а также усилением процессов теплоотдачи. Установлено, что интрагастральное введение животным гепатотропного яда приводит, через 24 и 48 часов после заправки, к снижению в плазме крови по сравнению с контролем (введение в желудок подсолнечного масла) содержания ТТГ, T_3 и T_4 на 42,9 % ($p < 0,05$, $n = 10$) и 43,0 % ($p < 0,05$, $n = 9$), 44,3 % ($p < 0,05$, $n = 10$) и 50,8 % ($p < 0,05$, $n = 9$), 62,7 % ($p < 0,05$, $n = 10$) и 39,6 % ($p < 0,05$, $n = 9$) соответственно.

Учитывая, что КК играют важную роль в инактивации эндотоксинов бактериального происхождения [2; 6], и в образовании целого ряда цитокинов, участвующих в регуляции температуры тела [4], можно было предположить, что в выявленных изменениях температуры тела, тиреоидного статуса организма в условиях поражения печени CCl_4 могут иметь значение и клетки Купфера.

Обнаружено, что действие в организме селективного ингибитора КК $GdCl_3$ [6], сопровождается повышением активности системы гипофиз–щитовидная железа и температуры тела. Так, введение кроликам в кровоток $GdCl_3$ вызывало, через 6 часов после инъекции, повышение ректальной температуры у животных на 0,6 °C ($p < 0,05$; $n = 10$). Введение раствора $GdCl_3$ в краевую вену хвоста у крыс приводило через 12 часов после инъекции препарата к повышению температуры тела на 1,1 °C ($p < 0,05$, $n = 9$) по сравнению с контрольными животными. Угнетение функции КК сопровождалось, через 12 часов после введения в кровоток $GdCl_3$, возрастанием уровня ТТГ и T_3 в плазме крови у крыс ($n = 7$) на 171,4 % ($p < 0,05$) и 46,2 % ($p < 0,05$) соответственно. Концентрация T_4 в

крови в этих условиях была на 38,9 % ($p < 0,05$) ниже по сравнению с животными в контроле.

Таким образом, выполненные исследования дали основание говорить о том, что тиреоидный статус организма и температура тела зависят от функционального состояния печени, активности гепатоцитов и КК в частности. Данные опытов свидетельствуют о том, что в условиях угнетения функции печени CCl_4 и $GdCl_3$ изменяются, и во многом разнонаправленно, процессы теплообмена, активность тиреотропной функции гипофиза и уровень йодсодержащих гормонов щитовидной железы, имеющих значение в терморегуляции.

Учитывая, что в условиях функциональной недостаточности гепатоцитов, вызванной CCl_4 , в крови значительно снижается, а при депрессии КК $GdCl_3$, повышается содержание T_3 , гормона, играющего важную роль в терморегуляции и термогенезе, в частности, уровень которого во многом определяется процессами дейодирования T_4 в печени [3; 5], были основания полагать, что функциональное состояние гепатоцитов и КК может иметь значение не только в механизмах терморегуляции и поддержания тиреоидного статуса в норме, но и в условиях действия в организме эндотоксинов, уровень которых во многом зависит от детоксикационной и эндотоксин-обезвреживающей функций печени.

В опытах на крысах и кроликах установлено, что функциональное состояние гепатоцитов и КК имеет важное и неоднозначное значение в механизмах поддержания температурного гомеостаза, тиреоидного статуса и формирования терморегуляторных реакций организма на действие бактериального эндотоксина.

В условиях поражения печени CCl_4 действие эндотоксина усугубляет нарушения в системе гипофиз–щитовидная железа, вызываемые гепатотропным ядом и не приводит к повышению температуры тела (рис. А). Депрессия клеток Купфера $GdCl_3$ способствует повышению активности системы гипофиз – щитовидная железа на действие эндотоксина и не отражается на развитии эндотоксиновой лихорадки (рис. Б).

Следовательно, полученные данные свидетельствуют о том, что выявленные изменения теплообмена, активности системы гипофиз–щитовидная железа в условиях поражения печени CCl_4 , по-видимому, обусловлены прямым, минуя КК, влиянием CCl_4 на гепатоциты. Более того, выявленные особенности и закономер-

ности терморегуляции в условиях функциональной недостаточности печени дали основание предположить, что уровень йодсодержащих гормонов в крови, и T_3 в частности, является важным фактором поддержания температурного гомеостаза, а депрессия КК – важнейший фактор формирования гипертиреозного состояния организма, повышения детоксикационной функции печени и температуры тела.

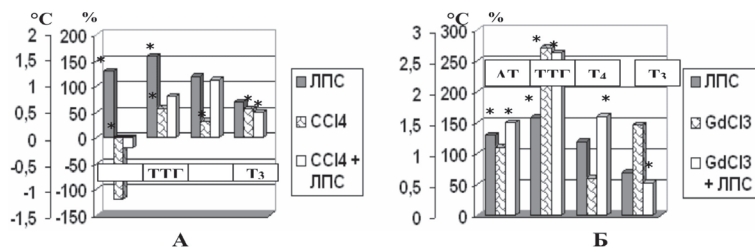


Рис. Изменение температуры тела, а также содержания гормонов системы гипоталамическо-гипофизарно-щитовидная железа в плазме крови через 120 мин после внутрибрюшинного введения ЛПС у крыс, предварительно за сутки получивших интрагастрально масляный раствор СС14 (А) или получивших внутривенно GdCl₃ (Б).

*Изменения достоверны ($p < 0,05$) по отношению к контролю (введение в желудок подсолнечного масла (А) или внутрибрюшинное введение апиригенного физиологического раствора хлорида натрия (Б)).

Список литературы

1. Божко А. П., Городецкая И. В. // Вестн. НАН Беларуси. Сер. биол. наук. – 1998. – № 2. – С. 80–83.
2. Висмонт Ф. И. // Problems of Thermoregulation in Biology and Medicine: Intern. symposium. – Минск, 2004. – С. 61–63.
3. Туракулов Я. Х., Таиходжаева Т. П., Артыкбаева Г. М. // Пробл. эндокринол. – 1991. – Т. 37. – № 4. – С. 44–46.
4. Dinarello C. A. // J. Infect. Diseases. – 1991. – Vol. 163. – № 6. – P. 1177–1184.
5. Kelly G. S. // Altern. Med. Rev. – 2000. – № 4. – P. 306–333.
6. Sehic E., Hunter W. S., Ungar A. L., Blatteis C. M. // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1997. – Vol. 813. – P. 448–452.

СОДЕРЖАНИЕ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМУ СТРЕССУ ПОСЛЕ КОНТРАСТНЫХ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Т. И. Житкевич

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Иммобилизация является одним из мощных стрессорных воздействий. Реакции организма на этот раздражитель изучены достаточно широко. Установлено, что при иммобилизации у животных увеличивается экскреция катехоламинов, кортикостерона [8], усиливаются процессы перекисного окисления липидов, повышается протеолитическая активность крови и тканей организма, что играет определенную роль в развитии катаболической фазы стресса [6]. Ограничение подвижности оказывает выраженное негативное влияние на неспецифические и специфические защитные свойства организма: снижается количество и функциональная активность макрофагов, развивается лейко- и лимфопения, происходит угнетение бласттрансформации лимфоцитов на митогены, наблюдается атрофия тимуса и селезенки [1], снижается антителообразование и противоопухолевая защита организма [7].

Перед биологией и медициной стоит важная задача поиска путей преодоления негативных последствий стрессорных воздействий, неизменных спутников человека в его повседневной жизни и трудовой деятельности. На наш взгляд, наиболее доступным, малозатратным и безвредным способом повышения резистентности организма может быть закаливание при помощи иммерсионных контрастных температурных воздействий (КТВ). Несмотря на то, что подобные воздействия применяются с незапамятных времен, механизм их положительного действия изучен недостаточно. Имеются единичные исследования, свидетельствующие об усилении обменных процессов, тканевого дыхания, активности протеолитических ферментов в ответ на применение указанных гидропроцедур, кратковременные контрастные температурные воздействия оказывают возбуждающее действие на центральную нервную систему [2]. Курс КТВ способствует повышению физической работоспособности у больных гипертонией вследствие повышения адаптивной способности системы кровообращения и организма в целом [5].

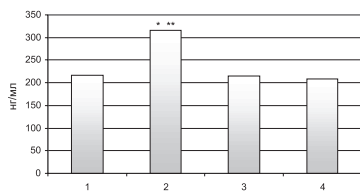
Описанные факты дают основание для предположения о том, что применение КТВ может оказать положительное влияние в условиях действия на организм неблагоприятных факторов различной природы, а также позволит уменьшить негативные последствия стрессорных воздействий.

Исходя из вышеизложенного, целью данного исследования является изучение возможности применения контрастных температурных воздействий с целью уменьшения стресс-реактивности, оцениваемой по уровню кортикостерона в плазме крови крыс, подвергавшихся иммобилизационному стрессу.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 40 половозрелых крысах самцах. Контрастные температурные воздействия осуществлялись в течение 15 суток. Экспериментальная модель включала четыре группы животных (в каждой группе $n = 10$): первая группа – контрольные крысы, животные второй группы подвергались действию иммобилизационного стресса. Иммобилизацию осуществляли путем привязывания животных в естественном положении на животе в течение 6 часов. Третья группа в течение 15 дней подвергалась чередующимся погружениям (по 15 сек) в воду с температурой $+42-45^{\circ}\text{C}$ (7 раз) и $+4-7^{\circ}\text{C}$ (7 раз). В четвертой группе иммобилизация осуществлялась после окончания 15-дневных контрастных водных процедур.

Уровень кортикостерона в плазме крови определяли спектрофотометрически на установке SOLAR.

Результаты и обсуждение. 6-часовая иммобилизация крыс способствовала увеличению более чем на 40 % содержания кортикостерона в плазме крови (рис.).



* – достоверные различия по сравнению с контролем

** – достоверные различия по сравнению с группой КТВ+иммобилизация

1 – контроль; 2 – иммобилизация; 3 – КТВ;

4 – КТВ+иммобилизация

Рис. Содержание кортикостерона в плазме крови крыс после контрастных температурных воздействий и иммобилизационного стресса

Полученные нами результаты согласуются с общепринятыми представлениями о повышении активности гипоталамо-гипофизарной и симпато-адреналовой систем в условиях развития

стресс-реакции на многие виды воздействий. 15-дневные КТВ не приводили к каким-либо заметным сдвигам уровня кортикостерона в плазме крови крыс. Более того, предварительные контрастные температурные воздействия предотвращали рост концентрации данного гормона у животных, подвергавшихся иммобилизации.

Известно, что водные процедуры, применяемые в адекватной методике и дозировке, оказывают благоприятное влияние на нейрорегуляторные механизмы, [2], стимулируя адаптационные возможности, способствуя тренировке и закаливанию организма.

Устойчивость организма к неблагоприятным внешним воздействиям зависит также от эффективности и надежности иммунной системы. Известно, что КТВ положительно влияют на клеточный состав и функциональное состояние иммунокомпетентных клеток у пациентов, страдающих хроническим обструктивным бронхитом [3]. Отмечено усиление экспрессии интерлейкина-1 и интерлейкина-6 у лиц, регулярно совмещающих посещение сауны с плаванием в ледяной воде [9].

КТВ способствуют оптимизации работы сердца, снижению реактивности артериального давления, повышению порога переносимости физических нагрузок, улучшению психоэмоционального статуса больных с вегетососудистыми расстройствами [5]. КТВ приводят к снижению массы тела, улучшению нейроэндокринной регуляции [4]. Согласно полученным нами результатам, предварительные КТВ снижают стресс-реактивность, оцениваемую по уровню кортикостерона в плазме крови у крыс, подвергавшихся иммобилизации. По нашему мнению, КТВ являются элементом антистрессорной защиты, способным ограничивать выброс стресс-гормонов глюкокортикоидов и предотвращать разрушительные для организма последствия действия неблагоприятных факторов внешней среды.

Список литературы

1. Давыдова Т. В., Фомина В. Г., Ветрилэ Л. А., Феденко А. М. // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2004. – № 6. – С. 610–613.
2. Касьянов, И. М. Медицинская реабилитация / И. М. Касьянов И. М. – Пермь, 1998. – Т. 1.
3. Кривоцова, И. Е. Применение контрастных ванн у больных хроническим обструктивным бронхитом: автореф. дис... канд. мед. наук. – М., 1994.
4. Саакян, Ж. М. Применение контрастных ванн, ультразвука и синусоидальных модулирующих токов в комплексном лечении алиментарно-конституционного ожирения: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2001.

5. Сорокина Е. И., Ячменев Н. В., Гончарова О. И. // *Вопр. курортол., физиотер. и леч. физ. культ.* – 1994. – № 5. – С. 4–7.
6. Тарасенко Л. М. [и др.] // *Вопр. мед. химии.* – 1993. – № 3. – С. 8–10.
7. Щербак В. А., Малежик Л. П., Аксенова Т. А., Патеюк А. В. // *Патол. физиол. и эксперим. терапия.* – 2005. – № 3. – С. 6–7.
8. Sudo A., Miki K. // *Ind. Heals.* – 1993. – Vol. 31. – № 3. – P. 101–111.
9. Dugue R., Leppanen E. // *Clin. Physiol.* – 2000. – Vol. 20. – № 2. – P. 114–121.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА НИЗКОЧАСТОТНОЙ ФЕРРОМАГНИТНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Б. Э. Кашевский¹, Ю. П. Истомин², С. Б. Кашевский¹,
Е. Ю. Манина³, И. В. Прохоров¹, В. С. Улащик³

¹ Институт тепло- и массообмена им. А. В. Лыкова
НАН Беларуси, Минск, Беларусь

² РНПЦ онкологии и медицинской радиологии, Лесное, Беларусь

³ Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Ввиду отсутствия кардинального средства лечения раковых заболеваний, в клинической практике находит применение спектр методов, включая хирургические методы, методы химического и физического воздействия. Одним из универсальных приемов лечения рака, в основе которого лежит повышенная чувствительность раковых клеток к температуре, является гипертермия – нагрев всего тела или пораженной области выше температуры 41 °С. Согласно [5] при повышении температуры на каждый градус свыше 42,5 °С необходимое для уничтожения раковых клеток время сокращается вдвое и при 45 °С составляет 15 мин. Поскольку общий нагрев тела до температуры выше 42 °С недопустим, интенсивное тепловое лечение предполагает локальное нагревание опухоли. Используются методы нагрева ультразвуком, лазерным излучением, токами высокой частоты и СВЧ-излучением [2]). Их ограничения связаны с удаленностью источника воздействия от области нагрева и с неоднородностью свойств различных участков тела, что зачастую приводит к непредсказуемому пространственному распределению температуры.

В последние годы изучается возможность использования для гипертермии малых магнитных частиц, вводимых в опухоль и разогреваемых переменным магнитным полем. Практическая реа-

лизация этого метода ставит множество проблем медицинского и физико-технического характера. Концептуальное значение имеет выбор типа магнитных частиц, определяющий механизмы поглощения энергии поля и требования к его характеристикам – частоте и амплитуде. Речь идет о выборе частиц с ферромагнитным или парамагнитным типом намагничивания. Парамагнитные свойства возникают в системе ультрамалых (< 10 нм) ферромагнитных частиц (суперпарамагнетизм), в которых энергия магнитной анизотропии KV (K – плотность энергии анизотропии, V – объем частицы) соизмерима с энергией теплового движения kT (k – постоянная Больцмана, T – абсолютная температура). Существенное поглощение энергии в парамагнитной системе возможно на частотах поля, сравнимых с обратной величиной характерного времени тепловой магнитной релаксации, которое для суперпарамагнитных частиц оценивается соотношением $\tau_N = \tau_0 \exp(\sigma)$, где $\sigma = KV/kT$, а $\tau_0 \approx 10^{-9}$ с – характерное время релаксации магнитных возмущений в ферромагнетике, обусловленное его «магнитной вязкостью». На линейном участке намагничивания, мощность поглощения энергии связана с амплитудой H_0 и частотой $\omega = 2\pi f$ поля соотношением $w \sim H_0^2 \omega^2 \tau_N / (1 + \omega^2 \tau_N^2)$. Отсюда следует, что в зависимости от частоты поля, поглощение энергии нарастает сначала квадратично, а на частотах $\omega \tau_N \gg 1$ достигает предельной величины $w_{max} \sim 1/\tau_N$. Этот результат диктует необходимость применения высоких частот. На практике из-за нарастающего нагрева проводящей биологической среды токами Фуко, частота ограничена сотнями кГц (радиочастотный диапазон), а амплитуда – десятками эрстед. Исследованиям в области гипертермии с применением суперпарамагнитных частиц и радиочастотных полей посвящено значительное число работ [4]).

Наши исследования нацелены на разработку технологии гипертермии с применением ферромагнитных частиц. Условие ферромагнитного поведения малых частиц ($\sigma > 25$) накладывает требование на объем и константу анизотропии частиц. Поглощение энергии в ферромагнитных частицах происходит при их квазистатическом перемагничивании полем с амплитудой, превышающей коэрцитивную силу $H_c \sim K/I_{sb}$, где I_{sb} – намагниченность частицы. Мощность тепловыделения в 1 см³ частиц оценивается соотношением $w = 2fK$. Для типичного значения $K = 10^5$ эрг/см³ она составляет величину $\sim 10^2$ Вт/см³ на частоте 5кГц, на два порядка

меньшей по сравнению с частотой, используемой в случае суперпарамагнитных частиц. Важное преимущество низкочастотной гипертермии состоит в возможности постоянного контроля уровня нагрева с помощью обычных термодатчиков, собственный нагрев которых в полях килогерцового диапазона незначителен.

Для реализации метода создан экспериментальный комплекс, который включает установку для исследования магнитных свойств частиц, а именно, процессов магнитодинамики и поглощения энергии переменного поля в их твердых и жидких дисперсиях [3], а также компьютеризованную установку для осуществления опытов по контролируемой гипертермии опухолей на мелких экспериментальных животных (мыши, крысы) в полях частотой 3,57 кГц и амплитудой до 750 Э. Совместно с Институтом химии новых материалов НАН Беларуси изучается возможность получения магнитных наночастиц с оптимальными свойствами [1]. Разрабатываются теоретические модели для описания температурного поля в области гипертермии и особенностей поглощения энергии в системе подвижных феррочастиц. Изучается влияние переменного магнитного поля на состояние экспериментальных животных, а также биологическая совместимость частиц и их распределение при введении магнитной суспензии в опухоль.

Согласно результатам моделирования нагрева сферической опухоли радиусом R_1 сферическим источником тепла радиусом $R < R_1$, повышение температуры в центре опухоли равно $T_0 = wR^2/2\lambda$, на границе источника нагрева $T_R = wR^2/wR^2 = 2T_0/3$, а на границе опухоли $T_0 = 2T_0R/3R_1$. Здесь w – объемная мощность тепловыделения, λ – теплопроводность тела. Найдено, что масса частиц, необходимая для нагрева границы опухоли на T_1 градусов не зависит от степени заполнения опухоли и определится соотношением $m = 4\pi\lambda R_1 T_1/w'$, где w' – мощность тепловыделения в единице массы частиц. Полученные результаты позволяют оценить необходимое количество частиц и минимальную область опухоли, которую следует наполнить частицами для исключения чрезмерного перегрева ее центра (радиус заполнения не менее $1/2$ радиуса опухоли).

Промышленно производимые частицы с подходящими для низкочастотной гипертермии магнитными свойствами – это частицы для производства магнитных лент. Их типичный представитель – игольчатые частицы гамма-оксида железа длиной $\sim 0,5$ – 1 мкм и толщиной $\sim 0,1$ мкм. Исследование этого материала показало, что

максимальная (в поле амплитудой 750 Э и частотой 3,57 кГц) мощность тепловыделения составляет $w' = 21$ кВт/кг для жидкой суспензии частиц и 7 кВт/кг для твердой. Принимая последнюю величину в приведенной выше формуле и считая теплопроводность тела равной теплопроводности воды, находим, что для нагрева границы опухоли диаметром 1 см на 5 °С необходимо ввести 0,03 г частиц. Полученная оценка отвечает асимптотическому установлению стационарной температуры. Для быстрого выхода на режим и возможности работать не на максимальной амплитуде поля, массу частиц следует увеличить до $\sim 0,1$ г. Заметим, что необходимая масса частиц пропорциональна радиусу опухоли. Следовательно, относительное содержание частиц (на единицу массы опухоли) с увеличением ее линейного размера уменьшается как $1/R^2$.

Для получения магнитных частиц нанометрового размера используется метод химического соосаждения из раствора солей железа и кобальта [1], позволяющий получить нанокристаллы феррита кобальта с зависящей от содержания кобальта величиной коэрцитивной силы.

Для изучения распределения частиц в тканях и их токсичности использовались самки мышей линии Af 2–3-х месячного возраста. Токсичность изучали при приеме порошков гамма-оксида железа и феррита кобальта внутрь и при подкожном введении их суспензий в гемодезе. Масса вводимых частиц с учетом приведенной выше оценки составляла 0,3 г. При скормливании порошка животным отклонений от нормы в их внешнем виде и поведении не наблюдали. Не выявлено токсического действия (признаки некроза или воспаления) препарата и при подкожном введении. При вскрытии животных через 1,5 месяца изменений в близлежащих тканях не обнаружено. Для выявления распределения частиц в опухоли использовали гипердиплоидный штамм асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ). В опухоль размерами 0,8–1 см вводили 0,5 мл суспензии частиц. Через 1, 2 или 5 суток мышей вскрывали, вырезали опухоль и фиксировали ее 10 %-м формалином или замораживанием при -18 °С. Наилучшие результаты получены для наночастиц феррита кобальта. В этом случае препарат распределяется равномерно по всему объему опухоли.

Поскольку по теплопродукции полученные к настоящему времени частицы феррита кобальта заметно уступают частицам гамма-оксида железа, эксперименты по гипертермии опухолей АКЭ на мышцах начаты с последними. Проведена серия экспериментов с

опухолями объемом от 0,3 до 2 см³. Суспензия частиц вводилась в центр опухоли. Температура измерялась двумя термометрами, одна в центре опухоли, а другая – в ее нижнем или верхнем (под кожей) полюсах. Ее показания использовались в системе обратной связи установки, которая автоматически регулирует режим воздействия поля, поддерживающий температуру в полюсе на заданном уровне (42 °С). При этом температура в центре достигала 55–60 °С. Типичное время выхода на режим составляло 10 мин, время в режиме – 20 мин. Результаты опытов состоят в следующем. Животные с объемом опухоли менее 1 см³ (до 5 % массы тела) процедуру выдерживают. С дальнейшим увеличением объема опухоли учащаются случаи гибели, при объеме около 2 см³ (10 % массы тела) практически все животные погибают или в процессе нагрева или на следующий день. Результат опытов изучался по степени некроза, которая оценивалась методом прижизненной окраски тканей синькой Эванса. При этом погибающая в результате гипертермии область опухоли сохраняет красный цвет, выжившая окрашивается в синий. Как оказалось, опухоли размерами ~ 0,5 см³ полностью коагулируют и изучение их состояния этим методом невозможно. В опухолях объемом около 1 см³ некрозом охвачено от 80 до 100 % опухоли. Это зависит от характера распределения частиц, которое в ряде случаев оказывается неравномерным. Последнее объясняется агрегированием субмикронных частиц гамма-окиси железа, приводящим к образованию сгустков, проникновение которых в ткани затруднено.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности осуществления контролируемой низкочастотной гипертермии и указывают на необходимость применения частиц, обладающих более высокой по сравнению с субмикронными частицами гамма-окиси железа способностью проникать в объем опухоли.

Список литературы

1. Агабеков В. Е., Кашиевский Б. Э., Кашиевский С. Б. [и др.] // Докл. НАН Беларуси. 2008. Т. 52, № 2. С. 62–65.
2. Шорт Дж. Г., Тернер П. Ф. // ТИИЭР. – 1980. – Т. 68. – № 1. – С. 157–159.
3. Kashevsky B. E., Prokhorov I. V., Kashevsky S. B. // China particuology. – 2007. – Vol. 5. – № 1–2. – P. 84–92.
4. Pankhurst Q.A., Connolly J., Jones S.K. and Dobson J. // J. Phys. D: Appl. Phys. – 2003. – Vol. 36. – P. R167–R181.
5. Sapareto S. A., Hopwood L. E, Dawey W. C. [et al.] // Cancer Res. – 1978. – Vol. 38. – P. 393–400.

ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОГО СВЯЗЫВАНИЯ АЦЕТИЛХОЛИНА М-ХОЛИНОРЕЦЕПТОРАМИ ГИПОТАЛАМУСА КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР

С. Б. Кондрашова

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

В настоящее время неоспоримым остается тот факт, что важнейшую роль в деятельности центральной нервной системы и вегетативной нервной системы играют холинореактивные структуры, функциональная активность которых сопровождается изменениями количества и эффективности работы их компонентов – ацетилхолина (АХ), холинацетилтрансферазы (ХАТ), ацетилхолинэстеразы (АХЭ) и холинорецепторов (ХР).

Комплексообразование нейромедиатора с рецепторными белками представляет собой пусковую стадию в реализации медиаторного эффекта, поэтому изучение их взаимоотношений имеет решающее значение для понимания путей и механизмов действия медиатора на клетку и природы чувствительности тканей к нейротрансмиттерам в норме и патологии.

Большая часть сведений о рецепторных молекулах, чувствительных к ацетилхолину (АХ) и подобным ему соединениям, была получена более 20 лет назад. С тех пор о молекулах никотиновых рецепторов различных тканей, особенно, поперечно-полосатых мышц и электрических органов известно больше, чем о любых других видах рецепторов и именно они были первыми, которые удалось выделить. Однако в ЦНС численно преобладают М-холинореактивные системы, исследование которых наталкивается на целый ряд принципиальных методических и теоретических трудностей, которые обусловлены чрезвычайно низкой концентрацией рецепторного белка, его значительной лабильностью, гетерогенностью и сложностью функционально-структурной организации. Упомянутые трудности приводят к получению разобщенных и разнонаправленных результатов исследований. В то же время, нет ясности в вопросе о внутримолекулярных перестройках обоих типов рецепторов под действием АХ, которые могут определять быстрое раскрытие ионных каналов и перемещение больших катионов через постсинаптическую мембрану.

Фактически неизученной является проблема медиаторно-рецепторного взаимодействия в условиях влияния на организм различных стрессорных факторов. Вероятно, исследования в этой области смогут дать возможность для анализа и фармакологической коррекции изменений, связанных с нарушением функции нейромедиаторов при экстремальных воздействиях.

Материалы и методы. В опытах использовались крысы-самцы весом 180–200 г. Животных подвергали охлаждению в термостатированной камере при температуре 10 °С и 5 °С в течение 30 мин и 60 мин соответственно. Температуру тела измеряли до и после воздействия. Контролем служили интактные животные, находившиеся при комнатной температуре. Специфическое связывание определяли с помощью радиоизотопных методов [4] на препаратах грубой фракции мембран. К 20 мкМ свежеприготовленного препарата мембран добавляли ³H-АХ хлорид в концентрации 0,2 мМ со специфической активностью 3,7 Кю/мМ. Радиоактивность подсчитывали на сцинтилляционном счетчике. Специфическое связывание определяли путем расчета разности между общим и неспецифическим связыванием и выражали в фемтомолях / мг белка и в % по отношению к контролю. Концентрация белка определялась по методу Лоури [5].

Результаты и обсуждение. Полученные результаты показывают, что охлаждение животных при температуре окружающей среды 10 °С приводит к падению температуры тела через 30 мин воздействия на 1,6 °С, а через 60 мин на 2 °С. При этом на 50 % (по сравнению с контролем) снижался и процент связывания (рис.).

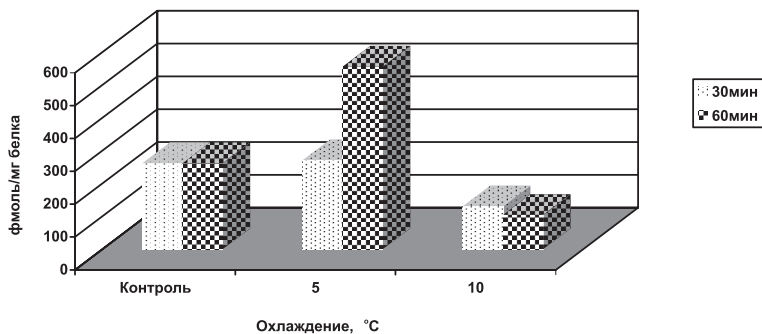


Рис. ³H-АХ мХР гипоталамуса крыс при охлаждении

Он составил 131,0 фмоль/мг белка и 104,0 фмоль/мг белка соответственно. В то же время охлаждение животных при темпера-

туре 5 °С в течение 30 мин (температура тела снижалась до 35 °С, контроль 37,9 °С) не вызывало изменений в связывании АХ. Через 60 мин после воздействия температуры данной интенсивности, когда у животных развивалось состояние глубокой гипотермии (температура тела – 34,7 °С) наблюдалось резкое увеличение связывания, достигавшее 566 фмоль/мг белка. Основываясь на результатах исследований ряда авторов [3], можно предположить, что вызванное действием на организм низкой температуры нарушение процесса терморегуляции способно вызывать срыв в наработке и поставке медиатора к рецепторам, а также в состоянии самих рецепторных молекул.

Известно, что м-ХР опосредуют как возбуждение, так и торможение; те и другие ответы имеют большую длительность [6]. Продолжительное присутствие высоких концентраций медиатора около рецепторов приводит к уменьшению плотности их распределения и чувствительности, а истощение запасов медиатора вызывает противоположный эффект [1]. Кроме того, установленные нами изменения в связывании меченого АХ м-ХР при гипотермии могут подтверждать мнение о том, что при патологических состояниях, вызванных стрессорными и другими воздействиями, не только нарушается структура рецепторной субъединицы, но и изменяется строение ее «окружения»: текучесть фосфолипидной фракции, так называемая фосфолипидная матрица [2].

Список литературы

1. *Eldefrawi M. E., Eldefrawi A. T.* // *Biochem. Pharmacol.* – 1973. – Vol. 22. – № 23. – P. 3145–3150.
2. *Farach M., Martinez-Carrion M.* // *J. Biol. Chem.* – 1983. – Vol. 258. – № 7. – P. 4166–4170.
3. *Fatranska M., Oprsalova Z., Kvetnansky R.* // *Physiol. Bohemoslov.* – 1985. – Vol. 34. – P. 415.
4. *Fonnum F.* // *J. Neurochem.* – 1975. – Vol. 24. – P. 407–409.
5. *Lowry J., Rosenbrough N.* // *J. Biol. Chem.* – 1951. – Vol. 193. – P. 265–275.
6. *Nordberg A., Larsson C.* // *Acta physiol. Scand.* – 1980. – Vol. 108. – № 479. – P. 19–2.

АНАЛИЗ СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ НЕКОТОРЫХ ЭНДОКРИННЫХ ОРГАНОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА НА ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ

Т. Е. Кузнецова, Е. Л. Рыжковская

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

В периоде новорожденности, при физиологической и морфологической незрелости, важная роль в формировании приспособительных реакций к действию температурного фактора [2; 4; 5] выпадает на долю гуморальной регуляции, важным компонентом которой являются эндокринные железы. В связи с этим целью настоящего исследования явилось одновременное изучение реакции поджелудочной и половых желез животных в раннем постнатальном онтогенезе при длительном действии повышенных и пониженных температур.

Материалы и методы. Морских свинок с первых суток рождения подвергали воздействию повышенных (+ 30 °С) и пониженных (+ 5 °С) температур в вентилируемой термокамере по пять часов ежедневно в течение одной и трех недель. Оценка состояния паренхиматозных структур органов проводили на основании гистохимического определения СДГ, ЛДГ, НАДН- и НАДФН-ДГ по Лойду. Количественную оценку активности ферментов осуществляли на микроскопе-фотометре MPV-2 (Leitz). Весь цифровой материал подвергали статистической обработке, критерий достоверности определяли по Стьюденту. Электронномикроскопическое исследование яичников проводилось по общепринятой методике Н. Н. Боголепова.

Результаты и обсуждение. *Поджелудочная железа.* После трех недель умеренной гипертермии (+ 30 °С, по пять часов ежедневно) в β -клетках островков Лангерганса регистрируется снижение активности СДГ на 13,7 % ($P < 0,1$) и НАДФН-ДГ на 19,22 % ($P < 0,1$), что свидетельствует о снижении синтеза инсулина в ответ на предъявляемое воздействие. Отмечается падение активности НАДН-ДГ на 27,65 % ($P < 0,01$). Практически не изменяется активность ЛДГ, что подтверждается литературными данными об ограниченности роли гликолиза в инсулярном аппарате поджелудочной железы.

При охлаждении морских свинок в раннем постнатальном онтогенезе наблюдаются заметные сдвиги в метаболизме инсулоцитов. Ежедневное 15-минутное воздействие низких температур (+ 5 °С) в течение недели приводит к незначительному снижению активности НАДФН-ДГ, а также ЛДГ – ключевого показателя гликолиза. Вместе с тем, отмечается подъем активности СДГ – фермента, характеризующего цикл Кребса – на 12,3 %.

Пятичасовое воздействие на протяжении недели приводит к аналогичным изменениям в β -клетках островков Лангерганса, вызывая еще большее повышение активности СДГ (подъем по сравнению с контрольными значениями на 49,48 % ($P < 0,001$)). Продолжение холодовой экспозиции до трех недель по пять часов в день вызывает еще больший подъем активности СДГ – на 57,14 % ($P < 0,01$), более значимое снижение активности ЛДГ (86,66 % по сравнению с контролем ($P < 0,001$)). К трем неделям охлаждения падает интенсивность свечения медиатора в периваскулярных адренергических сплетениях на 12,4 %.

Таким образом, при длительном (три недели) воздействии повышенной температуры (+ 30 °С, 5 часов ежедневно) происходит снижение активности всех изучаемых ферментов энергетического обмена в β -клетках островков Лангерганса новорожденных морских свинок. При этом повышается флюоресценция катехоламинов в органе.

Недельное охлаждение новорожденных морских свинок при температуре + 5 °С по 15 минут и пять часов ежедневно вызывает повышение функциональной активности в инсулоцитах, более выраженное при большей продолжительности действия холодового фактора. При увеличении длительности охлаждения до трех недель при сохраняющейся активации инсулярного аппарата, в отличие от недельного действия холода наблюдается ослабление гликолитических процессов в β -клетках островков Лангерганса.

Яичники. Согласно нашим данным установлено, что яичники зрелорождающихся животных (в наших исследованиях это морские свинки) к моменту рождения являются полностью законченными в своем структурном развитии и отличаются от взрослых лишь меньшими размерами. В паренхиме органа обнаруживаются все те же гормонпродуцирующие структуры (большие растущие фолликулы, атретические тела, интерстициальная ткань) и гормонпродуцирующие клетки (фолликулоциты, текоциты, интерстици-

альные клетки), за исключением желтого тела, которые, как и у взрослых образуют корковый и мозговой слои яичника. Это дает основание рассматривать яичник новорожденных морских свинок как гормонально-активный орган с постоянно происходящими в нем морфофункциональными изменениями.

В связи с этим логично предположить, что реакция фолликулярного аппарата яичников новорожденных морских свинок на длительное воздействие температурного фактора на организм животного с первого дня рождения будет такой же, как у половозрелых. Повышенные температуры (+ 30 °С, пять часов ежедневно, три недели) вызовут стимуляцию роста и созревания фолликулов, низкие (+ 5 °С, пять часов ежедневно, три недели), напротив, приведут к атрезии фолликулярного аппарата.

Однако как показывают результаты, полученные на светооптическом уровне, длительное нагревание и охлаждение с первого дня рождения животного вызывают однотипные изменения структуры яичников новорожденных морских свинок: усиление атретических процессов и гипертрофию интерстициальной ткани. Следует отметить, что по сравнению с половозрелыми морскими свинками атрезии подвергаются в основном примордиальные и небольшие растущие фолликулы. Стимуляция роста и созревания фолликулов яичников, наблюдаемая у взрослых животных при нагревании, у новорожденных нами не выявляется.

В то же время в результате проведенного электронномикроскопического исследования установлено, что в ответ на длительное действие повышенных температур внешней среды, в яичниках новорожденных морских свинок выявляется большое количество гормонпродуцирующих клеток с ультрамикроскопическими признаками активного функционального состояния.

Особенно хорошо развиты пластинчатый комплекс и митохондрии. Митохондрии содержат четкие кристы. Отмечается большое число капель липидных включений. Увеличивается зона пластинчатого комплекса, в его структуре появляются многочисленные вакуоли и мелкие везикулы. Также увеличивается количество канальцев и пузырьков гранулярного и гладкого эндоплазматического ретикулама. В цитоплазме клеток выявляется большое количество полирибосом, они сгруппированы в виде розеток.

Электронномикроскопически в яичниках новорожденных морских свинок, которые подвергались ежедневному 15-минутному

охлаждению (одна неделя) выявлена реакция со стороны клеточных органелл только растущих фолликулов. В фолликулоцитах отмечается большое число мелких овальных или немного вытянутых митохондрий. В цитоплазме текоцитов выявляются митохондрии с просветленным матриксом и беспорядочно расположенными бледными кристами. При более длительном охлаждении (по пять часов, одна неделя) цитоплазма фолликулоцитов характеризуется меньшей электронной плотностью, наличием большого количества рибосом и полисом, появлением единичных миелоноподобных структур и лизосом. Текальные и интерстициальные клетки, по сравнению с контролем, становятся округлыми, в цитоплазме увеличивается количество мембран пластинчатого комплекса и вакуолей, много крупных липосом, часто с темным содержимым.

Охлаждение новорожденных морских свинок до трех недель приводит к значительному функциональному напряжению большинства клеточных органелл фолликулоцитов, даже к появлению в некоторых клетках деструктивных изменений. В текоцитах и клетках интерстициальной ткани, напротив, регистрируется активация клеточных органелл. В цитоплазме этих клеток значительно увеличивается число митохондрий округлой формы с тубуловезикулярными кристами, число липосом со светлым содержимым, отмечается разрастание элементов гладкой эндоплазматической сети.

В результате проведенного исследования установлено, что длительное действие пониженных температур окружающей среды повышает функциональную активность гормонпродуцирующих интерстициальных клеток в яичниках новорожденных морских свинок, стимулируя при этом атрезию небольших растущих фолликулов.

Таким образом, анализ полученных результатов позволяет утверждать, что яичники зрелорождающихся животных с первого дня жизни способны отвечать четкой реакции органелл на предъявляемое воздействие. В яичниках новорожденных морских свинок выявляется большое количество текальных клеток с ультрамикроскопическими признаками активного функционального состояния. Жировые капли, многочисленные крупные митохондрии и мембраны незернистой эндоплазматической сети формируют в цитоплазме стероидпродуцирующих клеток атретических фолликулов и интерстициальной ткани так называемый стероидогенный комплекс [1; 3] и являются свидетельством повышения функциональной активности клеток, их гормональной деятельности.

Реакция гормонпродуцирующих структур яичников на действие повышенных и пониженных температур внешней среды может быть оценена как следствие идущих компенсаторно-адаптивных процессов, возникающих на уровне внутриклеточных органелл.

Список литературы

1. Волкова, О. В. Функциональная морфология женской репродуктивной системы / О. В. Волкова. – М., 1983.
2. Горанчук, В. В. Механизмы развития экстремальных состояний при гипоксической гипоксии и гипертермии: автореф. дис. ... докт. мед. наук. Спб., 1997.
3. Ковальский, Г. Б. Морфофункциональные особенности яичников в раннем репродуктивном периоде, при эндокринном бесплодии и климаксе: автореф. дис. ... докт. мед. наук. / Г. Б. Горанчук. – М., 1987.
4. Козлов, Н. Б. Гипертермия: биохимические основы патогенеза, профилактики, лечения / Н. Б. Козлов. – Воронеж, 1990.
5. Султанов, Ф. Ф. Гормональные механизмы температурной адаптации / Ф. Ф. Султанов, В. И. Соболев. – Ашхабад, 1991.

О РОЛИ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ГОРМОНОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В РЕГУЛЯЦИИ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ И ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА ПРИ ВНЕШНЕМ ПЕРЕГРЕВАНИИ И НА ДЕЙСТВИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭНДОТОКСИНА

Э. Н. Кучук

Белорусский государственный медицинский университет, Минск,
Беларусь

Резистентность к факторам среды обитания в значительной степени предопределяется активностью детоксикационной функции печени, состояние которой, определяя степень эндотоксемии, играет важную роль в терморегуляции, патогенезе лихорадки и терморезистентности [2; 3]. Важную роль в изменениях резистентности организма к действию внешнего тепла и холода играют тиреоидные гормоны. В последние годы показана тесная отрицательная корреляционная связь между концентрацией тиреоидных гормонов в плазме крови и сдвигами температуры тела при перегревании и переохлаждении.

Установлено, что печень играет важную роль в дейодировании йодсодержащих гормонов щитовидной железы (ЩЖ), участвующих в регуляции температуры тела [1]. Однако значение детоксикационной функции печени в регуляции температуры тела и тире-

оидного статуса организма остается мало изученным и во многом неясным. Исследования с целью выявить особенности изменения активности щитовидной железы и температуры тела при перегревании и лихорадке в условиях функциональной недостаточности печени не проводились.

Материалы и методы. Опыты выполнены на ненаркотизированных белых крысах–самцах массой 160–220 г. Перегревание осуществляли в суховоздушной термокамере при температуре воздуха 40–42 °С в течение 15, 30 и 60 минут. Для создания модели эндотоксиновой лихорадки животным вводили внутривентриально бактериальный липополисахарид (ЛПС) пирогенал (5,0 мкг/кг) (производство бакпрепаратов ННИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи, Россия). Экспериментальный гипотиреоз у животных воспроизводили введением мерказолила (25 мг/кг на 1 % крахмальном растворе интрагастрально в течение 20 дней). Для создания модели гипертиреоза животным интрагастрально в течение 20 дней вводили трийодтиронина гидрохлорид (30 мкг/кг на 1 % крахмальном растворе). Острое токсическое поражение печени вызывали интрагастральным введением крысам масляного раствора CCl_4 (1:1) в дозе 5,0 мл/кг. Температуру кожи и ректальную температуру измеряли у крыс с помощью электротермометра ТПЭМ-1. Содержание ТТГ, три- и тетраiodтиронина в плазме крови определяли радиоиммунным методом с помощью тест-наборов соответствующих фирм: ТТГ – «Mellinclerodt Diagnostica» (Германия), T_3 и T_4 -наборами производства ИБОХ АН Беларуси. О детоксикационной функции печени судили по продолжительности наркотического сна (ПНС, гексенал внутривентриально, 100 мг/кг). О степени эндогенной интоксикации судили по содержанию в сыворотке крови веществ группы «средних молекул» (СМ) и степени токсичности крови (СТК). СМ определяли методом В. И. Моина с соавторами [4]. СТК оценивали способом О. А. Радьковой с соавторами [5]. Все полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной статистики.

Результаты и обсуждение. В опытах на крысах показано, что перегревание животных в термокамере, как и действие в организме ЛПС сопровождается значительными и неоднозначными по направленности изменениями активности системы гипотиз – щитовидная железа и детоксикационной функции печени, хотя оба воздействия приводят к повышению температуры тела.

Кратковременное перегревание крыс сопровождалось значительным снижением уровня ТТГ и концентрации йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови. Так, через 30 мин и 60 мин температурного воздействия уровень ТТГ в плазме крови снижался на 28,0 % ($p < 0,05$) и 27,1 % ($p < 0,05$), а концентрация T_3 на 29,0 % ($p < 0,05$) и 36,6 % ($p < 0,05$) и составляла соответственно $2,06 \pm 0,23$ мМЕ/л и $2,27 \pm 0,31$ мМЕ/л, $0,92 \pm 0,08$ нМоль/л и $0,83 \pm 0,02$ нМоль/л. Содержание T_4 в плазме крови у животных снижалось (на 36,2 %, $p < 0,05$) только на 30 мин. перегревания.

Введение ЛПС крысам приводило, наоборот, к повышению уровня ТТГ и T_4 в крови, однако содержание T_3 снижалось. Внутривентриальное введение ЛПС крысам (5,0 мкг/кг), через 180 мин после инъекции, в условиях развивающейся гипертермии вызывало повышение уровня ТТГ и концентрации T_4 до $3,83 \pm 0,44$ мМЕ/л и 56,9 нМоль/л, т. е. на 40,8 % ($p < 0,05$) и 24,2 % ($p < 0,05$) по отношению к контролю соответственно. Содержание T_3 в плазме крови в этих условиях снижалась на 30,4 % ($p < 0,05$) и составляло $0,85 \pm 0,10$ нМоль/л.

Угнетение детоксикационной функции печени СС14, сопровождающееся снижением температуры тела, активности системы гипофиз–щитовидная железа, препятствует снижению уровня T_3 и T_4 в крови на действие внешнего тепла и способствует перегреванию. Действие ЛПС в условиях поражения печени СС14 усугубляет нарушения в системе гипофиз–щитовидная железа, вызываемое гепатотропным ядом и не сопровождается развитием лихорадки.

Можно было предположить, что процессы детоксикации и уровень T_3 в крови, во многом определяющийся процессами дейдирования в печени, являются значимыми факторами поддержания температурного гомеостаза организма и имеют важное значение для развития лихорадки. Для проверки правомочности сделанного предположения были проведены опыты на крысах по изучению влияния гипер- и гипотиреоза на процессы детоксикации, температуру тела и некоторые эффекторные процессы терморегуляции.

Опыты показали, что интрагастральное введение животным трийодтиронином (30 мкг/кг) приводит к повышению ректальной температуры (на $0,7$ °С, $p < 0,05$, $n = 10$) и активности детоксикационной функции печени (ПНС сокращалась на 19,2 % ($p < 0,05$, $n = 7$) до $21,7 \pm 1,92$ мин). Концентрация T_3 и T_4 в плазме крови крыс

в контроле (интрагастральное введение 1 % крахмального раствора) составляла $1,23 \pm 0,11$ нМоль/л ($n = 7$) и $44,7 \pm 3,15$ нМоль/л ($n = 7$), в опыте ($n = 8$) – $1,90 \pm 0,16$ и $17,2 \pm 2,04$ нМоль/л, т. е. концентрация T_3 в опытной группе животных повышалась в 1,5 раза ($p < 0,05$), а T_4 уменьшалось в 2,6 раза ($p < 0,05$). Развитие гипертиреоза достоверно не сказывалось на скорости перегревания, хотя продолжительность жизни таких животных в условиях перегревания возрастала на 16,1 % ($p < 0,05$) и составляла 97 ± 3 мин. Действие ЛПС в условиях гипертиреоза у крыс проявлялось более высокими значениями ректальной температуры.

Установлено, что интрагастральное введение мерказолила (25 мг/кг) приводит к снижению температуры тела, концентрации йодсодержащих гормонов ЩЖ в плазме крови и активности детоксикационной функции печени. До начала введения мерказолила ректальная температура у крыс опытной группы составляла $37,6 \pm 0,11$ °C ($n = 10$), а контрольной (которым в дальнейшем вводили 1% раствор крахмала) – $37,5 \pm 0,10$ °C ($n = 8$). Через 20 дней различие в значениях температуры тела достигало 1,0 °C ($p < 0,05$). Понижалась активность детоксикационной функции печени (увеличение ПНС на 18,8 % ($p < 0,05$, $n = 7$) до $27,4 \pm 2,03$ мин). Концентрация T_3 и T_4 в плазме крови у опытных животных по сравнению с контрольными (введение в желудок 1 % крахмального раствора) снижалась в 2,7 раза ($p < 0,05$) и 3,5 раза ($p < 0,05$) и составляла соответственно $0,51 \pm 0,09$ нМоль/л ($n = 8$) и $14,2 \pm 0,87$ нМоль/л ($n = 7$).

Перегревание животных с гипофункцией щитовидной железы приводило, по сравнению с интактными животными, к более выраженному повышению температуры тела и большей скорости развития гипертермии и сопровождалось и более значительным снижением уровня T_3 и T_4 в крови (на 78,2 % ($p < 0,05$, $n = 7$) и 60,5 % ($p < 0,05$, $n = 6$) через 30 мин, соответственно). Продолжительность жизни гипотиреоидных крыс в условиях перегревания сокращалась на 20,3 % ($p < 0,05$) и составляла 64 ± 4 мин ($n = 8$). Угнетение функциональной активности ЩЖ мерказолилом ослабляло развитие лихорадки и препятствовало развитию характерных изменений детоксикационной функции печени и содержания T_3 в крови на действие ЛПС. Ректальная температура у животных, подвергшихся воздействию мерказолила, через 120 и 180 мин после внутрибрюшинной инъекции ЛПС повышалась на 0,7 °C ($n = 8$).

и 0,5 °С (n = 7), а у животных контрольной группы возрастала на 1,2 °С (p < 0,05, n = 10) и 1,0 °С (p < 0,05, n = 10) соответственно.

Следовательно, тиреоидный статус организма, состояние печени, ее детоксикационной функции имеют важное значение в механизмах поддержания температурного гомеостаза и формирования терморегуляторных реакций организма на действие эндотоксина и высокой внешней температуры и определяют характер формирования терморегуляторных реакций у крыс как при перегревании, так и на действие эндотоксина.

Список литературы

1. Божко А. П., Городецкая И. В. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 1998. – № 2. – С. 80–83.
2. Висмонт Ф. И., Шуст О. Г. // Весці НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук. – 2001. – № 1. – С. 41–48
3. *Гурин, В. Н.* Механизмы лихорадки / В. Н. Гурин. – Минск, 1993.
4. Способ определения веществ группы средних молекул в биологических жидкостях / Моин В. М. [и др.]; авт. св. 1520445 СССР, А1№33/50; № 4323421/28-14 заявлено 02.11.87, опубликовано 07.11.89. бюл. № 41.
5. Способ определения токсичности биологических жидкостей / О. А. Радькова, Г. А. Бояринов [и др.]; авт. св. 1146570 СССР, А61 В 10/00 №1/28; № 3458007/28-13; заявл. 23.06.82; опублик. 23.03.85. бюл. № 11.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МИОКАРДЕ КРЫС ПРИ СИСТЕМНОМ ВОСПАЛЕНИИ В УСЛОВИЯХ БЛОКАДЫ СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА

В. И. Ланша

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

В настоящее время известно, что воспаление – это реакция целостного организма на действие патогенных факторов, в том числе липополисахарида (ЛПС). При появлении в крови ЛПС формируется системный воспалительный ответ [1]. В то же время ЛПС действует также прямо на клетки миокарда, вызывая различные повреждения в зависимости от дозы [2; 3].

В гормонпродуцирующих кардиомиоцитах предсердий при действии ЛПС увеличивается количество предсердных гранул, в которых синтезируются и из которых выделяются гормонально активные вещества. К ним относится натрийуретический фактор (ПНФ), который обладает сосудорасширяющим действием, уча-

ствуем в регуляции объема циркулирующей крови и поддерживает водно-солевой гомеостазис [4]. Предполагается, что ПНФ является одним из индукторов апоптоза кардиомиоцитов при воздействиях на организм, приводящих к развитию стресса [5], в том числе при лихорадке и тепловом стрессе [1; 6]. Известно, что продукция оксида азота (NO) в больших количествах может повреждать клеточные мембраны, в том числе митохондриальные, тогда как относительно небольшое повышение продукции NO необходимо в организме для защиты клетки от повреждения [7].

Задача настоящего исследования – изучить ультраструктуру сократительных и гормонпродуцирующих кардиомиоцитов правого предсердия и левого желудочка при системном воспалении, вызываемом ЛПС *E. coli* в условиях блокады синтеза монооксида азота.

Исследования выполнены на 22 половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой 250–300 г. Животные находились в стационарных условиях вивария при температуре $22,0 \pm 1,0$ °C и 12/12 ч цикле ночь/день со свободным доступом к воде и пище. Экспериментальные условия были одинаковы во всех исследованиях. Крысы были лишены пищи за 12–14 ч до эксперимента. Ректальная температура (РТ) измерялась с помощью трехканального электронного термометра.

Животные были разделены на пять групп по 3–5 крыс в каждой группе. Первую группу (3 крысы) составили интактные животные (контроль). Системное воспаление вызывалось внутрибрюшинным введением ЛПС *E. coli*: в дозе 5 мкг/кг (2 группа – 5 крыс) при температуре в термокамере + 22 °C и 1000 мкг/кг (3 группа – 5 крыс) при температуре +22 °C. 4 группе (5 крыс) вводили L-NAME в дозе 25 мг/кг в/б и ЛПС *E. coli* в дозе 5 мкг/кг и 1000 мкг/кг (5 группа, 4 крысы) при температуре + 22 °C.

Через 100 мин, с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», под эфирным наркозом извлекалось сердце и помещалось на лед. Объектом исследования было правое предсердие и левый желудочек. Материал фиксировали в параформе + глутаре + осмии, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации, заливали в эпон+аралдит по общепринятому для электронномикроскопических исследований методу [8]. Ультратонкие срезы изготавливали на микротоме LKB (Швеция); просматривали в электронном микроскопе JEM 100 CX.

При электронномикроскопическом исследовании в кардиомиоцитах правого предсердия и левого желудочка в контроле наблюдался обычный набор цитоплазматических органелл: комплекс Гольджи вблизи ядра, миофибриллы, митохондрии, располагающиеся как между миофибриллами, так и в околядерной зоне. Митохондрии чаще имели округлую или слегка вытянутую форму. Плотные расположенные кристы были направлены преимущественно поперечно. В гормонпродуцирующих кардиомиоцитах находились в тесном контакте с элементами комплекса Гольджи специфические гранулы, содержащие электронноплотный материал. В желудочке среди миофибрилл и под сарколеммой наблюдались гранулы гликогена. В эндотелиоцитах микрососудов были видны ядра, небольшое количество пиноцитозных пузырьков, располагавшихся по люминальной или базальной мембране.

Блокатор синтеза монооксида азота L-NAME в дозе 25 мг/кг у ненаркотизированных животных понижал РТ через 100 мин на $0,5 \pm 0,1$ °С.

Гормонпродуцирующие кардиомиоциты в правом предсердии находились в состоянии функционального напряжения. Отмечалось значительное увеличение количества и размеров предсердных гранул как в околядерной области, так и на периферии клетки. Увеличивалось количество цистерн аппарата Гольджи. Митохондрии разных размеров и формы концентрировались вблизи ядерной мембраны. В просвете микрососудов наблюдались эритроциты, выросты эндотелиоцита.

Бактериальный эндотоксин в дозе 5 мкг/кг в условиях блокады синтеза монооксида азота не вызывал характерного для этой дозы повышения РТ. Она была ниже контроля на $0,5-0,1$ °С. В кардиомиоцитах правого предсердия наблюдались изменения, свидетельствующие о состоянии функционального напряжения. Ядра имели большое количество ядерных пор, неровные контуры, глыбчатое распределение хроматина. Предсердные гранулы разных размеров и электронной плотности наблюдались как в околядерном пространстве, так и под сарколеммой. Предсердные гранулы отмечались также в межклеточном пространстве. В микрососудах наблюдалось большое количество выростов эндотелиоцитов в просвет сосуда, микрокломатоз. Эндотелиоциты были как разбухшие с единичными пиноцитозными пузырьками, так и гиперосмирован-

ные. В просвете микрососудов наблюдались сладжированные эритроциты, лейкоциты.

Бактериальный эндотоксин в дозе 1000 мкг/кг в условиях блокады синтеза монооксида азота изменял температурную кривую, характерную для этой дозы. РТ снижалась после введения L-NAME, затем повышалась через 100 мин до 1,5 °С.

Наиболее выраженные изменения, свидетельствующие о состоянии функционального напряжения, отмечались в гормонпродуцирующих кардиомиоцитах. Ядра имели неровные контуры с глыбчатым распределением хроматина, предсердные гранулы располагались вблизи ядерной мембраны. В том случае, когда предсердные гранулы располагались среди миофибрилл, наблюдалось большое количество цистерн аппарата Гольджи, не характерное для этой части цитоплазмы. Предсердные гранулы отмечались также в кавеолах под сарколеммой, наблюдались в межклеточном пространстве.

В кардиомиоцитах желудочков при в/б введении эндотоксина в дозе 1000 мкг/кг и L-NAME 25 мг/кг можно было видеть окруженные мембраной скопления митохондрий. Ядра в части кардиомиоцитов имели неровные контуры с примембранной концентрацией хроматина, сдвинуты на периферию клетки. Отмечались контрактурные повреждения миофибрилл. В межклеточных пространствах наблюдались апоптозные тела, состоящие из митохондрий, лизосом, миелиноподобных тел.

Таким образом, блокада синтеза NO с помощью L-NAME приводила к структурно-функциональным изменениям в кардиомиоцитах предсердий, желудочков и микроциркуляторном русле. В гормонпродуцирующих кардиомиоцитах увеличивалось количество предсердных гранул, особенно на периферии клетки под сарколеммой. Предсердные гранулы встречались в межмышечном пространстве, в просвете микрососудов. Отмечались контрактурные повреждения миофибрилл. При дозе ЛПС 1000 мкг/кг наблюдались кардиомиоциты в стадии апоптоза с уплотненным и смещенным на периферию ядром.

Известно, что небольшое повышение продукции NO необходимо в организме для защиты клетки от повреждения [7]. NO, действуя в небольших концентрациях, тормозит апоптоз, вызванный ростовыми факторами [9], играет важную роль в адаптационных процессах, в частности, активируя синтез белков

теплового шока [10], способных оказывать антиапоптотическое действие. Блокада синтеза NO в наших экспериментах при лихорадке сопровождалось увеличением количества предсердных гранул, которые, как известно, могут индуцировать апоптоз.

Список литературы

1. Гурин, В. Н. Механизмы лихорадки / В. Н. Гурин. – Минск, 1993.
2. Лапша В. И., Гурин В. Н. // Морфология. – 2007. – Т. 132. – № 5. – С. 58–62.
3. Титов В. Н., Дугин С. Ф., Коткин К. Л. // Биохимия. – 2005. – № 8. – С. 23–37.
4. Акрамова Д. Х., Червова И. А. // Архив анат. гистол. и эмбриол. – 1989. – Т. 97. – С. 5–15.
5. Goldspink D. F., Burniston J. G. and Tan L. B. // Exp. Physiol. – 2003. – Vol. 88. – № 3. – P. 447–458.
6. Лапша В. И., Бочарова В. Н., Гурин В. Н. // Морфология. – 2005. – Т. 128. – № 5. – С. 49–52.
7. Реутов, В. П. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / В. П. Реутов [и др.]. – М., 1998.
8. Боголепов, Н. Н. Методы электронно-микроскопического исследования мозга Н. Н. Боголепов. – М., 1976.
9. Kim Y. M., Bombeck C. A., Billiar T. R. // Circ. Res. – 1999. – Vol. 84. – P. 253–256.
10. Монастырская Е. Л., Андреева Л. В., Дучен М. Р. [и др.] // Биохимия. – 2003. – Т. 68. – № 7. – С. 992–999.

ДЕЙСТВИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭНДОТОКСИНА НА АФФЕРЕНТНЫЕ ВОЛОКНА БЛУЖДАЮЩЕГО НЕРВА У КРЫС В УСЛОВИЯХ БЛОКАДЫ СИНТЕЗА МОНООКСИДА АЗОТА, ПУРИНО- И ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ

*В. И. Лапша¹, В. Н. Бочарова¹, В. Б. Елиневский²,
Т. М. Лукашенко¹, Е. Н. Савчина¹, Л. Н. Смоляк¹*

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь

В настоящее время известно нейротропное действие пирогенов и сопряженное функционирование системы терморегуляции и иммунной системы [1; 2; 3; 4]. Однако остаются малоизученными пути и механизмы передачи информации от клеток иммунной системы к мозгу. Предполагается, что цитокины, освобождаемые на периферии влияют на активность чувствительных окончаний не-

рвов брюшной полости [2]. Ранее нами было показано, что ЛПС *E. coli* и *S. typhi* при в/б введении в дозе 5 мкг/кг вызывают усиление афферентной импульсации в блуждающих нервах и мультинейронной активности в ядре солитарного тракта (ЯСТ) [5; 6], а также повышают активность ферментов энергетического обмена, синтеза NO и гидролиза ацетилхолина в нейронах ядер блуждающего нерва в продолговатом мозге [7].

Задачей настоящего исследования было изучение электрической активности афферентных волокон блуждающих нервов, активности ферментов энергетического обмена, синтеза NO и гидролиза ацетилхолина в нейронах ЯСТ при экспериментальной лихорадке, вызываемой ЛПС *E.coli*, в условиях блокады синтеза NO, пурино- и холинорецепторов.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 45 крысах-самцах линии Вистар массой 250–300 г. Животные находились в стационарных условиях вивария при температуре $22,0 \pm 1,0$ °C и 12/12 ч цикле ночь/день со свободным доступом к воде и пище.

Экспериментальные условия были одинаковы во всех исследованиях. Крысы лишались пищи за 12–14 ч до эксперимента. Все эксперименты выполнялись с 9.00 до 16.00 ч, т. е. в тот период времени, когда у ненаркотизированных животных температура тела относительно стабильна. После окончания эксперимента крысы были убиты передозировкой наркоза при соблюдении этических требований обращения с животными.

Под уретан-небуталовым наркозом (500 мг/кг и 40 мг/кг соответственно, в/б) крыс помещали в вентилируемую термокамеру с контролируемой температурой $26 \pm 0,3$ °C. Правый блуждающий нерв перерезали на шее, снимали оболочку, периферический конец фиксировали с помощью лигатуры, накладывали на электрод и покрывали смесью вазелина и парафина, чтобы предотвратить дегидратацию. Афферентную активность записывали с помощью подвесного хлорсеребряного электрода (межэлектродное расстояние 3 мм), соединенного с усилителем биопотенциалов (полоса пропускания от 10 Гц до 10 кГц). Спонтанная электрическая активность с усилителя подавалась на компьютер через 12-разрядный аналогово-цифровой преобразователь (ADC-100k/12-8, «Спецприбор», Минск) (шаг квантования 0,5 мс) и обрабатывалась с помощью программы «InputWin», разработанной в Институте физиологии НАН Беларуси.

Во всех экспериментальных сериях афферентная активность в блуждающем нерве записывалась по следующей схеме: вначале записывали фоновую импульсацию (6 файлов по 30 с. с интервалом в 1 мин), затем интраперитонеально вводили исследуемые препараты (в объеме 1 мл) и продолжали запись каждые 10 мин (3 файла по 60 с интервалом в 2 мин) в течение 160 мин. К концу эксперимента нерв перерезали, определяли уровень шума и дискриминировали импульсы записанной активности; отношение уровня дискриминации к среднему уровню шума во всех случаях было постоянным. Обсчет импульсации проводили выше этого уровня.

В каждом опыте исходное значение частоты импульсации принимали за 100 % и далее с интервалом 10 мин подсчитывали ее относительное изменение. Затем высчитывали среднее отклонение от 100 % по всем опытам в серии.

Ректальную температуру (РТ) измеряли трехканальным электронным термометром) с миниатюрными терморезисторами СТЗ-14 (датчик вводился в прямую кишку на глубину 5 см), сигнал с которых подавался на цифровой вольтметр В7-38 (точность термометра $\pm 0,05$ °С) и далее в компьютер.

Цитофотометрические исследования проводились на нейронах ЯСТ. После трепанации черепа целиком извлекали головной мозг, иссекали область, соответствующую расположению ЯСТ. Готовили серийные срезы толщиной 15 мкм. Для идентификации нервных клеток ЯСТ использовали стереотаксический атлас.

Для выявления NO-синтезирующих нейронов в ЯСТ использовали методику определения активности NADPH-диафоразы (NADPH-d) [8], так как она является топохимическим маркером степени активности и локализации нейрональной NO-синтазы. Активность ферментов энергетического обмена СДГ и ЛДГ определяли на серийных срезах тетразолиевым методом [9], активность АХЭ – по методу [10]. Об активности ферментов судили по плотности образующегося осадка формазана для NADPH-d, СДГ и ЛДГ и ферроцианида меди – для АХЭ. Оптическую плотность в цитоплазме нейронов измеряли с помощью цифровой камеры, вмонтированной в микроскоп-фотометр MPV-2 (Leitz), специальных светофильтров (C_0 и C_4) и предназначенной для этой цели компьютерной программы Scion for Windows. Результаты опытов статистически обрабатывали с применением критерия Стьюдента.

ЛПС *Escherichia coli* (LPS, 0111: B4, List Biological Laboratory, Campbell, CA lot N LPS-25E) в дозе 5 мкг/кг, L-NAME (Sigma) в дозе 25 мг/кг и сурамин (Sigma) в дозе 100 мг/кг растворяли в апиrogenном физиологическом растворе (АФР) (1мл) сразу перед инъекцией и вводили в/б. Контрольным животным вводили АФР.

Результаты и обсуждение. Опыты показали, что в периферическом отрезке блуждающего нерва на шее у анестезированных животных наблюдалась хорошо выраженная тоническая активность, которая после введения АФР достоверно не изменялась. ЛПС в дозе 5 мкг/кг усиливал афферентную активность в блуждающем нерве сразу после введения. Через 10 мин афферентная импульсация превышала уровень контроля (АФР) на $19 \pm 6,2$ %, через 40 мин – на $30 \pm 5,2$ %. К 160 мин афферентная активность была на $19 \pm 3,6$ % выше контрольного уровня.

После введения L-NAME (25 мг/кг) последующее (через 30 мин) введение ЛПС (5 мкг/кг) не изменяло афферентную активность (по сравнению с контролем - введение АФР).

После введения блокатора пуриновых рецепторов сурамина (100 мг/кг) последующее (через 30 мин) введение 5 мкг/кг ЛПС не приводило к существенным изменениям афферентной активности в блуждающем нерве по сравнению с контролем (введение АФР). После введения блокатора холинорецепторов атропина (0,01 мг/кг) последующее через 30 мин введение ЛПС приводило к снижению афферентной импульсации.

После анестезии у животных, содержащихся в термокамере при температуре $26 \pm 0,3$ °С, РТ снижалась с $38,2 \pm 0,1$ °С до $36,8 \pm 0,1$ °С в течение 30 мин. Это значение температуры было принято как исходное. После введения АФР (в контрольных опытах) РТ уменьшалась на $1,7 \pm 0,1$ °С в течение 40 мин и температура оставалась постоянной на этом уровне до конца регистрации. После введения ЛПС в дозе 5 мкг/кг РТ постепенно снижалась (в течение 70 мин на $1,5 \pm 0,4$ °С), однако, начиная с 30 мин, она была достоверно выше, чем у животных, которым вводился АФР; к 130–140 мин она превышала контрольное значение (АФР) на $2,5 \pm 0,1$ °С. После инъекции L-NAME (25 мг/кг) с последующим (через 30 мин) введением ЛПС (5 мкг/кг) РТ уменьшалась на $2,2$ °С в течение 70 мин, оставалась на этом уровне до конца регистрации и была ниже контроля (АФР) на $0,7$ °С.

После инъекции сурамина 100 мг/кг с последующим через 30 мин введением ЛПС (5 мкг/кг) РТ не отличалась от контрольного уровня (АФР) в течение всего времени регистрации.

В ЯСТ, как показали наблюдения, присутствует небольшое количество нейронов с высокой активностью NADPH-d. Они располагались как на значительном расстоянии друг от друга, так и формировали кластеры из двух-пяти и более NADPH-d позитивных нейронов, переплетаясь между собой отростками. Темноокрашенные отростки, отходящие от тел нейронов, отчетливо просматривались на большом расстоянии. Некоторые нейроны с высокой активностью NADPH-d располагались вблизи мелких и крупных кровеносных сосудов. Отростки таких нейронов не только сопровождали сосуды, но и окружали их своими терминалями. При определении активности АХЭ в ЯСТ обнаружены нейроны с различной степенью его активности (высокой, средней и низкой). Выявлена высокая активность ЛДГ и СДГ.

Через 120 мин после введения ЛПС *E. coli* (5 мкг/кг) активность NADPH-d в нейронах ЯСТ увеличивалась на 25 %, ($P < 0,05$). Активность NADPH-d повышалась также в нервных отростках и эндотелиоцитах кровеносных сосудов. Активность АХЭ в нейронах ЯСТ в этот период после введения эндотоксина увеличивалась на 26 %, ($P < 0,01$), СДГ и ЛДГ на 17 % и 29 %, ($P < 0,05$) соответственно.

После введения блокатора NO-синтазы L-NAME (25мг/кг) в этот же период времени активность NADPH-d в нейронах ЯСТ снижалась на 15 % ($P < 0,01$). Активность СДГ в нейронах падала на 11 %, ЛДГ и АХЭ достоверно не изменялась. Введение ЛПС *E. coli* (5 мкг/кг) через 30 мин после L-NAME (25 мг/кг) приводило к уменьшению активности NADPH-d в нейронах ЯСТ на 29 %. Активность СДГ уменьшалась на 33 %, ЛДГ на 16 %, ($P < 0,05$), активность АХЭ была на уровне контроля.

Таким образом, на основании анализа полученных результатов можно предположить, что NO, образующийся в организме в условиях развития системного воспаления, играет роль модулятора центральных и периферических механизмов лихорадочной реакции. Его действие на рецепторы может быть опосредовано простагландинами, освобождение которых является NO-зависимым процессом [11]. Блокада пуриновых рецепторов сурамином и холинорецепторов атропином, вероятно, препятствует активации

чувствительных окончаний блуждающего нерва цитокинами, освобождаемыми на периферии при действии ЛПС.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ грант № Б07-039.

Список литературы

1. Гурин, В. Н. Механизмы лихорадки / В. Н. Гурин. – Минск, 1993.
2. Ноздрачев А. Д., Колосова Л. И., Моисеева А. Б., Рябчикова О. В. // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2000. – Т. 86. – № 6. – С. 728–742.
3. Besedovsky H. O., Del Rey A. E., Sorkin E. [et al.] // J. Cell. Immunol. – 1979. – Vol. 48. – P. 346–355.
4. Watkins L. R., Maier S. F., Goehler L. E. // Life Sci. – 1995. – Vol. 57. – P. 1011–1026.
5. Лапша В.И., Азев О. А., Лукашенко Т. М., Шелаева Е. А. // Нейрофизиология. – 2000. – № 2. – С. 112–119.
6. Лапша В. И., Лукашенко Т. М., Уткина Л. Н., Гурин В. Н. // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2001. – Т. 87. – № 10. – С. 1362–1369.
7. Bocharova V. N., Lapsha V. I., Gourine V. N. // Problems of thermoregulation in biology and medicine. – Minsk, 2004. – P. 6–7.
8. Vincent S. R., Kimura H. // Neuroscience. – 1992. – Vol. 46. – № 4. – P. 755–784.
9. Пирс, Э. Гистохимия: теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М., 1962.
10. El-Badawi A., Schenck E. A. // J. Histochem. Cytochem. – 1967. – Vol. 15. – № 10. – P. 580–588.
11. Pierau F.K., Sann H. // Recent advances in thermal biology / Ed. V.N.Gourine Minsk, 1999. P. 64-76.

АДАПТАЦИЯ ТЕМПЕРАТУРНОГО ГОМЕОСТАЗА ОРГАНИЗМА ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА ПРИ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОМ ПРЕБЫВАНИИ В ЗАМКНУТОМ ОБЪЕКТЕ

И. М. Ларина, О. И. Орлов

Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

Жизнедеятельность человека в замкнутых объектах различного назначения (космическая станция, военные объекты и т. п.) протекает в сложных условиях, представляющих собой комплекс измененных факторов внешней среды геофизического и техногенного характера. В этих условиях в физиологических системах организма активизируются процессы долговременной адаптации, которые затрагивают и регуляторные системы. Было показано, что характер участия в этом процессе одной из основных регуляторных систем –

гормонов коры надпочечников – состоит в изменениях активности синтеза гормонов, модификации временной организации биосинтетических процессов, что значимо отражается на адапционном потенциале организма в целом [1]. Мозговой слой надпочечников продуцирует несколько исключительно физиологически активных продуктов, оказывающих влияние на широкий спектр функций организма, в том числе на обмен веществ и энергии. Температурный гомеостаз (ТГС) организма человека является результатом деятельности нескольких физиологических систем, интегрирующих «метаболическую цену» адаптивных состояний. До настоящего времени исследования ТГС остаются единичными в полетных и наземных исследованиях, моделирующих физиологические эффекты микрогравитации и других экстремальных условий [2; 4].

В Институте медико-биологических проблем РАН в 90-е гг. было проведено несколько продолжительных испытаний в замкнутом гермообъекте с участием здоровых обследуемых, в которых проводилось изучение ТГС организма человека и механизмов его адаптации к условиям искусственной среды обитания. Эксперименты с изоляцией в гермообъеме предоставляют исследователю редкую возможность изучения интегративных функций организма человека в полностью контролируемой среде обитания. Так, в экспериментах с изоляцией, методом психофизиологического мониторинга (ПФМ), разработанного в ИМБП, были установлены взаимосвязанные изменения различных физиологических показателей организма [3]. Было выявлено, что в наземном экспериментальном комплексе (в течение 90–135 суток, n=6) параметры ТГС здорового человека существенно отличаются от таковых при обычных условиях и, кроме того, они определенным образом разнятся от таковых при обследовании космонавтов в условиях реальной невесомости или добровольцев в АНОГ.

В данном сообщении мы пытаемся обобщить результаты изучения параметров теплового состояния здорового человека и их связи с изменениями регуляторных систем (симпато-адреналовой системы (САС), гормонов коры надпочечников) при длительном пребывании в замкнутом объекте с искусственной средой обитания. Анализ основан на данных, полученных в испытаниях в ходе 90-суточной изоляции (проект 1988 г.), 135-суточном (проект HUBES-1994), 240-суточном эксперименте (проект SFINCSS-99). В каждом из этих экспериментов для мониторингования (т. е. ис-

следования с максимально возможной частотой) были отобраны показатели состояния физиологических систем, которые были получены при неинвазивных манипуляциях: показатели психофизиологического мониторинга, сбор проб слюны в суточном ритме, исследования параметров активности САС по экскреции продуктов метаболизма с мочой.

На основании объективных закономерностей динамики параметров ПФМ периоды воздействия разбивались на 60-суточные фазы [3]. Анализ изменений показателей ТГС показал, что они также имели фазную природу, достоверно различаясь в 60-дневные промежутки времени. Наиболее ярко фазный характер изменений проявлялся в утренних значениях глубокой Т тела и продольного наружного Т-градиента «грудь-стопа». Корреляционный анализ данных позволил установить прямые взаимосвязи: а) показателя среднесуточной концентрации кортизола в слюне со значениями глубокой Т тела утром ($r = 0,52$; $P < 0,05$), а также с продольным температурным градиентом; б) ритма сердечных сокращений с утренними значениями средневзвешенной Т тела. Отметим, что строгость этой корреляции не была одинаковой в разных фазах изоляции. Однако наиболее тесной оказалась связь физиологических параметров с утренними показателями теплового состояния (т. е. тех, которые изучались в базальных условиях). Было также отмечено, что наибольшее сходство с характером изменений показателей ПФМ имела динамика параметров ректальной температуры и средневзвешенной Т тела (СВТТ, по Livingstone SD, 1968).

Анализ динамики физиологических и температурных показателей также позволил выявить, что изменения параметров циркадианных ритмов (ЦР) кортизола в начальном периоде адаптации «запаздывали» по сравнению с динамикой глубокой Т тела (на 7 суток). Затем, вплоть до 156 суток выраженные отклонения глубокой Т тела наблюдались на фоне минимальных колебаний параметров ЦР кортизола, но в последние 6 недель синхронность изменений данных показателей восстанавливалась. При этом сопряженность изменений ЧСС и СВТТ оказывалась существенно более стабильной во всех фазах эксперимента.

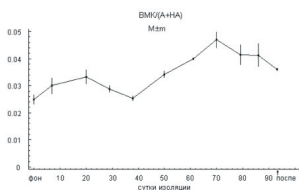
Исследование параметров **относительной активности синтеза катехоламинов (КА)** (по динамике соотношений ДА/ДОФА и НА/ДА в моче) не выявило их связи с фазой эксперимента. Однако соотношение гормонального и нейромедиаторного звеньев САС

изменялось в связи с фазой: достоверное усиление синтеза НА ($p < 0,05$) приходилось на вторую фазу эксперимента, в отличие от первой. В это время значимо возрастал синтез дофамина (повышение выведения его свободной и связанной форм). Повышение активности процессов *инактивации НА* (образование конъюгированных форм) также находилось под влиянием фазы эксперимента – его достоверным усилением была отмечена первая фаза эксперимента как таковая. Таким образом, вторая фаза эксперимента характеризовалась усилением всех процессов *инактивации А* (при неизменном уровне синтеза), активизацией синтеза НА (при ослаблении активности образования его конъюгированных форм), усилением процессов инактивации дофамина. Следовательно, во второй фазе эксперимента адаптивные изменения в системе САС происходили за счет усиления медиаторного звена синтеза, при возрастании активности процессов инактивации дофамина и ослабления НА. Содружественным (с данными факторами) образом повышение уровня CO_2 усиливало метаболизм А.

Соотношение величин экскреции ванилинминдальной кислоты (ВМК), являющейся основным продуктом окончательной дезактивации катехоламинов (КА) и суммарного выведения исходных КА (адреналина – А и норадреналина – НА) рассматривалось как показатель **относительной активности метаболизма**. Оказалось, что именно по показателю ВМК/(А+НА) в данном эксперименте наиболее резко проявлялись различия между фазами процесса адаптации (рис. А).

Соотношение величины экскреции гомованилиновой кислоты (ГВК), являющейся продуктом окончательной дезактивации дофамина (ДА) и темпа выведения ДА – ГВК/ДА было также достоверно выше во второй фазе по сравнению с первой (рис. Б). Рассмотрение динамики обоих показателей активности метаболизма: ВМК/(А+НА) и ГВК/ДА показало, что их изменение происходило за счет выраженной модификации, в связи с фазным переходом, темпа экскреции продуктов окончательной дезактивации КА (ВМК и ГВК). По-видимому, активность метаболических процессов в печени и других тканях является ведущим механизмом в фазовом изменении состояния САС в процессе жизнедеятельности человека в гермообъекте. В целом, активность процессов инактивации основных КА (кроме НА) до устойчивых продуктов, экскретируемых с мочой, была повышена во второй фазе.

А



Б

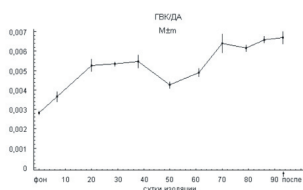


Рис. Динамика соотношений ВМК/(А+НА) (рисунок А) и ГВК/ДА (рисунок Б) в моче

Изучение показателей инактивации подтвердило наличие выраженной периодичности, не зависящей от изменения режима «сон–бодрствования» и не связанной с уровнем CO_2 в атмосфере камеры. Так, для НА соотношение экскреции суммарных форм (конъюгированных и свободных) к уровню выделения с мочой свободных форм – сумм./своб. – имело наиболее тесную связь с фазами, причем вторая фаза отличалась не только характером и более высоким средним уровнем данного показателя, но и его высокой индивидуальной вариабельностью. Для ДА соотношение экскреции сумм./своб. форм имело близкую к достоверной связь с фактором «фаза». Динамика соотношения А сумм./своб. в моче была неодинаковой в первой и второй фазах, причем уровень значимости этих различий оказался близким к достоверному. Ни с одним из прочих факторов эксперимента, кроме фазы, этот показатель не имел достоверных связей.

Активность трофотропных систем (серотонин- и гистамин-эргической) была различной во время первой и второй фазы эксперимента. Хотя концентрация в крови серотонина не изменялась на протяжении периода изоляции, а его экскреция зависела от уровня CO_2 ($p < 0,05$), изменений ритма «сон-бодрствование» и моделирования прихода «экспедиций посещения» ($p < 0,01$ и $p < 0,005$ соответственно), все эти факторы в совокупности выразились в увеличенной экскреции серотонина в первой фазе. Однако на динамику предшественника серотонина – триптофан и показатель его инактивации влияла собственно фаза эксперимента. В противоположность взаимоотношениям этих соединений в первой фазе, во второй – относительно более высокое содержание аминокислоты триптофана в крови не приводило к интенсивному ее использованию для синтеза серотонина.

Наиболее выражены фазные изменения отразились в уровне гистамина и величине его выведения ($p < 0,0001$, в двухфакторном анализе с ко-вариатой – уровнем углекислоты). Следует отметить, что как концентрация в крови, так и экскреция его предшественника – гистидина – зависели от фазы достоверно ($p < 0,0001$); разнонаправленные изменения уровней гистамина и гистидина свидетельствовали, что при переходе от первой 60-суточной фазы экспозиции ко второй относительная скорость синтеза и инактивации гистамина увеличивалась.

Рост содержания в крови трофотропных веществ (гистамина) и увеличение скорости их обмена одновременно с ослаблением эрготропных механизмов (КА) присуще состоянию утомления, развивающемуся при длительном действии стрессоров и снижении двигательной активности. Знаменательно, что содержание свободного кортизола во внеклеточной жидкости, также подверженное фазным изменениям, резко повышалось во второй фазе эксперимента с продолжительной изоляцией в гермообъеме HUBES (мезор составлял 167 ± 10 % от фоновых значений, $p < 0.0001$) [3]. Динамика амплитуды суточного ритма была сходна с изменениями мезора ($r = 0,56$, с $p < 0,0001$). Следовательно, во второй фазе адаптации сохраняется достаточный адаптационный потенциал регуляторных систем, с высокой секрецией кортикостероидов, с преобладанием (за счет более выраженного усиления механизмов инактивации и метаболизма для А, чем для НА) активности медиаторного звена САС, с ростом содержания в крови трофотропных веществ (гистамина, АХ).

Таким образом, изучение параметров активности и метаболизма регуляторных систем показало, что ряд показателей симпатoadrenalовой и гистамин-эргической систем во время жизнедеятельности человека в условиях гермообъекта также подвержены фазным адаптивным изменениям. В совокупности показателей скорости синтеза, инактивации и метаболизма наиболее значимые фазно-зависимые отклонения имели те, которые относились к активности метаболизма. По-видимому, активность метаболических процессов в печени и других тканях, влияя на уровни КА и биогенных аминов крови, является ведущим механизмом в фазовом изменении состояния медиаторных систем в процессе адаптации организма человека во время его жизнедеятельности в осложненных условиях (в гермообъекте). Для большого числа параметров

метаболизма зависимость динамики их изменения от других факторов эксперимента отсутствовала или была менее значимой, чем влияние фазы. В то же время другие факторы, такие как повышенный уровень углекислоты в воздухе объекта, изменения ритма сон-бодрствование и эмоциональное напряжение, вызванное приходом экипажей посещения, предъявляли «запрос» на острые приспособительные реакции системы САС, связанные с увеличением синтеза биологически активных веществ. Однако увеличение активности процессов тканевого метаболизма во второй фазе демпфировало выраженность реакции, соответствующей физиологическим потребностям организма, что происходило и в случае достаточных резервных возможностей (биосинтетических). Этот вывод имеет практическое значение, поскольку показывает, что приспособительные реакции САС, направленные на сохранение гомеостаза путем острого усиления синтеза КА, становятся не эффективными в определенную фазу процесса долговременной адаптации, в результате чего факторы, вызывающие активизацию САС, могут оказать на гомеостаз дестабилизирующее воздействие.

Таким образом, наличие общих фаз в динамике изменений параметров температурного гомеостаза и показателей активности продукции, метаболизма гормонов надпочечников, указывают на ведущую роль не только кортикостероидов (кортизола [1; 5], альдостерона [6]), но и КА в формировании адаптационных ритмов промежуточной продолжительности процессов термогомеостаза во время жизнедеятельности человека в гермообъекте. Отсутствие зависимости процессов, имеющих фазную периодичность от таких факторов, как: изменения ритма «сон–бодрствование», эмоциональный стресс, отклонения физических параметров среды обитания (рост содержания CO_2 в воздухе камеры) – свидетельствует о том, что около 60-суточные адаптивные циклы в физиологических системах организма человека, по-видимому, являются присущим этим системам *постоянным свойством*, выявлению которого экспериментальные условия лишь способствуют.

Список литературы

1. Григорьев, А. И. [и др.] // Весті НАН Беларусі (News of Biomedical Sciences). – 2003. – № 3. – С. 17–23.
2. Лакота, Н. Г. [и др.] // Физиология человека. – 2002. – №5. – С. 65–74.
3. Ларина И. М., Быстрицкая А. Ф., Смирнова Т. М. // Физиология человека. – 1999. – Т. 25. – № 5. – С. 86–92.

4. Ларина, И. М. [и др.] // Физиология человека. – 2005. – Т. 31. – № 2. – С. 69–77.
5. Ларина, И. М. [и др.] // Физиология человека. – 2000. – Т. 26. – № 4. – С. 94–100.
6. Sukhanov Yu. V., Larina I. M., Orlov O. I. [et al.] // Klinische Medizin. – 1989. – Vol 44. – № 20. – P. 1773–1775.

ОСОБЕННОСТИ ЛИХОРАДКИ У КРЫС В УСЛОВИЯХ НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Н. Е. Максимович, Э. И. Троян

Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь

Как известно, лихорадка является выработанным в процессе эволюции типовым патологическим процессом защитно-приспособительного характера [1; 2]. Повышение температуры при лихорадке сопровождается нарушением функционирования органов, изменением частоты и глубины дыхания, тахикардией, уменьшением активности пищеварения, выделительной системы, а также изменениями обмена веществ: повышением катаболических процессов, кетообразования, обезвоживания и обессоливания организма. Однако подавление лихорадки умеренного типа неблагоприятно для организма, так как приводит к уменьшению активности ее защитных реакций (бактериостатический эффект, активация фагоцитоза, продукция защитных белков и др.).

Известно, что патогенез лихорадки связан с попаданием в организм экзогенных пирогенов и образованием в организме эндогенных пирогенов (интерлейкинов – 1 (IL-1), 6 (IL-6), фактора некроза опухоли- α (TNF- α). В результате действия последних на центр терморегуляции в гипоталамусе происходит повышение активности холодových рецепторов, в результате чего нормальная температура воспринимается как пониженная. Это приводит к активации механизмов повышения температуры тела. Прежде всего, отмечается ограничение теплоотдачи в результате сужения периферических сосудов и появления мышечной дрожи. Также активируются окислительные процессы и происходит разобщение окисления и фосфорилирования с повышением выделения свободного тепла. Известно, что терморегуляция находится под гормональным контролем, а в условиях лихорадки происходит целый ряд гормо-

нальных сдвигов, таких как повышение уровня АКТГ гипофизом, тироксина и трийодтиронина щитовидной железой, глюкокортикоидов и катехоламинов надпочечниками. Также происходит повышение образования глюкагона и снижение инсулина поджелудочной железой. Однако очевидно, что изменение гормонального статуса при эндокринопатиях может стать причиной расстройств терморегуляции.

В некоторых случаях у людей наблюдается недостаточность функции надпочечников, участвующих в регуляции важнейших параметров гомеостаза. Учитывая, что в надпочечниках вырабатываются гормоны, оказывающие влияние на тонус кровеносных сосудов (адреналин, глюкокортикоиды) – один из важнейших механизмов регуляции лихорадки, целью работы явилось выяснение характера лихорадки у крыс в условиях острой надпочечниковой недостаточности.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 12 белых беспородных крысах-самках массой 200–250 г. Моделирование острой надпочечниковой недостаточности (опытная группа) осуществляли путем двухстороннего удаления надпочечников ($n = 6$), которое выполняли в условиях внутривенного наркоза (гексенал, 40–60 мг/кг). Доступ к надпочечникам осуществляли через продольный разрез кожи на спине и 2 разреза мышц по бокам от позвоночника соответственно проекции почек, по верхним полюсам которых находятся надпочечники. После перевязки сосудов, кровоснабжающих надпочечники, производили адреналэктомию, ушивание мышц и кожи. Во второй группе крыс производили разрез кожи и мышц с последующим их ушиванием без адреналэктомии (контроль, ложнооперированные животные, $n = 6$). После операции животных поили 0,85 % NaCl. Моделирование лихорадки производили путем внутримышечного введения липополисахарида (ЛПС) E. Coli («Sigma» USA) в дозе 2 мг/кг. До введения препарата и после его введения у крыс обеих групп измеряли ректальную температуру с интервалом 0,5 часа в течение 9 часов с помощью электротермометра.

Результаты и обсуждение. После введения крысам контрольной группы и группы крыс с адреналэктомией получены следующие результаты. У крыс контрольной группы через час после введения ЛПС происходило повышение температуры на $0,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ (от $36,6 \pm 0,09\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $37,7 \pm 0,098\text{ }^{\circ}\text{C}$), после чего отмечали ее посте-

пенный спад до $36,9 \pm 0,17$ °С – через 7–9 часов после введения ЛПС препарата.

В условиях адrenaлэктомии были получены следующие результаты. Исходная температура составляла $34,9 \pm 0,16$ °С, что меньше, чем в контроле ($p < 0,001$). Введение ЛПС вызвало гибель трех животных, подтверждая тем самым важную роль гормонов надпочечников в адаптации организма к действию чрезвычайных факторов (в том числе бактериальной природы), что может играть решающую роль в выживании организма при септическом шоке.

У остальных трех крыс максимальное повышение температуры составило $36,9 \pm 0,20$ °С, а также отмечали более быстрый спад температуры до $35,8 \pm 0,30$ °С ($p < 0,05$) к 4–5 часам после введения ЛПС, что подтверждает важную роль надпочечников в реализации лихорадки у крыс, в связи с чем острая недостаточность надпочечников приводит к более слабой и кратковременной лихорадочной реакции (рис.).

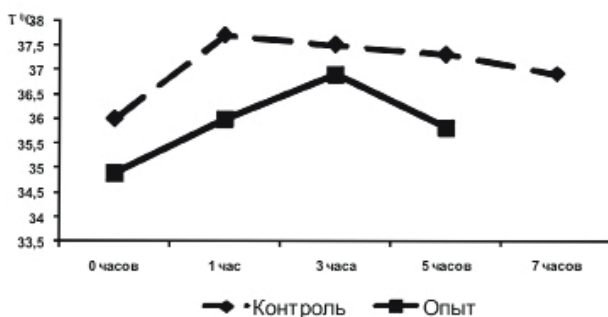


Рис. Температурная кривая у крыс при введении пирогенала в условиях адrenaлэктомии

Таким образом, острая надпочечниковая недостаточность, моделируемая у крыс путем двухсторонней адrenaлэктомии, изменяет характер лихорадки, способствует укорочению лихорадочной реакции и снижению степени подъема температуры.

Адrenaлэктомия снижает адаптивную способность организма на введение ЛПС, что проявляется высокой летальностью экспериментальных животных опытной группы в течение 3–4-х часов после его введения.

Полученные результаты подтверждают важную роль надпочечников в адаптивных реакциях организма к действию чрезвычайных факторов.

чайных факторов. Наличие изменений лихорадочной реакции при острой надпочечниковой недостаточности является следствием недостаточности реакций, участвующих в ее реализации и может иметь значение для выживания организма в условиях действия инфекционных агентов.

Список литературы

1. Гурин, В. Н. Терморегуляция и биологически активные вещества крови / В. Н. Гурин, А. В. Гурин. – Минск, 2004.
2. Нихельман, М. Температура и жизнь / М. Нихельман. – Минск, 2001.

О РОЛИ ОКСИДА АЗОТА, ОБРАЗУЕМОГО ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ NO-СИНТАЗОЙ, В РЕАЛИЗАЦИИ ЛИХОРАДКИ У КРЫС

Н. Е. Максимович, Э. И. Троян

Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь

Лихорадка – типический патологический процесс, выработанный в процессе эволюции в ответ на попадание в организм пирогенных веществ липополисахаридной (ЛПС) природы и носящий защитно-приспособительный характер. Кроме положительных реакций лихорадка может приводить и к отрицательным последствиям, что обуславливает необходимость выяснения звеньев ее патогенеза.

К настоящему времени установлено, что центральные механизмы терморегуляции связаны с участием нейронального оксида азота [1]. Учитывая, что повышение и понижение температуры при лихорадке связано с изменением тонуса сосудов, оксид азота (NO) обладает вазоактивными свойствами, а снижение температуры по временным параметрам совпадает с периодом активации индуцибельной изоформы NO-синтазы (iNOS) под влиянием ЛПС, который является одним из стимуляторов ее активности [3], целью исследований явилось изучение роли NO, образуемого iNOS, в реализации лихорадочной реакции у крыс.

Материалы и методы. Лихорадку у экспериментальных животных вызывали введением ЛПС пирогенала. Пирогенал – эндотоксин грамотрицательных бактерий, полученный из *Pseudomonas*

aerugenosa, состоящий из трех частей – двух полисахаридных и одной липидной. Терморегуляция обусловлена липоидом А. Эксперименты проведены на 13 крысах. У крыс с помощью электротермометра измеряли ректальную температуру, затем все животные были подразделены на две группы.

Первую группу (контроль) составили крысы ($n = 5$), которым осуществляли моделирование лихорадки путем внутримышечного введения ЛПС пирогенала в дозе 100 МПД/100г, крысам опытной группы ($n = 8$) наряду с пирогеналом внутримышечно вводили ингибитор iNOS аминоксантидин (АГ) в дозе 10 мг/кг в 0,5 мл изотонического раствора NaCl [2]. В течение 13 часов осуществляли регистрацию ректальной температуры с интервалом 0,5–2 часа с помощью электротермометра.

Полученные результаты. По полученным данным ректальной температуры построили график температурной кривой (рис.).

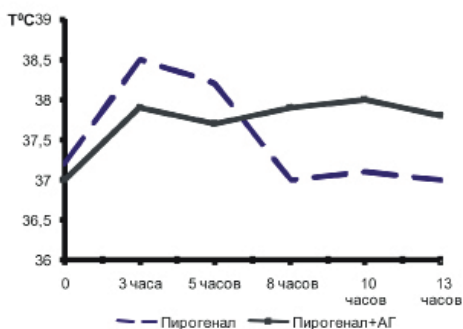


Рис. Температурная кривая у крыс при введении пирогенала и аминоксантидина

Анализ данных показал, что у животных, которым вводили пирогенал, через 3 часа ректальная температура поднялась до $38,5 \pm 0,3$ °C, через 5 часов – $38,2 \pm 0,2$ °C, а через 8 часов после введения снизилась до $37,0 \pm 0,2$ °C. При сочетанном же введении пирогенала с аминоксантидином ректальная температура у крыс повышалась не столь значительно, однако в третий период лихорадки (стадия снижения температуры) значения ректальной температуры были более высокими по сравнению с ректальной температурой у крыс контрольной группы и держалась на высоком уровне более длительное время: через 8 часов – $37,9 \pm 0,1$ °C ($p < 0,05$), через 10 часов – $38,0 \pm 0,2$ °C в опытной группе при

37,1 ± 0,1 °C в контрольной группе животных, через 13 часов – соответственно 37,8 ± 0,2 °C и 37,0 ± 0,1 °C ($p < 0,05$).

Таким образом, в отличие от крыс контрольной группы, с введением пирогенала нормализация температуры у которых происходила через 5 часов после введения липополисахарида пирогенала, в группе с введением ингибитора iNOS аминоксидина ректальная температура продолжала сохраняться на более высоком уровне даже спустя 13 часов. Известно, что введение аминоксидина блокирует выработку оксида азота iNOS, в результате чего при развитии лихорадки у экспериментальных животных под действием пирогенала механизмы теплоотдачи не реализуются в полной мере из-за неспособности периферических сосудов к вазодилатации в связи с подавлением продукции NO в стадию снижения температуры (st.decrementi). Из-за нарушения теплоотдачи лихорадка держится гораздо более длительное время, чем после введения только пирогенала. Полученные результаты свидетельствуют об участии NO, образуемого iNOS, в реализации механизмов теплоотдачи при лихорадке, в связи с чем избыточная либо недостаточная ее активность может иметь последствия для реализации лихорадки и связанных с ней защитно-приспособительных реакций.

Список литературы

1. Гурин, А. В. Успехи физиол. наук / А. В. Гурин. – 1997. – Т. 28. – № 1. – С. 53–57.
2. Corbett, J. A.. Methods in Enzymology / J. A. Corbett, M. L. McDaniel. – 1996. – Vol. 268. – P. 398–408.
3. Niwa, M. Neurol. Med. Chir / M. Niwa [et al.]. – 2001. – Vol. 41. – № 2. – P. 63–72.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЛИХОРАДКЕ

О. А. Манеева

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Щитовидная железа оказывает влияние на все виды обмена веществ в организме, участвуя в обеспечении энергетического гомеостаза. Особенно существенно ее регулирующее влияние на важнейшие функции новорожденного организма – становление

метаболических процессов, теплообразование, синтез белков, клеточное дыхание, формирование центральной нервной системы.

Известно, что тиреоидные гормоны используются в процессах форсированного теплообразования и являются общим конечным звеном гиперметаболизма любого генеза. Важную роль играют они и в формировании лихорадки. Данные литературы об особенностях ответной реакции в раннем постнатальном периоде на введение пирогенов немногочисленны. Есть сведения о том, что уже 10-дневные крысятa обладают достаточно развитыми терморегуляторными механизмами, позволяющими, подобно взрослым животным, адекватно реагировать на введение эндотоксина. В то же время указывается, что новорожденным морским свинкам, по сравнению со взрослыми, для возникновения лихорадки требуется значительно более высокий уровень эндогенного пирогена [3].

Установлено, что в формировании лихорадочной реакции у взрослых животных существенную роль играют нейрогормональные механизмы – изменение уровня тиреоидных гормонов, гормонов надпочечников, а также активности симпатической нервной системы. Показано, что действие пирогенов стимулирует активность гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной оси, в результате чего повышается уровень тиреотропного и тиреоидных гормонов в крови [2; 5]. Что же касается ответа на пироген в раннем постнатальном онтогенезе, то вопрос о роли гормональных факторов (в частности, гормонов щитовидной железы), вовлекаемых в формирование терморегуляторных механизмов, практически не освещен. Не исследован и морфологический субстрат этих процессов.

В связи с вышеизложенным, представлялось актуальным изучение адренергической иннервации и ферментной активности паренхимы щитовидной железы крыс в раннем постнатальном периоде при введении пирогенала.

Были поставлены следующие задачи исследования:

1. Проследить динамику активности ферментов углеводно-энергетического обмена в фолликулярных клетках щитовидной железы при одно- и пятисуточной экспериментальной лихорадке.

2. Изучить реакцию симпатического звена иннервации органа в этих же условиях.

3. Дать сравнительную оценку морфофункциональным изменениям в щитовидной железе при однократном и длительном введении пирогенала.

Материалы и методы. Исследования проведены на 49 двухнедельных крысках массой 50–70 г, на которых были поставлены следующие серии экспериментов:

1) пирогенал вводился внутривентриально однократно в дозе 10 мкг/кг массы животного. Экспериментальный материал брали через 3 часа после введения препарата, когда отмечался максимальный подъем ректальной температуры ($\Delta t = 1,5^{\circ}\text{C}$);

2) апиригенный физраствор вводился внутривентриально однократно в объеме, адекватном объему пирогенала. Забор материала проводился через 3 часа после инъекции;

3) пирогенал вводился ежедневно однократно в дозе 10 мкг/кг в течение 5 суток. В последний день воздействия через 3 часа после введения препарата крыс брали в опыт%

4) апиригенный физраствор вводился ежедневно однократно в течение 5 суток в объеме, адекватном объему пирогенала. Забор материала проводился через 3 часа после инъекции.

Щитовидная железа извлекалась под эфирным наркозом. В фолликулярном эпителии проводился гистохимический анализ активности ферментов углеводно-энергетического обмена – СДГ, ЛДГ, НАДН-ДГ, НАДФН-ДГ по Лойду. Адренергические структуры изучались модифицированным методом Фалька. Весь материал подвергался количественному цитофотометрическому и цитофлуориметрическому анализу с последующей статистической обработкой с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. При однократном введении пирогенала в дозе 10 мкг/кг в фолликулярных тироцитах происходит умеренный рост активности НАДФН-ДГ и ЛДГ (на 29 % и 20,5 % соответственно, $P < 0,05$). В значительно большей степени увеличивается активность СДГ – на 39,6 % ($P < 0,05$), т. е. возрастает роль сукцинат-зависимых реакций в энергетическом обмене фолликулярного эпителия. Выраженное усиление активности СДГ указывает на увеличение доли аэробных процессов в энергообеспечении функции тироцитов. Это и понятно, поскольку известно, что синтез йодированных гормонов имеет аэробную направленность.

Не изменяется симпатическая нейроархитектоника железы. Отчетливо выявляются все структурные компоненты адренергического аппарата – волокна и терминалы с люминесцирующими варикозными утолщениями. Усиливается люминесценция медиатора в периваскулярных и парафолликулярных нервных сплетени-

ях соответственно на 58,9 % и 71,4 % ($P < 0,05$). Следовательно, согласно нейрогистохимическим показателям щитовидная железа у 14-дневных крысят на высоте развития лихорадочной реакции находится в состоянии гиперфункции. Аналогичные данные были получены нами ранее на взрослых животных.

Известно, что повышение активности симпатической нервной системы и мобилизация катехоламинов – важнейшие компоненты реакции на пирогены. Можно полагать, что увеличение медиаторного фонда в парафолликулярных терминалях при введении пирогенала способствует усилению транспорта катехоламинов к тиреоидным фолликулам, что, по мнению ряда авторов, стимулирует специфическую функцию тиреоцитов [1]. Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что щитовидная железа у двухнедельных крысят, аналогично как и у взрослых животных, способна адекватно реагировать на однократное введение экзогенного пирогена.

Длительное введение двухнедельным крысятам пирогенала также изменяет функциональное состояние исследуемого органа, хотя и в несколько меньшей степени, чем однократное. Отмечается подъем активности НАДФН-ДГ и СДГ на 29,2 % и 18,7 % соответственно ($P < 0,05$). Увеличивается содержание катехоламинов в адренергических структурах на 36,9 % ($P < 0,05$). На фоне неизменной симпатической нейроархитектоники железы возрастает интенсивность свечения нервных волокон, увеличивается плотность их распределения.

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что как при однократном, так и при многократном введении пирогенала сдвиги в клеточном метаболизме тиреоидной ткани однонаправлены и указывают на активацию функции щитовидной железы.

Отмечаемые нами изменения идентичны некоторым изменениям, описываемым при экспериментальной лихорадке у взрослых животных рядом авторов. Последние указывают на повышение СДГ-активности фолликулярного эпителия, увеличение площади его поверхности, появление в нем многочисленных митозов. Имеются также сведения о повышении уровня тиреотропного и тиреоидных гормонов в крови. Подчеркивается, что активация щитовидной железы в период формирования лихорадки связана с усилением симпатических влияний. Десимпатизация устраняет активацию органа, развивающуюся под влиянием пирогенов [2; 4].

Анализ полученных результатов и данных литературы позволяет прийти к следующему заключению. Щитовидная железа у новорожденных животных, аналогично как и у взрослых, вовлекается в формирование терморегуляторных механизмов, направленных на поддержание более высокого, чем в норме, теплосодержания и повышенной температуры тела при развитии лихорадочного ответа на пироген. Как однократное, так и длительное введение пирогенала способствует развитию комплекса взаимосвязанных структурно-функциональных изменений в щитовидной железе: повышению уровня активности изучаемых ферментов, сопровождаемому усилением нейробиоаминового обеспечения адренергического аппарата органа. У животных, получавших пирогенал в течение 5 дней, интенсивность метаболических процессов в тиреоцитах несколько снижается, хотя значительно превышает контрольный уровень. Возможно, причиной этого является процесс привыкания к постоянному раздражителю, развивающийся в тех или иных отделах ЦНС, связанных с формированием лихорадочного ответа на введение экзогенного пирогена.

Таким образом, отмечаемые морфофункциональные изменения в щитовидной железе новорожденных животных могут рассматриваться как адаптивные с целью использования дополнительных энергетических и функциональных резервов организма в условиях развития лихорадочной реакции.

Выводы:

1. В щитовидной железе 14-дневных крысят через 3 часа после однократного введения пирогенала (10 мкг/кг) обнаружена выраженная активация адренергических структур и ферментов углеводно-энергетического обмена в тиреоцитах. Описываемые изменения сопутствуют максимальному повышению температуры тела ($\Delta t = 1,5^\circ\text{C}$) и свидетельствуют о гиперфункции органа на высоте развития лихорадочной реакции.

2. Многократное введение пирогенала (10 мкг/кг в течение 5 суток, $\Delta t = 0,9^\circ\text{C}$) приводит к менее выраженному повышению активности симпатических нервов и обменных процессов в паренхиме щитовидной железы новорожденных крысят, что свидетельствует о меньшей активации тиреоидной функции в этих условиях.

3. Отмечаемые морфофункциональные изменения в щитовидной железе новорожденных животных носят адаптивный характер и направлены на поддержание более высокого, чем в норме, тепло-

содержания и повышенной температуры тела при развитии лихорадочного ответа на пироген.

Список литературы

1. Ажипа, Я. И. Трофическая функция нервной системы / Я. И. Ажипа. – М., 1990.
2. Гурин, В. Н. Терморегуляция и биологически активные вещества крови / В. Н. Гурин, А. В. Гурин. – Минск, 2004.
3. Ламан, И. В. Роль нейромедиаторов и регуляторных пептидов в процессах жизнедеятельности / И. В. Ламан, Л. И. Арчакова. – Минск, 1999. – С. 308–309.
4. Семененя, И. Н. Терморегуляторные процессы при экспериментальном субфебрилитете: автореф. дис. ... докт. мед. наук. / И. Н. Семененя. – Минск, 2002.
5. Shafer R.B., Oken M.M., Elison M.K. // J. Nucl. Med. 1980. Vol. 21, № 12. P. 1158-1161.

ИЗМЕНЕНИЕ ПРЕССОРНОЙ АДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ СОСУДОВ ЗАДНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ *IN SITU* И СИСТЕМНОГО АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ КРОЛИКОВ ПРИ АДАПТАЦИИ К ХОЛОДУ

Б.Н. Манухин¹, О.В. Ананьева², В.Н. Ананьев³

¹Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН,
Москва, Россия

²Тюменская государственная медицинская академия,
Тюмень, Россия

³Институт медико-биологических проблем РАН,
Москва, Россия

Длительное или повторное воздействия высокой или низкой температуры на организм человека и животных приводят к адаптивной перестройке всех регуляторных систем. В адаптациях организма к изменению температуры окружающей среды существенную роль играет симпатическая нервная система. Так, у теплокровных показано изменение липидов мембран центральной нервной системы (ЦНС) в процессе температурной адаптации [2]. Предполагается, что у крыс ведущую роль в развитии кардио-васкулярной реакции на острый холодный стресс играют α -адренорецепторы ЦНС [6]. Среднее артериальное давление у крысят недельного возраста не изменяется при снижении температуры воздуха с 35 °С до 29 °С, 23 °С и 17 °С. Введение антагонистов α_1 -адренорецепторов (празосин), ангиотензина II (лозартан) и вазопрессина (Manning

сopраund) не влияет на уровень их артериального давления при комфортной температуре, но приводит к его снижению при более низких температурах воздуха [5].

Задачей представленной работы была количественная оценка основных параметров (P_m , EC_{50}) α -адренергических реакций артерий задних конечностей *in situ* и системного артериального давления кролика *in vivo* в разные сроки адаптации к холоду.

Материалы и методы. Адаптацию кроликов к холоду проводили путем ежедневного в течение 1–30 сут их содержания по 6 ч в камере при 10 °С. В каждой из 9 групп контрольных и адаптированных к холоду было от 20 до 32 животных. Все расчеты проводили по средним результатам для каждой группы. В опытах *in situ* через бедренную артерию кролика кровью этого же животного перфузировали артериальные сосуды задней конечности с помощью насоса в режиме стабилизированного кровотока. [1]. Ответ на вводимые вещества определяли в мм рт. ст. по разнице между фоновым уровнем и величиной реакции.

При количественном анализе экспериментальных результатов исходили из того, что сократительная реакция гладких мышц, в том числе и сосудов, на медиаторы и агонисты специфических рецепторов описывается уравнениями:

$$p = (P_m A^n) / (EC_{50}^n + A^n), \quad (1)$$

где p – величина реакции артериального давления на агонист в концентрации $[A]$; P_m – величина максимальной реакции артериального давления; EC_{50} – концентрация агониста, вызывающего реакцию равную половине максимальной ($P_m/2$); n – коэффициент Хилла. Интегральным показателем эффективности реакции является параметр $E = P_m/2EC_{50}$ [3]. Величина EC_{50} является количественной характеристикой специфической чувствительности рецепторов к агонисту и активности агониста по отношению данным рецепторам. Математическую обработку экспериментальных результатов проводили с помощью программы SigmaPlot. Достоверность различий между контролем и опытом оценивали по критерию Стьюдента ($p < 0,05$). Все значения представлены как среднее арифметическое и стандартная ошибка средней ($M \pm sem$).

Результаты и обсуждение. Проведенный в контроле расчет параметров адренергических реакций сосудов задних конечностей и системного артериального давления по уравнению (1) показал, что наименьшая ошибка получена при $n = 1$.

В контроле EC_{50} норадреналина $5,02 \pm 0,04$ нмоль/кг для сосудов задней конечности меньше (чувствительность больше), чем системного артериального давления $102,04 \pm 2,6$ нмоль/кг. Для каждого этапа в процессе воздействия холода (1, 10, 30 сут) характерны свои величины основных параметров реакции EC_{50} и P_m . В сосудах задних конечностей наибольшее снижение сродства рецепторов к норадреналину (повышение EC_{50} в четыре раза) происходит после однократного воздействия холода. При этом величина максимальной реакции на норадреналин возрастает в два раза с $196 \pm 0,57$ до $415 \pm 4,95$ мм рт. ст. Эффективность реакции (E) на норадреналин при этом снижается с $19,52 \pm 0,16$ до $10,38 \pm 1,44$ мм рт. ст./нмоль.кг).

В результате реципрокного изменения основных параметров, величина интегрального показателя E меняется меньше, чем основных параметров. После 10-дневной адаптации к холоду EC_{50} снижается – чувствительность прессорной реакции к норадреналину становится достоверно выше контрольной, величина P_m снижается почти до уровня контроля. В этих условиях существенно возрастает эффективность реакции – до $30,06 \pm 0,28$ мм рт. ст./нмоль. кг). На 30-е сут адаптации к холоду EC_{50} возвращается к норме, P_m также почти нормализуется. За время адаптации к холоду между параметрами EC_{50} и P_m высокая корреляция – $r = 0,97$. На графике Скетчарда (рис. 1А) видно изменение величины P_m по точке пересечения с осью абсцисс и E – с осью ординат. Однонаправленность изменений EC_{50} и P_m также приводит к значительно меньшим отклонениям от нормы величины E .

При адаптации кроликов к холоду происходит реципрокное изменение величины максимальной реакции и специфической чувствительности адренергической прессорной реакции сосудов задних конечностей кролика, что ослабляет стрессорное влияние холода на α -адренорецепторы артериальных сосудов *in situ*. Адаптация кроликов к холоду в течение 30 дней приводит также к значительным изменениям прессорной реакции системного артериального давления на норадреналин. После однократного воздействия холода не происходит изменения сродства (EC_{50}) рецепторов к норадреналину. При 10 и 30 суточной адаптации чувствительность к норадреналину становится выше контрольной более чем в три раза.

Второй основной параметр реакции P_m также изменяется в зависимости от количества низкотемпературных воздействий. При

всех сроках адаптации к холоду величина максимальной реакции достоверно снижается. Наибольшее снижение, более чем в два раза, происходит на 10-е сут адаптации. Однонаправленность изменений EC_{50} и P_m приводит к тому, что эффективность реакции (величина E) изменяется в меньшей степени.

При различии величины основных параметров в 2,5–3 раза, максимальная разница в величине E не превышает двух раз на 30 сутки адаптации ($0,78 \pm 0,02$ и $1,72 \pm 0,02$ мм рт. ст./нмоль. кг). В результате адаптации к холоду величина E после однократного воздействия снижается, а после 10 и 30 сут возрастает. Коэффициент корреляции между параметрами EC_{50} и P_m адренергической реакции системного артериального давления на норадреналин в период адаптации к холоду – $r = 0,84$.

Соответствие реакции артериального давления на норадреналин уравнению (1) для сосудов задних конечностей и системного артериального давления демонстрируется в координатах Скетчарда (рис.). На графике экспериментальные точки для контроля и всех сроков адаптации хорошо укладываются на прямых, пересечение которых с осью абсцисс соответствует величине P_m , а ординат отражает изменение E .

Параметры, характеризующие активность адренергических реакций разных экспериментальных моделей, позволяют сравнить способность агонистов адренорецепторов реагировать на специфические воздействия.

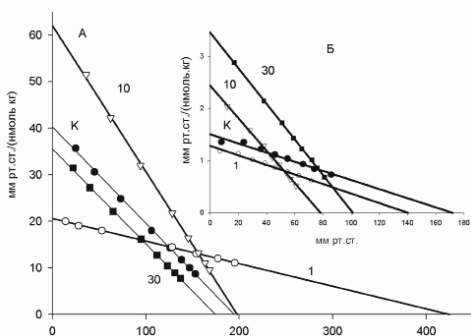


Рис. Влияние адаптации кроликов к холоду на реакцию артериального давления сосудов задних конечностей на норадреналин (А) и прессорную реакцию системного артериального давления на норадреналин (Б).

По оси абсцисс: величина артериального давления, мм рт. ст.; по оси ординат: – мм рт. ст./нмоль/кг, К – контроль, 1, 10, 30-е сутки адаптации к холоду

По действию на артериальное давление в двух исследованных моделях норадреналин по величине EC_{50} примерно в 20 раз активней на сосудах задних конечностей кролика, чем на системном артериальном давлении (5,02 и 102,0 нмоль/кг). Сравнить величины P_m разных экспериментальных моделей не всегда корректно, их совпадения и различия определяются особенностями эксперимента.

Адаптация животных к низкой температуре вызывает изменения в параметрах α -адренергических реакций артериального давления. Происходит реципрокное изменение величины максимальной реакции и специфической чувствительности рецепторов, что ослабляет влияние холода при действии агониста на артериальное давление.

Приведенные результаты показывают, что при многократных холодовых воздействиях происходят адаптивные изменения адренорецепторных механизмов артериальной системы кроликов. Адаптация проявляется в частичном восстановлении величин основных параметров адренергической реакции, что обеспечивает определенную нормализацию реакции артериальной системы при холодовом стрессорном воздействии как по величине основных параметров (EC_{50} и P_m), так интегральному показателю – E .

При адаптации кроликов к холоду в условиях перфузии артериальных сосудов *in situ*, в условиях отключения центральных и периферических регуляторных систем происходит качественно одинаковые изменения в величине основных параметров α -адренергических реакций. В первую очередь на это указывает высокая корреляция между всеми параметрами, характеризующими адренергические реакции *in situ*. В опытах *in vivo* характер изменения параметров адренергической реакции не коррелирует с параметрами реакции *in situ*. В таких условиях эксперимента реакция артериального давления зависит не только от локальных изменений в сосудистом русле, но и, вероятно, модулируется центральными и периферическими регуляторными механизмами.

Возможно, что в некоторых случаях показанные в данной работе адаптивные изменения активности (EC_{50}) и величины (P_m) адренергической реакции сосудистой системы кроликов при адаптации к холоду обусловлены временной активацией «молчащих» рецепторов за счет их экспрессии или транслокации [4]. Пока нет конкретных данных о том на рецепторном или пострецепторном

уровнях действие низкой температуры приводит к перестройке эффекторной α -адренергической реакции артериального давления и его адаптации к этому стрессорному воздействию. По-видимому существует прямое действие холода как на рецепторы, так и на пострецепторные пути реализации адренергической реакции.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (02-04-48378а, 05-04-48340а).

Список литературы

1. Ананьев, В. Н. Адренорецепторы артерий различных сосудистых регионов при адаптации к холоду / В. Н. Ананьев, Д. Г. Сосин, П. Н. Жвавый. – Тюмень, 1997.
2. Гурин, В. Н. Терморегуляция и симпатическая нервная система / В. Н. Гурин. – Минск, 1989.
3. Манухин, Б. Н. [и др.] // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 1998. – Т. 84. – № 10. – С. 1049–1060.
4. Bailey, S. R. [et al.] // Circ. Res. – 2004. – Vol. 94. – № 10. – P. 1367–1374.
5. Blumberg M. S., Knoop T. G., Kirby R. F. // Am. J. Physiol. – 2001. – Vol. 281. – № 5. – P. R1514–R1521.
6. Tan Y., Gan Q., Knuepfer M. M. // Brain Res. – 2003. – Vol. 968. – № 1. – P. 122–129.

РОЛЬ М-ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ БАЛАНСА СИСТЕМЫ ПРОТЕОЛИЗА ПРИ ТЕПЛОВОМ СТРЕССЕ

Д. К. Мардас., В. Н. Никандров

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Роль протеиназ и их ингибиторов в живом организме многогранна. Протеолитические ферменты осуществляют контроль за функционированием и дифференцировкой тканей и органов, а также процессы адаптации и защиты. От активности протеиназ зависят образование активных и гуморальных факторов пептидной и белковой природы и их деградация. В норме существует определенное динамическое равновесие между протеиназами и их ингибиторами, изменение которого может привести к нарушению гомеостаза вследствие дезинтеграции в разных функциональных звеньях [1]. Известно, что нормальное функционирование организма возможно только в ограниченном диапазоне температур. Высокая температура среди различных неблагоприятных факторов внешней среды занимает особое место. Ее действие приводит к из-

менениям во многих регулирующих системах. Если эти изменения переходят определенную грань, то это непременно сказывается на биохимических константах, и негативно отражается на функциях организма. До последнего времени влияние высоких температур на состояние звеньев системы протеолиза не стало предметом специальных исследований. Неясными остаются и механизмы изменения активности протеиназ и их ингибиторов в условиях стрессов разной биологической модальности. Ввиду того, что млекопитающие и человек постоянно соприкасаются с высокими температурами окружающей среды, как в силу особенности некоторых климатических зон, так и при работе на различных производствах, актуальным было бы проведение подобных исследований с целью оценки возможных сдвигов, которые происходят в системе протеолиза. Ввиду наличия сведений о вовлечении холинорецепторов в контроль глубокой температуры тела при гипо- и гипертермии [2], важно выяснение участия холинергических систем в поддержании баланса протеиназ и их ингибиторов при перегревании.

Цель работы состояла в изучении трипсиноподобной активности, активности ингибиторов протеиназ плазмы крови альфа-1-антитрипсина (α_1 -АТ), и альфа-2-макроглобулина (α_2 -МГ), а также оценке уровня кортикостерона (КС) как маркера выраженности стресс-реакции до и после блокады М-холинорецепторов атропином и их стимуляции пилокарпином в условиях перегревания организма крыс.

Материалы и методы. Опыты выполнены на 56 взрослых крысах-самцах массой 190–210 г. Животные были разделены на 7 групп, 2 контрольные и 5 опытных, в каждой по 8 крыс. Крысам одной из контрольных групп однократно в боковую вену хвоста вводили 0,9 % апирогенный физиологический раствор хлорида натрия в объеме 0,4 мл на крысу, животным двух опытных групп – также однократно блокатор или миметик М-холинорецепторов: атропин или пилокарпин, один для каждой группы, в дозах 1 и 5 мг/кг соответственно. Препараты вводили непосредственно перед перегреванием животных. Крыс контрольных групп выдерживали в термокамере в условиях нормотермии (25–26 °С), а животных всех опытных групп при 35 °С. Температуру тела измеряли в прямой кишке на глубине 3 см с помощью электронного термометра МТ-1831, фирмы Microlife (Швейцария). Трипсиноподобную активность определяли по количеству отщепленного от БАПНА

(N- α -бензоил-DL-аргинин-паранитроанилид) п-нитроанилина, активность ингибиторов протеиназ – функциональным методом И. Ю. Корягиной и соавторов [3]. Концентрацию КС определяли в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа, используя стандартные тест-наборы фирмы Immunotech (Чехия). Калибровочные пробы были приготовлены из сыворотки крови крыс по методу К. А. Прядко и соавторов [4]. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием t-теста Стьюдента.

Результаты и обсуждение. На первом этапе работы установлено, что температура тела повысилась через 60, 180 и 360 мин, соответственно на 1,0 °С, 0,96 °С и 1,5 °С. Трипсиноподобная активность плазмы крови через 60 и 180 мин перегревания достоверно не изменялась, а через 360 мин понизилась на 43,4 % ($P < 0,05$) по сравнению с контролем ($7,71 \pm 0,01$ нмоль/с л). В контроле активность α_2 -МГ и α_1 -АТ составляла $0,7 \pm 0,03$ и $5,8 \pm 0,01$ мкмоль/с л, соответственно. Через 180 мин перегревания наблюдалось повышение активности лишь альфа-2-макроглобулина на 51,4 % ($P < 0,001$). Поскольку ранее такое же по направленности изменение активности альфа-2-макроглобулина в плазме крови было зарегистрировано при охлаждении животных [4], возможно предположить обусловленность их включением механизмов развития состояния стресса. Повышение концентрации кортикостерона, как известно, является классическим признаком реакции организма на стресс [5]. Оказалось, что концентрация КС как показателя активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы через 180 мин перегревания возросла на 111,5 % ($P < 0,005$) по сравнению с контролем ($18,37 \pm 94$ нмоль/л). Таким образом, повышение активности ингибиторов протеиназ в условиях перегревания можно рассматривать как один из компонентов неспецифической реакции организма на стресс.

При химической денервации М-холинорецепторов с помощью атропина через 180 мин перегревания уровень трипсиноподобной активности понизился на 59,67 % ($P < 0,001$), а после стимуляции М-холинорецепторов пилокарпином, не отличался от контрольных величин ($12,68 \pm 1,37$ нмоль/с л). Активность α_2 -МГ в условиях блокады М-холинорецепторов достоверно не изменялась, тогда как стимуляция последних привела к нарастанию активности α_2 -МГ и α_1 -АТ на 57,98 % ($P < 0,001$) и 26,13 % ($P < 0,05$), со-

ответственно, по сравнению с контролем, где для α_2 -МГ и α_1 -АТ она составила $14,09 \pm 5,5$ и $0,89 \pm 0,6$ мкмоль/с·л, соответственно. Была определена и концентрация кортикостерона при перегревании, в условиях блокады и стимуляции М-холинорецепторов. Его содержание в условиях блокады рецепторов атропином составило $50,87 \pm 6,2$ нмоль/л, а при стимуляции пилокарпином – $22,75 \pm 3,4$ нмоль/л против $12,87 \pm 2,71$ нмоль/л в контроле. Следует отметить интересную закономерность в изменении концентрации кортикостерона в условиях перегревания при блокаде и стимуляции М-холинорецепторов, которая проявляется в постепенном снижении содержания данного глюкокортикоида на фоне повышения активности ингибиторов протеиназ, и наоборот.

Итак, на основании полученных данных складывается впечатление, что М-холинорецепторы способны обеспечивать поддержание баланса в системе протеолиза при тепловом стрессе.

Данные, полученные в исследовании приближают к пониманию механизмов регуляции активности протеиназ и их ингибиторов в организме в условиях стресса экзогенного происхождения, а также открывают перспективы целенаправленного влияния на работу систем организма с целью их коррекции в условиях напряжения функций.

Список литературы

1. Веремеенко, К. Н. Протеолиз в норме и при патологии / К. Н. Веремеенко, О. П. Голобородько, А. И. Кизим. – Киев, 1988. – С. 78–197.
2. Гурин, В. Н. Холинергические механизмы регуляции обменных процессов / В. Н. Гурин. – Минск, 1978.
3. Mardas, D. K. Medico-Biological Problems of Thermophysiology / D. K. Mardas. – Minsk, 2002. – P. 99–101.
4. Корягина И. Ю., Зарембский Р. А., Балябина М. Д. // Лаб. дело. – 1990. – № 1. – С. 72–73.
5. Прядко, К. А. [и др.] // Пробл. эндокринологии. – 2000. – Т. 46. – № 3. – С. 28–31.

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ИНФРАКРАСНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПОВЕРХНОСТИ ТЕЛА ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ПРИЕМА ПИЩИ

А. С. Медведев, М. Н. Хартман

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

В медицине успешно применяется сравнительно новый метод исследования – тепловидение. В его основе лежит дистантная визуализация инфракрасного излучения (ИКИ) тканей, осуществляемая с помощью специальных оптико-электронных приборов – тепловизоров. Интенсивность ИКИ, регистрируемого тепловизором, характеризует тепловое состояние тканей, их температуру. Этот метод позволяет тонко улавливать даже начальные стадии воспалительных, сосудистых и некоторых опухолевых процессов. В зависимости от повышения или понижения местной температуры на фоне привычных очертаний органа или конечности усиливается или, напротив, ослабевает свечение тканей в области патологии. Согласно многочисленным наблюдениям для каждого человека характерно определенное симметричное распределение температуры по поверхности тела. На выявлении, главным образом, асимметрий теплоизлучения базируются диагностические возможности тепловидения. Тепловизионный метод отличается абсолютной безопасностью, простотой и быстротой исследования, отсутствием каких бы то ни было противопоказаний. Тепловидение дает одновременное представление об анатомопографических и функциональных изменениях в пораженной зоне.

Различные авторы, пользуясь разными методами, доказали, что излучение кожи близко к излучению черного тела при той же температуре. Это связано с тем, что отражательная способность кожи мала и равна примерно 4 % для длин волн более 4 мкм, т. е. в той части спектра, которая характеризует почти все излучение кожи [1; 2; 3; 7]. Максимум излучения живых тканей, имеющих температуру около 37 °С, расположен вблизи длины волны 10 мкм, т. е. в невидимой области спектра, причем каждый квадратный сантиметр живой ткани излучает около 50 мВт – величину, весьма значительную для ее обнаружения.

Интенсивность теплового излучения поверхности тела зависит от активности сосудистых реакций, характера общих и местных обменных процессов, анатомических особенностей участков тела

и других факторов. Другими словами, инфракрасное излучение различных областей человеческого тела находится в прямой зависимости от их кровенаполнения, т. е. от уровня и характера гемодинамики, которые тесно связаны с функциональным состоянием соответствующих органов и тканей. В результате, с помощью регистрации ИКИ можно получить суммарную оценку происходящих в исследуемых областях тела циркуляторных и, соответственно, обменных процессов.

Передача тепла в организме осуществляется не только с помощью кровеносных сосудов (конвекционно), но и контактным путем (так, гипертермированные воспаленные ткани или органы усиливают теплопроводность соответствующих областей). Температурные поля, выявляемые на термограммах, зависят в первую очередь от величины теплового потока, который передается на поверхность тела сердечно-сосудистой системой. Поэтому любой патологический процесс, так или иначе вовлекающий сосудистую систему, находит свое отражение на термограммах. Тепловизионная картина той или иной области тела зависит от притока и оттока крови, т. е. от функционального состояния артерий, вен, а также связывающих их артериол, капилляров и венул. При наличии какого-либо патологического процесса, сопровождающегося воспалительными реакциями, нарушениями кровообращения, обмена веществ, происходит изменение нормальной картины распределения температуры по поверхности тела, что и фиксируется в виде температурной асимметрии. Например, показано, что изменения мощности ИКИ поверхности кожи в эпигастральной области адекватно отражают температурные изменения желудка [2].

На термограммах патологическая термоасимметрия определяется зонами повышенного или пониженного теплового излучения. Величина температурного перепада при патологии обычно превышает $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ и может достигать на брюшной стенке $2\text{--}3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Таким образом, для тепловизионной диагностики заболеваний человека основными критериями служат выявление термоасимметрии и определение величины перепада температуры.

Принято считать, что все циркуляторные процессы, определяющие теплообмен человека, регулируются вегетативной нервной системой. Так, проба с нагреванием определенной части тела сопровождается повышением температуры симметричного участка, которая постепенно затухает по мере адаптации организма к по-

вторным пробам. Это доказывает, что нервно-рефлекторная регуляция сосудов одной рефлексогенной зоны обеспечивает возникновение подобного эффекта в сосудистой сети соответствующей рефлексогенной зоны. Поэтому термографическое исследование необходимо проводить строго симметрично, билатерально (двусторонне). Нельзя делать выводы только на основании термографического рельефа пораженной стороны тела. Человеческому организму свойственны региональные особенности кровообращения, поэтому в архитектонике сосудистой системы нет идеальной симметрии, и отдельные участки тела, как в норме так и при различной сосудистой патологии выглядят по-разному.

Цель настоящей работы заключалась в выяснении вопроса о влиянии деятельности желудочно-кишечного тракта на уровень ИКИ поверхности тела

Материалы и методы. Исследования динамики ИКИ поверхности тела в эпигастральной области проводили на испытуемых, у которых отсутствовали какие-либо жалобы и объективные данные о патологии желудочно-кишечного тракта, натошак. А для сопоставления изменений ИКИ с моторной деятельностью желудка в процессе пищеварения – после приема пищи. Измерение ИКИ производилось с использованием тепловизора марки «Irtis-200ME». Эксперименты проводили в помещении при постоянной температуре окружающей среды 21 °С в течение 30 мин натошак и в течение 40 мин с момента приема пищи. В качестве пищевой нагрузки использовался хлеб в количестве 200 г. На протяжении 20–30 мин регистрировался исходный уровень ИКИ передней поверхности туловища испытуемого. Затем ему давалась пища и в течение 40 мин велась непрерывная регистрация ИК-излучения.

Результаты и обсуждение. Выраженность флуктуаций радиационной температуры отличалась у одного и того же испытуемого, составляя 0,5–1,0 °С по сравнению с фоновым уровнем. Скорость изменения ИКИ у всех испытуемых была разной: иногда нарастание уровня ИКИ происходило почти мгновенно, а иногда – постепенно, на протяжении 10–30 минут. Подъем уровня ИКИ мог осуществляться поэтапно. Вначале радиационная температура нарастала быстро (10–15 секунд), затем следовал период стабильной тепловой картины, сменяемый быстрым подъемом до максимального значения. Максимальное значение мощности ИКИ могло сохраняться разное время (10–20 минут), с последующим

снижением. Изменения ИКИ регистрировались чаще всего на передней брюшной стенке, с большей выраженностью в эпигастрии. В других областях передней поверхности тела тепловая картина, в основном, оставалась стабильной.

Для уточнения локализации описанных выше вариаций ИКИ была проведена серия контрольных исследований с регистрацией ИКИ в области передней поверхности бедра у тех же испытуемых. При этом лишь в одном случае было зарегистрировано кратковременное и слабовыраженное повышение радиационной температуры.

Известно, что при приеме пищи наблюдается либо первоначальное снижение скорости кровотока в сосудах кишечника, либо кровоток усиливается или не изменяется [4; 6]. Кроме того, одной из причин фазных и волнообразных изменений ИКИ может быть то, что первая фаза обусловлена усилением перистальтики и тонуса дна, тела и кардиального отдела желудка, а далее электрическая активность этих отделов падает (2 фаза) [5].

Таким образом, анализ полученных результатов указывает на то, что периодическая моторная деятельность желудочно-кишечного тракта сопровождается изменением ИК-излучения на передней поверхности тела.

Список литературы

1. Гай П., Леманн Р. // ТИИЭР. 1980. – Т. 68. - № 1. – С. 66–93.
2. Мирошникова, М. М. Клиническое тепловидение / М. М. Мирошникова. – СПб., 1999.
3. Шван Л., Фостер О. // ТИИЭР. – 1980. – Т. 68. – №1. – С. 121–132.
4. Коротько Г. Ф., Мусаев А. // Бюл. эксперим. биол. и. мед. – 1969. – Т. 68. – № 10. – С. 22–24.
5. Собакин М. А., Привалов И. А. // Бюл. эксперим. биол. мед. – 1976. – Т. 81. – № 4. – С. 506–507.
6. Koroťko G. F., Musaev A., Nuritdinov B., Sukhoterina L. A. // Eisei. Shikenjo. Hokoku. – 1970. – Vol. 88. – P. 663–670.
7. Tira R., Baltag O. // Rom. J. Phys. – 2006. – Vol. 51. – P. 371–377.

ТЕМПЕРАТУРА ТЕЛА БЕРЕМЕННЫХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА И ТАУРИНА

Т. С. Милош, Н. Е. Максимович

Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь

Лихорадка является важным защитно-приспособительным процессом, возникающим в ответ на проникновение в организм инфекционных агентов. Показано, что лежащие в основе ее возникновения механизмы связаны не только с образованием эндогенных пирогенов, но с участием оксида азота, действие которого может носить как центральный, так и периферический характер [1; 2]. Получены данные о пролонгирующем эффекте селективного ингибитора индуцируемой изоформы NO-синтазы (iNOS) аминуганидина на развитие лихорадочной реакции в эксперименте. В экспериментах *in vitro* выявлен нейтрализующий эффект аминокислоты таурин в отношении нитритов как стабильных метаболитов оксида азота. Особую роль лихорадка может играть в период беременности, приводя к различным перинатальным нарушениям [3].

Целью исследований явилось изучение эффектов таурина на изменения температуры тела беременных крыс при эндотоксикозной лихорадке.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 12 белых беременных крысах-самках массой 200–250 г, разделенных на две группы.

В первой группе крысам осуществляли внутривенное введение липополисахарида (ЛПС) *E. coli* (“Sigma») в дозе 0,4 мг/кг ($n = 7$) (контроль), крысам второй группы наряду с ЛПС осуществляли внутримышечное введение аминокислоты таурин ($n = 4$) (100 мг/кг) в 0,5 мл изотонического раствора NaCl ($n = 5$). В течение 12 часов у крыс осуществляли измерение ректальной температуры с помощью электротермометра, а также в конце эксперимента определяли концентрацию нитритов и нитратов в плазме крови общепринятым методом с использованием реактива Грисса [4].

Результаты и обсуждение. Установлено, что в отличие от животных, получавших только ЛПС, у крыс с введением таурина и ЛПС протяженность лихорадочной реакции составила 6 часов, что

не отличалось от значений контрольной группы. В опытной группе крыс концентрация нитритов и нитратов в плазме крови была на 19,2 % меньше, чем в контрольной группе. Отсутствие изменений в течении лихорадочной реакции у крыс с введением таурина свидетельствует об отсутствии изменений со стороны механизмов теплоотдачи, несмотря на снижение концентрации стабильных метаболитов оксида азота, который является вазодилататором. Причиной отсутствия таких изменений может быть не недостаточное образование оксида азота в эндотелии сосудов, а связывание нитритов – продуктов метаболизма оксида азота таурином, что не оказывает влияние на реализацию периферических механизмов терморегуляции.

Список литературы

1. Гурин, В. Н. Терморегуляция и биологически активные вещества крови / В. Н. Гурин, А. В. Гурин. – Минск, 2004.
2. Нихельман, М. Температура и жизнь / М. Нихельман. – Минск, 2001.
3. Макаров, О. В. Акушерство и гинекология / О. В. Макаров. – 2004. – № 1. – С. 10–13.
4. Granger D. N., Kubes P. // *Methods in Enzymology*. – 1996. – Vol. 269. – P. 434–442.

ВКЛАД МОНООКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЙ СЕРДЕЧНОГО РИТМА, ВЫЗВАННЫХ ПЕРЕГРЕВАНИЕМ ОРГАНИЗМА

*Г. С. Полюхович¹, В. Ф. Сагач², Г. Т. Маслова¹, С. А. Руткевич¹,
Т. П. Шухно¹, В. Б. Казакевич¹, А. Г. Чумак¹*

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины,
Киев, Украина

Валерий Николаевич Гурин продуктивно работал во многих областях физиологии [1]. В основе его широкой эрудиции, выходящей за рамки только узкоспециальной деятельности, лежали незаурядные профессиональные способности и личностные качества. Существенную долю отпущенного ему времени он посвятил преподаванию. Последние два десятилетия он работал заведующим и профессором кафедры физиологии человека и животных в БГУ. Здесь он инициировал исследования и привлек сотрудников, пре-

подавателей и аспирантов к изучению системы терморегуляции организма как классической функциональной системы, использующей набор разнообразных анатомических систем для реализации своих функций. Не случайно, именно он читал два специальных курса для студентов-физиологов – «Физиологию терморегуляции» и «Физиологию функциональных систем». Заложенные им представления о роли сигнальных молекул, прежде всего монооксида азота и биологически активных веществ крови, в регуляции температуры тела продолжают служить ориентирами при выполнении новых тем, в том числе совместно с коллегами из Института физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины. Это сотрудничество началось благодаря Валерию Николаевичу.

Усиление активности симпатической нервной системы, а также напряжение механизмов регуляции сердечной деятельности при предъявлении организму тепловых нагрузок хорошо известно [2]. Также не вызывает сомнений симпатизирующий характер эффектов внутривенного введения ингибиторов NO-синтаз [3; 4]. Относительно же возможного использования монооксида азота как сигнальной молекулы популяциями сегментарных интернейронов или симпатических преганглионарных нейронов, вовлеченных в реакции организма при действии высокой температуры, сведений в литературе мало. Допустить использование NO в качестве медиатора или модулятора в нейрохимическом обеспечении тонуса «термокомпетентных» симпатических эфферентов правомочно, если исходить из широкой распространенности NO-синтаз в нейронах дорсальных рогов и интермедиолатеральной области спинного мозга [5]. Таким образом, регулирующие влияния симпатической нервной системы на сердце и сосуды, включая венечные, при тепловом стрессе могут существенно меняться. Вклад NO в эти процессы может быть ключевым.

С другой стороны, известно, что монооксид азота вовлечен в местную регуляцию кровотока в миокарде, в том числе при окклюзионных нарушениях. Ишемия миокарда, которая сменяется последующей реперфузией, сопровождается, как известно, выраженными нарушениями сердечного ритма. Роль монооксида азота в развитии этих аритмий исследовалась в различных экспериментальных моделях. Рядом авторов показано благотворное влияние доноров монооксида азота и метаболического предшественника NO L-аргинина на постишемическое восстановление ритма сердца,

в то время как разные ингибиторы NO-синтаз, в частности, L-NNA и L-NAME, усиливали тяжесть ишемических и постишемических нарушений [6]. Эти результаты свидетельствуют о защитной роли эндогенного монооксида азота при недостатке кровоснабжения миокарда. Однако в литературе можно найти и противоположные мнения [7]. Возможно, роль NO в сосудах миокарда зависит от протекания сопутствующих процессов, в частности, связанных с образованием свободных радикалов и уровня антиоксидантных резервов клеток. Поэтому в работе было проведено определение в миокарде и крови концентрации восстановленного глутатиона как маркера перекисных процессов.

Цель работы заключалась в анализе роли NO в системных и местных, на уровне миокарда, процессах, нарушающих ритм сердечных сокращений при тепловом стрессе.

Материал и методы. Острые опыты проведены на 32 крысах, находящихся под тиопенталовым наркозом (70 мг/кг). Животных помещали в термостатируемую камеру. Контролировалась глубокая температура тела с помощью электронного термометра и состояние животных (частота и глубина дыхания, ЭКГ, регистрируемая во втором стандартном отведении). После соответствующих оперативных процедур импульсация брюшноаортальных нервов регистрировалась биполярными подвесными электродами из хлорированного серебра в нормальных температурных условиях ($t = 37,0 - 37,5$ °C) и в условиях гипертермии ($t = 41,0$ °C). Повышение концентрации монооксида азота в ликворе достигалось интратекальным (кончик катетера на уровне Th_8-Th_{10}) введением его донора нитропруссид натрия (100 мкмоль/л в 0,1 мл, доза заимствована из [5]). Запись нейрограмм и оценку интенсивности эфферентной симпатической импульсации по показателю ее частоты проводили с помощью оригинальных компьютерных программ [8].

Окклюзионную ишемию-реперфузию миокарда левого желудочка моделировали, как описано ранее [9].

Результаты и обсуждение. Установлено, что перегревание, вызывающее повышение ректальной температуры животных до 41°С, сопровождалось длительным (до 3 часов) усилением частоты импульсной активности нервов брюшно-аортального сплетения от 21 ± 12 имп/с (фон) до 63 ± 18 имп/с ($P < 0,05$), а также увеличением частоты сердечных сокращений (ЧСС). Прирост последней в

среднем составил от 365 ± 13 до 415 ± 20 уд/мин ($P < 0,05$, $n = 7$) с манифестацией нарушений сердечного ритма. Интратекальное введение свежеприготовленного раствора нитропруссид натрия крысам, у которых вызывалась гипертермия, но не контрольного его раствора, инактивированного длительной выдержкой на свету, вызывало усиление импульсной активности брюшноаортального нерва дополнительно до 75 ± 8 имп/с ($P < 0,05$) и увеличение ЧСС до 454 ± 7 уд/мин ($P < 0,05$). Введение искусственной спинномозговой жидкости (как контроль) существенными эффектами не сопровождалось.

Полученные результаты свидетельствуют о способности NO эффективно влиять на спинномозговые процессы формирования импульсной активности симпатических преганглионарных нейронов, или интернейронов, синаптически с ними связанных, в развитии теплового стресса у крыс.

Механизмы, лежащие в основе нарушения сердечного ритма, обнаруженные у крыс при тепловой нагрузке, могут быть не только системными, но и местными. В специальных сериях опытов было установлено, что у контрольных крыс максимальная встречаемость желудочковых аритмий отмечалась в конце 12-минутного ишемического периода, а у предварительно перегретых – на 4–6 мин ишемии (при этом экстрасистолия встречалась в 100 % случаев, тахикардия – в 50 ± 8 %, трепетание – 67 ± 7 %, а наиболее опасные желудочковые фибрилляции – в 83 ± 6 % случаев). Что касается реперфузионных нарушений ритма, то их выраженность зависела не столько от температурного фона, сколько от тяжести ишемических повреждений миокарда в момент восстановления кровотока и была ниже у крыс, подвергавшихся тепловому стрессу. У перегреваемых крыс, которым был предварительно введен ингибитор NO-синтазы L-NNA (10 мг/кг, внутривенно за 10 мин до перегревания) и неактивного изомера нитроаргинина D-NNA (в той же дозе), «расписание» появления ишемических желудочковых аритмий было приблизительно одинаковым и похожим на реакции у перегреваемых крыс без введений. Однако, выраженность аритмогенеза на фоне D-NNA, и особенно L-NNA, была значительно ниже, полностью отсутствовали желудочковые фибрилляции.

Таким образом, тепловое воздействие ухудшало функциональное состояние миокарда только в начальный период ишемии (первые 6–8 минут), что выражалось в появлении грубых наруше-

ний ритма. Они были преходящими и почти полностью исчезали к началу восстановления кровотока. Предварительное введение крысам ингибитора NO-синтазы перед перегреванием приводило к явному снижению ишемических повреждений миокарда (при сохранении той же динамики), что способствовало более эффективному восстановлению ритма после реперфузии.

Возможно, L-NNA предотвращал избыточный синтез NO (характерный для состояния ишемии и, особенно для стадии последующей реперфузии миокарда [10]), а значит и его взаимодействие с супероксидным анион-радикалом и образование высокотоксичного пероксинитрита. Дополнительные аргументы в пользу такого допущения получены в следующих сериях опытов.

В тканях крыс (кровь, сердце, печень, мозг), в том числе после их перегревания, определен уровень восстановленного глутатиона (GSH), оказавшийся максимальным в крови. Этот трипептид, присутствующий во всех клетках человека и животных в значительных концентрациях, играет исключительно важную роль в обмене веществ, благодаря участию в различных антиокислительных и детоксикационных реакциях. В условиях теплового стресса наиболее выраженные сдвиги в содержании GSH найдены в крови, от $3,2 \pm 0,3$ до $2,5 \pm 0,1$ мкмоль/мл ($p < 0,05$), и печени (от $2,5 \pm 0,1$ до $1,7 \pm 0,31$ мкмоль/г, $p < 0,05$). В то же время существенных отклонений уровня GSH в сердце (контроль – $0,8 \pm 0,13$, гипертермия – $0,9 \pm 0,03$ мкмоль/г) и мозге (контроль – $0,65 \pm 0,03$, опыт – $0,68 \pm 0,04$ мкмоль/г) в условиях перегревания не выявлено.

Обнаруженное в работе истощение фонда восстановленного глутатиона в крови и печени при тепловом воздействии позволяет предположить, что оно обусловлено не прямым действием тепла, а является закономерным звеном в развитии системного стрессового ответа организма на перегревание. В литературе приводятся свидетельства того, что уровень GSH во многом определяет реактивность гладкой мускулатуры сосудов по отношению к эндогенному вазодилататору – NO. Например, гемоглобин, являющийся высокоаффинной ловушкой для NO и, вследствие этого, мощным вазоконстриктором при попадании в плазму крови, в присутствии восстановленного глутатиона становится вазодилататором, высвобождающим монооксид азота [11]. Эритроциты, а именно гемоглобин (Hb) служат буфером для NO, накапливая его в форме

SNO-Hb, и способны высвобождать его при снижении рН и рО₂ в тканях, что и происходит при артерио-венозном транзите [12]. Изменения уровня восстановленных тиолов в тканях (главным из которых является GSH) также влияют на скорость высвобождения запасенного монооксида азота

Снижение уровня GSH при тепловой нагрузке создает условия для депонирования NO в эритроцитах и, возможно, является адаптивным механизмом, снижающим действующую концентрацию свободных радикалов в сосудах при стрессе.

Таким образом, полученные данные позволяют утверждать, что NO вовлечен в регуляцию сердечного ритма у крыс в условиях теплового стресса. Во-первых, монооксид азота эффективно меняет уровень симпатической активности на периферии при его центральном интратекальном введении. Во-вторых, системное снижение уровня NO с помощью ингибитора NO-синтазы предотвращает развитие тяжелых аритмий, развивающихся при перегревании. В третьих, хотя непосредственно в ткани сердца уровень восстановленного глутатиона не меняется, обнаруженные эффекты можно связать с влиянием сосудистого компонента. Поскольку в сосудах пул глутатиона значительно истощается, он используется для поддержания окислительного равновесия при длительном действии факторов теплового стресса.

Работа выполнена по гранту БРФФИ № Б07К-041.

Список литературы

1. Валерий Николаевич Гурин. Библиография ученых Беларуси. – Минск, 1998.
2. Гурин В.Н. Терморегуляция и симпатическая нервная система. – Минск, 1989.
3. Arnolda L. F., McKittrick D. J., Llewellyn-Smith I. J., Minson J. B. // *Hypertension*. – 2000. – Vol. 36. – P. 1089–1092.
4. Augustyniak R. A., Victor R. G., Morgan D. A., Zhang W. // *Am. J. Physiol.* – 2006. Vol. 290. P. R726-R732.
5. Brack K. E., Watkins N., Pyner S., Coote J. H. // *Neuroscience*. – 2007. – Vol. 150. – P. 487–497.
6. Pernow J., Wang Q. D. // *Acta Physiol. Scand.* – 1999. – Vol. 167. – P. 151–159.
7. Flögel U., Decking U. K., Gödecke A., Schrader J. // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 1999. Vol. 31. – P. 827–836.
8. Солтанов В. В., Бурко В. Е. // *Новости мед.-биол. наук*. 2005. – № 1. – С. 90–96.
9. Полюхович, Г. С. Сигнальные механизмы регуляции физиологических функций: сб. науч. статей / Г. С. Полюхович, Ю. Г. Ягелович. – Минск, 2007. – С. 195–198.

10. Liang, F. [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2004. – Vol. 62. – P. 568–577.
11. Tejedor, C. [et al.] // *Crit. Care Med.* – 2002. – Vol. 30. – P. 2493–2500.
12. Stamler, J. S. [et al.] // *Science.* 1997. – Vol. 276. – P. 2034–2037.

ИЗУЧЕНИЕ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ПУРИНОВ В ГИПОТАЛАМУСЕ ПРИ ЛИХОРАДКЕ*

Д. М. Попутников

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь
Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь

Развитие системного воспаления при инфекции сопровождается проявлением ряда симптомов, таких как сонливость, лихорадка, потеря аппетита и др. Эти адаптивные ответы, развившиеся в процессе эволюции, регулируются центральной нервной системой (ЦНС). Важное значение в формировании этих ответов принадлежит провоспалительным цитокинам (интерлейкин (ИЛ)-1b, ИЛ-6, ФНОa и др.), которые синтезируются при лихорадке [4; 8]. Однако механизм, который является ответственным за синтез цитокинов в мозге при действии бактериального эндотоксина, остается до конца не выясненным.

Внеклеточный аденозинтрифосфат (АТФ) может вызывать высвобождение цитокинов глией через активацию ионотропных P2X7 рецепторов [7]. Установлено, что действие бактериального липополисахарида (ЛПС) сопровождается значительной экспрессией P2X7 рецепторов в мозге [2]. В нашем недавнем исследовании было показано, что системная блокада P2X7 рецепторов подавляет развитие лихорадки и понижает содержание воспалительных цитокинов в плазме крови у крыс [5]. Специфические ионотропные P2X и метаботропные P2Y рецепторы широко распространены в ЦНС. В некоторых синапсах АТФ действует как быстрый нейромедиатор и может модулировать нейрональную активность во многих областях мозга и внести свой существенный вклад в центральное возбуждающее влияние на некоторые физиологические функции, такие как регуляция температуры тела, сердечно-сосудистой и дыхательной систем [1].

Эта функциональная роль внеклеточного АТФ в центральной регуляции физиологических функций, а также его способность к высвобождению провоспалительных цитокинов глией дают основания предположить, что пуринергическая передача нервного сигнала в мозге при системном воспалении может играть важную роль в проявлении симптомов заболевания. Одним из фундаментальных признаков воспалительного ответа является повышение температуры тела. Гипертермия при развитии воспаления направлена на повышение резистентности организма и замедление роста болезнетворных бактерий. Есть основания полагать, что лихорадка развивается под действием провоспалительных цитокинов, синтезируемых в переднем гипоталамусе.

Целью настоящей работы было изучение изменений концентрации внеклеточных АТФ и аденозина в переднем и заднем гипоталамусе у бодрствующих кроликов в условиях эндотоксикозной лихорадки.

Материалы и методы. В опытах использовались взрослые кролики линии Шиншилла массой 2,7–3,2 кг ($n = 45$). Опыты проводили при постоянной температуре окружающей среды 21 ± 1 °С. Для имплантации инъекционных канюль и биотелеметрических датчиков животных наркотизировали кетаминотранквилянтом (45 и 10 мг/кг соответственно) внутримышечно. Датчики температуры помещались в брюшную полость каждого животного для непрерывной регистрации температуры тела. Канюли располагались на черепе животного билатерально в соответствии со стереотаксическими координатами: передний гипоталамус – 0,5 мм каудальнее брегмы, 2,5 мм латеральнее средней линии; задний гипоталамус – 2,5 мм каудальнее брегмы, 2,5 мм латеральнее средней линии и на глубину 14 мм от поверхности черепа. Неподвижность канюль обеспечивалась применением акрилоксида. Эксперименты проводились через 7 суток после операций. По окончании опытов проводился гистологический контроль расположения инъекционных канюль.

Регистрация внеклеточного АТФ основана на использовании двух ферментов: глицерол киназы и глицерол-3-фосфат оксидазы, заключенные в полимер, нанесенный на платиновый электрод. В присутствии глицерина эти два фермента трансформируют АТФ с выделением H_2O_2 , которая обнаруживается электрохимически (предел чувствительности 100 нМ АТФ) [3].

С целью измерения изменений концентрации аденозина на биосенсоры были нанесены аденозин диаминаза, нуклеотид фосфорилаза и ксантин оксидаза, которые последовательно преобразуют аденозин в инозин и затем в ксантин. Последний окисляется до мочевой кислоты с образованием H_2O_2 .

Таким образом, потенциалы, производимые биосенсорами можно интерпретировать как изменения концентраций аденозина, инозина и/или гипоксантина/ксантина. Поэтому в наших экспериментах инозиновый сенсор (т. е. датчик, содержащий только нуклеотид фосфорилазу и ксантин оксидазу) использовался в качестве контрольного, наряду с аденозиновым. Разность в показаниях, полученной от инозинового и аденозинового сенсоров, указывала на изменение уровня аденозина.

Применение сенсоров само по себе не вызывало изменений температуры тела у животных. Биосенсоры были откалиброваны непосредственно до и после эксперимента. Среднее значение этих калибровок использовалось для определения изменения концентраций АТФ и аденозина.

Микроинъекции препаратов в область переднего и заднего гипоталамуса осуществлялись в течение 1–2 мин в объеме 2 мкл. Моделирование лихорадочной реакции достигалось внутривенным введением липополисахарида (ЛПС) *E. coli* в дозе 0,5 мкг/кг в объеме 0,2 мл/кг.

Блокатор P2 рецепторов пиридоксаль-5'-фосфат-6-азофенил-2',4'-дисульфоновая кислота (PPADS, 10 мкг), селективный антагонист P2X7 рецепторов бриллиантовый синий G (BBG, 10мкг) и периодат оксидизированный АТФ диальдегид (oАТФ, 10 и 100 мкг) фирмы Sigma (США) растворялись в искусственной спинномозговой жидкости и вводились за 5 мин до введения ЛПС или физиологического раствора (в контроле). Температура тела мониторировалась за 1 ч до и 6 ч после введения пирогена или контрольного раствора.

Регистрация изменений в концентрации АТФ и аденозина проводилась с использованием программы Spike2 (Великобритания). Изменения уровня пуринов представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение максимального значения (в мкМ) и интегральных показателей (в мкМ*с). Интегральное повышение уровня АТФ оценивалось по площади под кривой относительно прямой линии, являющейся касательной в точках до

и после ответной реакции. Данные температуры тела представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение.

Для статистического анализа использовали *Tukey-Kramer's post hoc* тест для определения главного эффекта группы. Значения считались достоверными при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Системное воспаление, вызванное внутривенным введением ЛПС, сопровождалось повышением температуры тела. Опыты показали, что АТФ-биосенсоры, помещенные в область переднего гипоталамуса, отвечали значительным повышением электрической активности, которое началось с 18 ± 2 мин после внутривенного введения эндотоксина (среднее значение максимума $1,1 \pm 0,1$ нА, интегральный показатель – 322 ± 70 нА*с, $n = 9$). Контрольные сенсоры, в которых отсутствовали необходимые ферменты в их полимерном покрытии, регистрировали лишь незначительные изменения вызванных потенциалов относительно фонового уровня. Изменения, регистрируемые в АТФ-сенсоре, интерпретировались как повышение концентрации внеклеточного АТФ в переднем гипоталамусе (в среднем $4,0 \pm 0,7$ мкМ, $n = 9$). Максимум высвободившегося количества АТФ приходился на 45 ± 2 мин после введения ЛПС. Суммарное количество АТФ, выделившегося в этой области гипоталамуса в первые 120 мин развития воспаления составило 1179 ± 292 мкМ*с ($n = 9$). В области заднего гипоталамуса не зарегистрировано существенных изменений в уровнях внеклеточного АТФ в ответ на действие бактериального эндотоксина.

У трех из шести кроликов обнаружено повышение уровня внеклеточного аденозина в переднем гипоталамусе. Увеличение концентрации аденозина начиналось через 55 ± 7 мин ($n = 3$) и достигало максимума ($1,8 \pm 0,6$ нА, $n = 3$) через 191 ± 2 мин после применения ЛПС. Повышение уровня аденозина сочеталось с отсроченным повышением уровня инозина (по данным контрольного сенсора). Эти данные указывают на то, что источником инозина является ранее высвободившийся аденозин. Не было выявлено изменений уровней аденозина (или инозина) в заднем гипоталамусе в условиях действия эндотоксина.

Антагонисты рецепторов АТФ (PPADS, BВG и оАТФ), введенные в передний гипоталамус, в котором обнаружено повышение концентрации внеклеточного АТФ, усиливали выраженность и длительность гипертермии, вызываемую ЛПС по сравнению с

контролем. Так, введение ВВГ в передний гипоталамус приводило к повышению температуры тела на 90–360 мин эксперимента ($P < 0,05$) после введения ЛПС. Температура тела лихорадящих кроликов, которым вводился РРАДС, была значительно выше по сравнению с контрольными животными на 150–360 мин ($P < 0,05$). оАТФ (в дозе 100 мкг) также приводил к повышению температуры тела, но на последней фазе лихорадочной реакции (на 240–360 мин после применения эндотоксина, $P < 0,05$).

Таким образом, у всех животных с эндотоксиновой лихорадкой, вводимые РРАДС, ВВГ и оАТФ в передний гипоталамус, повышали температуру тела в течение 6 ч после введения ЛПС.

ВВГ, РРАДС и оАТФ (10 мкг), введенные в задний гипоталамус, не влияли на изменения температуры тела у кроликов при эндотоксиновой лихорадке. оАТФ в дозе 100 мкг в заднем гипоталамусе повышал температуру тела на поздней стадии лихорадочной реакции (на 315–360 мин по сравнению с контролем, $P < 0,05$).

Действие РРАДС, ВВГ и оАТФ, введенных в передний и задний гипоталамус контрольных животных (с внутривенной инъекцией физиологического раствора), не приводило к значимым изменениям в температуре тела.

В исследованиях, проведенных на бодрствующих животных, впервые продемонстрировано, что концентрация внеклеточного АТФ увеличивается в переднем гипоталамусе при лихорадке, вызываемой ЛПС. Это увеличение коррелирует с повышением температуры тела. Подъем уровня внеклеточного АТФ приходится на первую фазу гипертермии при лихорадке. Важно отметить, что после введения эндотоксина увеличивается концентрация аденозина и инозина в переднем гипоталамусе. Так как антагонисты рецепторов АТФ, введенные в передний гипоталамус, усиливают выраженность лихорадочной реакции, можно заключить, что АТФ, высвобождающийся в этой области мозга при системном воспалении, локально действует как жаропонижающий агент, ограничивающий выраженность и длительность воспалительного ответа.

Это первое исследование *in vivo* на бодрствующих животных с применением ферментативных биосенсоров для мониторинга в реальном времени высвобождения внеклеточного АТФ и аденозина из структур, локализованных в мозге. Биосенсор АТФ быстро реагирует на изменения в концентрации АТФ и сохраняет свою чувствительность в течение, как минимум, 4 ч. Это дает основания

полагать, что зарегистрированные изменения концентрации АТФ являются достаточно точными.

Остается неясным почему только у трех из шести кроликов, которым вводился ЛПС, были отмечены изменения концентрации внеклеточного аденозина. Чувствительность аденозиновых сенсоров в конце эксперимента составила 60 % от исходной. Гистологический контроль размещения датчиков показал, что участки регистрации во всех шести случаях были в пределах одной и той же зоны переднего гипоталамуса. Вероятно, изначально высокая концентрация аденозина могла помешать обнаружить аденозин, высвобождаемый в относительно малых количествах в нормальных условиях. Показано, что уровень аденозина у крыс в полосатом теле головного мозга в 20 раз выше после имплантации микродиализного волокна по сравнению с его уровнем через 24 ч после оперативного вмешательства [11]. По-видимому, повреждения клеточных структур при установке биосенсора является основной причиной, по которой регистрация изменений концентрации аденозина не всегда была успешной. Поскольку чувствительность сенсоров снижалась через 4 ч до 60 %, это не позволило проведение экспериментов такого рода через сутки с предварительно имплантированными биосенсорами. Однако у трех кроликов, у которых показано повышение уровня аденозина в ответ на действие ЛПС, максимум этого прироста достигался через 3 ч, начиная с 55 мин, после введения эндотоксина. Следовательно, увеличение концентрации аденозина было отмечено спустя 37 мин после начала подъема уровня АТФ. Так как АТФ распадается под действием эктоАТФаз до аденозина достаточно быстро, этот латентный период дает основания считать, что не АТФ является источником для аденозина при лихорадке. С другой стороны, изменения в концентрации инозина точно следовали за изменениями в уровне аденозина, свидетельствуя о том, что источник инозина – быстро распадающийся аденозин.

Повышение температуры тела при лихорадке определяется деятельностью ЦНС, в частности, активностью нейронов преоптической области гипоталамуса. Провоспалительные цитокины, такие как ИЛ-1 β , способствуют развитию гипертермии, действуя на нейроны переднего гипоталамуса [9]. Принимая во внимание многочисленные сведения литературы, свидетельствующие о том, что АТФ способствует высвобождению цитокинов через активацию

P2X рецепторов в мозге, мы предположили, что АТФ играет важную роль в развитии воспалительного ответа при эндотоксической лихорадке. Эта гипотеза подтверждается данными об экспрессии P2X рецепторов в мозге при системном действии ЛПС [2], и нашими результатами, свидетельствующими о понижении температуры тела и уровня провоспалительных цитокинов в плазме крови у крыс при блокаде пуриновых рецепторов в условиях действия эндотоксина [5].

Однако данные, полученные в настоящем исследовании, не подтверждают эти предположения. Хотя АТФ действительно высвобождается в переднем гипоталамусе при системном воспалении, локальная блокада P2 и специфических P2X7 рецепторов не подавляла повышение температуры тела. Кроме того, все три антагониста рецепторов АТФ (PPADS, BВG и oАТФ) заметно усиливали выраженность и длительность гипертермии при лихорадке. Активация различных P2X и P2Y рецепторных подтипов, как известно, зависит от концентрации внеклеточного АТФ [10]. В данном исследовании максимальное повышение концентрации АТФ (~4 мкМ), зарегистрированное биосенсорами, значительно ниже уровня АТФ, необходимого для активации P2X7 рецепторов (>1мМ) [6].

Таким образом, можно заключить, что высвобождающийся АТФ в переднем гипоталамусе при лихорадке не имеет существенного значения в генерации провоспалительных цитокинов в переднем гипоталамусе и, следовательно, в понижении температуры тела при лихорадке. Значительное усиление выраженности и длительности гипертермии на ЛПС при использовании блокаторов рецепторов АТФ предполагает, что АТФ в переднем гипоталамусе играет важную роль в подавлении лихорадочной реакции. Однако высвобождение внеклеточного АТФ являлось кратковременным с максимальным приростом на 45 мин после применения ЛПС и возвращалось к исходному уровню через 120 мин, а эффекты антагонистов P2 рецепторов в переднем гипоталамусе на температуру тела проявлялись значительно позже. Только ВВG оказывал достоверно ранний эффект на температуру тела. Эти данные дают основания предположить, что кратковременное высвобождение внеклеточного АТФ в переднем гипоталамусе в течение первой фазы лихорадки запускает другой, более длительный механизм, который впоследствии подавляет лихорадочную реакцию. Например, могут активизироваться одна или несколько гипоталамических эндогенных антипиретических систем, которые запускают выработку ве-

ществ типа глюкокортикоидов, вазопрессина, аргинина и монооксида азота [12].

Работа выполнена при поддержке БРФФИ (грант № Б07К-049).

Список литературы

1. Burnstock, G. // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87. – P. 659–797.
2. Choi H. B., Ryu J. K., Kim S. U., McLarnon J. G. // *J. Neurosci.* – 2007. – Vol. 27. – P. 4957–4968.
3. Dale, N. [et al.] // *J. Physiol.* – 2002. – Vol. 544. – P. 149–160.
4. Dantzer, R. // *Eur. J. Pharmacol.* – 2004. – Vol. 500. – P. 399–411.
5. Gourine, A. V. [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2005. – Vol. 146. – P. 139–145.
6. Hide, I. [et al.] // *J. Neurochem.* – 2000. – Vol. 75. – P. 965–972.
7. Inoue, K. // *Glia.* – 2002. – Vol. 40. – P. 156–163.
8. Kluger, M. J. // *Physiol. Rev.* – 1991. – Vol. 71. – P. 93–127.
9. Kluger, M. J. [et al.] // *Neuroimmunomodulation.* – 1995. – Vol. 2. – P. 216–223.
10. McLarnon, J. G. // *J. Neurosci. Res.* – 2005. – Vol. 81. – P. 349–356.
11. Pazzagli M., Pedata F., Pepeu G. // *Eur. J. Pharmacol.* 1993. – Vol. 234. – P. 61–65.
12. Roth, J. // *Clin. Chim. Acta.* – 2006. – Vol. 371. – P. 13–24.

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКОЧАСТОТНОГО УЛЬТРАЗВУКА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

О. Н. Савко, А. В. Мурашко

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Низкочастотный ультразвук (НУЗ) с успехом используется в самых различных областях медицины: ортопедии, стоматологии, неврологии, дерматологии, терапии, хирургии и других [4]. Однако, несмотря на широкое применение НУЗ, механизм его действия на организмном, органном, тканевом, клеточном и молекулярном уровне изучен недостаточно, что не позволяет дифференцированно использовать данный фактор с целью получения максимально терапевтического эффекта.

Цель нашего исследования состояла в изучении влияния низкочастотного ультразвука различных параметров на течение экспериментально вызванного воспаления.

Материал и методы. Экспериментальные исследования проведены на 37 белых половозрелых беспородных крысах-самцах массой 180–220 г стадной разводки вивария ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», разделенных на 5 групп: контрольная

группа – 8, интактная группа – 5, три опытные группы по 8 животных в каждой. С целью моделирования асептического воспаления животным указанных групп (контрольная, опытные 1–3) в первый день эксперимента вводили 10 мг зимозана, растворенного в 1 мл изотонического раствора (0,9 NaCl), с добавлением 0,2 мл вазелинового масла в голеностопный сустав задней левой лапки. Данные интактной группы животных использовали для оценки нормативных значений лабораторно-морфологических показателей.

С четвертого дня развития воспаления, инициированного введением зимозана с вазелиновым маслом, ежедневно на область голеностопного сустава задней лапки осуществляли «озвучивание» с помощью комбинированного аппарата для физиотерапии «МИТ-11» (частота 22 кГц) и аппарата «Барвинок» (частота 44 кГц). Параметры воздействия: первая опытная группа – частота 22 кГц, амплитуда 5 мкм, длительность воздействия – 5 мин; вторая опытная группа – частота 22 кГц, амплитуда 5 мкм, длительность воздействия – 10 мин; третья опытная группа – частота 44 кГц, амплитуда 5 мкм, в повторно-кратковременном режиме: экспозиция 2 с, пауза 5 с, длительность воздействия – 5 мин (фактическое время озвучивания 20 мин). В качестве контактного вещества использовали вазелиновое масло. Курс лечения – 10 процедур, ежедневно (за исключением выходных дней). В контрольной группе эксперимент проводили без озвучивания аппаратом для низкочастотной ультразвуковой терапии.

На 14 сутки эксперимента после 10 процедур применения НУЗ животных выводили из эксперимента путем передозировки наркотического вещества (эфира) с последующей декапитацией. Осуществляли забор биологического материала для проведения гематологического [1–3], биохимического [1; 3], волюметрического, бактериологического исследований. С помощью указанных методов через сутки после введения зимозана с вазелиновым маслом оценивали степень выраженности воспаления в контрольной группе.

Интенсивность воспаления оценивали волюметрическим методом через 2–8 ч после индукции и затем ежедневно по величине экссудативного отека. Животных при этом не наркотизировали. Величину экссудативного отека рассчитывали, как относительное увеличение толщины воспаленного сустава по сравнению с контролатеральным, выраженное в процентах.

Результаты и обсуждение. С целью определения эффективных параметров НУЗ при воздействии на область экспериментального воспаления у крыс сравнивали влияние различных по интенсивности режимов НУЗ с воздействием - плацебо.

Волюметрические значения среднего роста объема лапок после 10-ти процедур озвучивания низкочастотным ультразвуком были минимальными у животных первой и третьей опытных групп (5,0 %, $r^2=0,87$ и 8,0 %, $r^2=0,88$ соответственно). Средние значения индекса отечности сустава у животных этих групп ниже значений в группе контроля на 36,7 % и 58,8 % соответственно ($p < 0,05$).

Несмотря на то, что динамика убывли величины экссудативного отека области воспаления после индукции воспалительной реакции у животных второй опытной группы (частота 22 кГц, амплитуда 5 мкм, 10 мин.) – достоверна ($r^2=0,67$), она существенно не отличалась от контрольной ($p>0,05$). К тому же у 62,5 % опытных животных второй группы были отмечены изъязвления в области очага воспаления. При этом после шести процедуры озвучивания наметился рост экссудативного отека у крыс. Это могло свидетельствовать о присоединении вторичной инфекции. С целью проверки данного предположения для бактериологического исследования у экспериментальных животных опытных групп № 1, 3 и контрольной был взят пунктат из области воспаления, у крыс опытной группы № 2 – посев из раны, а также слюна – для исключения самоинфицирования. При бактериологическом анализе биоптатов контрольной группы и опытной группы № 1 результат был отрицательный, а у крыс опытных групп № 2 и 3 высеяна условно патогенная микрофлора в низких концентрациях (до 10^4 микробных клеток). В слюне крыс высеян золотистый стафилококк (*S. aureus*).

На 14-е сутки эксперимента изменения активности *биохимических* ферментов-маркеров, отражающих степень выраженности экспериментального артрита, выявлены у животных первой и второй опытных групп. У них отмечали падение активности щелочной фосфатазы (ЩФ) на 28,6 % ($p < 0,05$) и 23,5 % ($p < 0,05$) ниже контрольного уровня ($139,5 \pm 8,0$ Е/л и $149,4 \pm 8,1$ Е/л соответственно против $195,4 \pm 12,6$ Е/л) и снижение уровней серогликоидов (Сг) на 40 % ($p < 0,05$) и 36,7 % ($p < 0,05$) по отношению к аналогичным контрольным показателям ($0,18 \pm 0,009$ ЕД и $0,19 \pm 0,01$ ЕД против $0,30 \pm 0,01$ ЕД). У животных третьей группы активность ЩФ

составляла $239,1 \pm 6,0$ Е/л и была выше соответствующих показателей в контроле на 22,4 % ($p > 0,05$), а уровень Сг увеличился на 3,2 % ($0,31 \pm 0,02$ ЕД, $p > 0,05$).

Эти данные подтвердили предположение о зависимости степени редуцирования сывороточного содержания Сг и ЩФ от интенсивности и длительности озвучивания НУЗ.

Результаты *гематологического исследования* свидетельствовали, что локальное воздействие НУЗ на модели воспаления у крыс экспериментальных групп не оказывало статистически значимого влияния на показатели красной крови, в частности, на уровень гемоглобина и количество эритроцитов ($p > 0,05$). Можно предположить, что отсутствие изменений со стороны красной крови на действие НУЗ является показателем оптимального течения восстановительных процессов при экспериментальном воспалении и свидетельствует об отсутствии дополнительной стрессовой реакции в организме животных на указанное воздействие.

Вместе с тем в условиях НУЗ отмечена активизация регенеративно-репаративных процессов с целью элиминации воспалительного агента, о чем свидетельствует показатель СОЭ. К 14-м суткам в первой и второй группах значения СОЭ составили $1,5 \pm 0,2$ мм/ч и $3,7 \pm 0,2$ мм/ч, что ниже контрольных ($4,4 \pm 0,5$ мм/ч) на 65,9 % ($p < 0,01$) и 15,9 % ($p < 0,05$) соответственно. Увеличение частоты до 44 кГц в третьей опытной группе вызывало слабо выраженную тенденцию к снижению СОЭ на 6,8 % ($4,1 \pm 0,5$ мм/ч, $p > 0,05$).

Изучение состава белой крови к концу эксперимента у животных во всех опытных группах (после курса 10-ти процедур НУЗ) позволило обнаружить однонаправленную тенденцию к снижению количества лейкоцитов, эозинофилов ($p < 0,05$) и повышению лимфоцитов ($p > 0,05$). Отсутствие нормализации указанных показателей в опытных группах до исходных значений, вероятно, может быть объяснено неполной завершенностью процесса подавления воспаления в суставе. Кроме того, мы это связываем с механизмами перераспределения крови в сосудистом русле и выходом в периферические сосуды части депонированной крови в условиях действия ультразвука.

В первой опытной группе после проведения 10-ти процедур НУЗ количество палочкоядерных лейкоцитов было ниже контрольных значений ($6,80 \pm 1,16$ %>) на 63,2 % ($2,5 \pm 0,28$ %, $p < 0,01$),

а сегментоядерных нейтрофилов ($29,9 \pm 2,8 \%$) – на $46,0 \%$ ($15,75 \pm 2,05 \%$, $p < 0,005$). При аналогичном сравнении во второй и третьей группах количество палочкоядерных лейкоцитов было ниже на $15,4 \%$ ($5,75 \pm 0,25 \%$, $p > 0,05$) и $1,5 \%$ ($6,7 \pm 0,5$, $p > 0,05$) соответственно, а сегментоядерных – на $4,7 \%$ ($28,5 \pm 3,7 \%$, $p > 0,05$) и росту в третьей группе на $0,7 \%$ ($30,1 \pm 3,88 \%$, $p > 0,05$).

Анализ динамики лейкоцитов и лейкоцитарной формулы показывает, что локальное воздействие НУЗ на область воспаления в 1-й опытных группах способствовало процессу восстановления нормального количественного состава указанных показателей. При воздействии НУЗ во третьей группе восстановительные процессы протекали более вяло и характеризовались медленной нормализацией показателей со стороны периферической крови и СОЭ. В 3-й группе наблюдается картина усугубления воспалительного процесса.

Таким образом, низкочастотный ультразвук оказывает выраженное противовоспалительное действие при экспериментальном артрите, проявляющееся в уменьшении отека, нормализации картины крови и СОЭ, изменении активности щелочной фосфатазы и уровня серогликоидов в крови опытных животных. Выраженность противовоспалительного эффекта зависела от параметров используемого низкочастотного ультразвука.

Список литературы

1. Камышников, В. С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: справочник / В. С. Камышников. – Минск, 2003. – Т. 2.
2. Лабораторные и инструментальные исследования в диагностике: справочник / под ред. В. Н. Титова. – М., 2004.
3. Назаренко, Г. И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г. И. Назаренко. – 2006.
4. Улащик, В. С. // Вопр. курортол., физиотер. и лечеб. физ. культ. – 2000. – № 6. – С. 3–8.

УЧАСТИЕ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗ- НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМИРОВАНИИ КЛЕТОЧНОГО ОТВЕТА ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА

В. Д. Свирид

Международный государственный экологический университет
им. А. Д. Сахарова, Минск, Беларусь

Нейрогуморальные механизмы регуляции жизнедеятельности организма осуществляются через секрецию биологически активных веществ (гормоны, нейромедиаторы, нейромодуляторы, нейропептиды и др.), которые, взаимодействуя с мембранными рецепторами клетки, включают в действие системы внутриклеточной сигнализации или вторичных посредников. Нарушения передачи сигнала приводят к ряду серьезных патологических изменений в жизнедеятельности организма. Отклонения в регуляции метаболизма клеток гипоталамо-гипофиз-надпочечниковой системы (ГГНС) приводят к изменению гомеостаза организма и нарушают способность адаптироваться к окружающим условиям внешней среды.

В этой связи актуальной проблемой является расшифровка изменений во внутриклеточной сигнализации при действии экологических факторов (в частности, температуры среды обитания) и изыскания способов коррекции выявленных нарушений.

На протяжении ряда лет задачей исследования было определить, участвует ли аденилатциклазная система (АЦС) и кальций-кальмодулиновая система в передаче сигнала с рецепторов мембраны на генетический аппарат и стимуляции синтеза белков стресса (БС) в гипоталамусе, гипофизе и надпочечниках при холодном и тепловом стрессе. Для решения этой задачи определяли в указанных тканях содержание цАМФ и кальмодулина, активности аденилатциклазы (АЦ) и цАМФ-зависимых протеинкиназ (цАМФ-ПК), а также изучали синтез БС.

При температуре окружающей среды 0 °С активность АЦ возрастала в гипофизе на 5-й и 15-й мин после начала температурного воздействия, а в надпочечниках – только на 5-й мин. В гипоталамусе активность АЦ в процессе опыта не изменялась. При действии пониженной температуры концентрация цАМФ в гипоталамусе повышалась на 15-й и 30-й мин охлаждения, а в гипофизе – на 5-й мин. В указанных условиях содержание цАМФ в надпочечни-

ках снижалось на 5-й мин и находилось на контрольном уровне на протяжении остального периода опыта. При действии холода в гипоталамусе активность цАМР-ПК изменялась циклично: на 15-й и 30-й мин их активность увеличивалась, затем к первому ч возвращалась к контрольному уровню, в дальнейшем опять возрастала. В этих условиях в гипофизе цАМР-ПК активировались только в начальный период воздействия (на 5-й и 15-й мин), а в надпочечниках их активность была понижена на протяжении всего периода наблюдения [1].

При действии высоких температур (45 °С) активность АЦ в гипоталамусе и гипофизе повышалась через 15 мин после начала температурного воздействия и к 30 мин возвращалась к контролю. В надпочечниках она угнеталась через 30 мин. Содержание цАМР при повышении температуры среды возрастала в гипофизе через 30 мин, в надпочечниках – через 1 ч, а в гипоталамусе не изменялась в течение всего периода нагревания. При повышении температуры окружающей среды через 15 мин после начала воздействия активность цАМР-ПК в гипоталамусе значительно возрастала, в гипофизе угнеталась, в надпочечниках не изменялась. Далее в ходе развития гипертермии их активность в гипоталамусе и гипофизе возвращалась к контрольному уровню, а в надпочечниках – увеличивалась [2].

Содержание кальмодулина в надпочечниках достоверно увеличивалось через 0,5 час при температуре окружающей среды 0 °С и уменьшалось – в гипоталамусе через 3 часа. При температуре 35 °С концентрация кальмодулина достоверно увеличивалась через 1 час и продолжала возрастать вплоть до 3 часов наблюдения, а в гипофизе возрастала к 3 часом.

При действии температуры на организм в структурах ГГНС отмечается активация синтеза специфических БС. Выявлены четыре основные группы БС с молекулярной массой: 1 группа – 76, 97 кДа, 2 группа – 68, 70 кДа, 3 группа – 46, 56 кДа и 4 группа – 22, 23 кДа [3; 4].

Таким образом, во всех исследованных структурах клеточный ответ на действие холодого и теплого стимула на организм в большей или меньшей степени осуществляется через АЦС. Поэтому правомочно сделать вывод, что включение клеток ГГНС в стресс-реакцию на температурное воздействие осуществляется через АЦС (см. рис.).

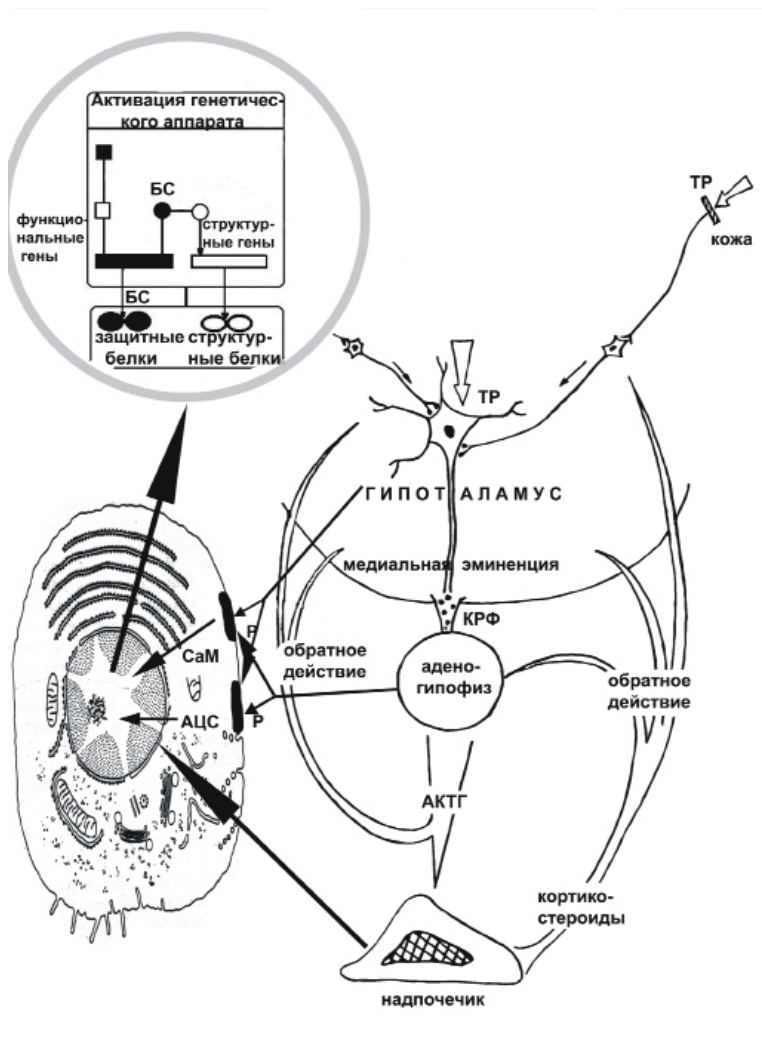


Рис. Формирование ответа клетки на действие внешних температурных воздействий. TR – температурный рецептор; P – мембранный рецептор; КРФ – кортикотропин релизинг фактор; АКТГ – адренкортикотропный гормон; ацс – аденилатциклазная система; CaM – кальций-кальмодулиновая система

Однако нельзя исключить участие в передаче сигнала и кальций-кальмодулиновой системы, в частности в гипоталамусе и

гипофизе при повышенной температуре окружающей среды. Учитывая то, что эта система включается после активации АЦС можно предположить, что АЦС стимулирует вход ионов кальция в клетку, в результате чего активируется кальций-кальмодулиновая система. Приведенные факты свидетельствуют также о том, что формирование клеточного ответа в исследуемых органах имеет свои особенности по степени участия той или иной системы вторичных посредников и взаимодействия их друг с другом. Однозначно можно лишь утверждать, что АЦС и кальций-кальмодулиновая система в гипоталамусе, гипофизе и надпочечниках включаются в формирование ответа клетки при действии температурного стимула на организм в начальный период его действия. Конечным звеном в передаче сигнала в клетке является стимуляция их генетического аппарата, в результате чего активируется синтез специфических БС, механизмом, включающим процесс специфической адаптации клеток. Эти белки могут выполнять функцию медиаторов поддержания гомеостаза различными путями: действовать прямо на клеточные структуры, вызывая их стабилизацию или опосредованно через активацию белок-синтезирующей системы, или их адаптивные эффекты могут осуществляться через стимуляцию иммунной системы.

Научная работа по данной теме была начата под руководством академика Валерия Николаевича Гурина.

Список литературы

1. Свирид В. Д. // Физиол. журн. СССР. – 1990. – Т. 76. – № 7. – С. 919–923.
2. Свирид В. Д. // Весці АН БССР. Сер. біял. навук. 1990. – № 4. – С. 107–109.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ПРИНАДЛЕЖНОСТЬ ОПРЕДЕЛЯЕТ ТЕМПЕРАТУРНУЮ ЗАВИСИМОСТЬ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕРВНЫХ КЛЕТОК

А. В. Сидоров

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Температурная зависимость и/или чувствительность любого биологического процесса не вызывает сомнений. Традиционно считается, что данная закономерность подчиняется правилу

Вант-Гоффа–Аррениуса, согласно которому при повышении или понижении температуры на 10 °С скорость химической реакции изменяется в 2–3 раза. Несмотря на то, что температурный коэффициент (Q_{10}) сам по себе зависит от температуры (уменьшается с ее увеличением), а следовательно, не может быть универсальной константой, он широко используется при описании температурных эффектов в биологии. Существует достаточно большой разброс значений Q_{10} . В биологическом диапазоне температур величины Q_{10} для многих метаболических реакций лежат в пределах от 2,0 до 3,0. В тоже время при низких нормальных температурах окружающей среды для многих беспозвоночных характерны невысокие (вплоть до 1,0) значения Q_{10} [1]. Даже в пределах одной ткани, в частности нервной, существует своеобразный градиент температурной зависимости процессов: так, температурный порог нарушения проводимости синапсов, как правило, значительно превышает такой для проведения импульса по нервному волокну [2].

Несмотря на огромное количество публикаций, прямо или косвенно касающихся влияния температуры на нервные клетки, попыток соотнести реакцию той или иной структуры на изменение температурных условий с ее функциональной принадлежностью практически не было предпринято. Во многом этому «способствовала» анатомическая сложность организации нервной системы высших позвоночных. Открытие идентифицируемых нейронов, т. е. клеток, которые имеют постоянную локализацию в нервной системе и могут быть распознаны у всех представителей данного вида, приходится на вторую половину XIX в. и связано с работами Ф. Лейдига и Г. Ретциуса по исследованию строения нервной системы кольчатых червей. Однако функциональный критерий для идентификации нейронов был применен лишь А. Арванитакисом (1958 г.) в ходе изучения нейронной архитектуры у моллюска *Aplysia*, который и по настоящий день является одним из наиболее изученных в нейробиологическом отношении организмом [3].

В последние десятилетия XX века внимание нейрофизиологов привлек пресноводный легочный моллюск *Lymnaea stagnalis* (прудовик обыкновенный). Нервная система указанного представителя животного мира организована из относительно небольшого количества (ок. 15 тыс.) ярко, по-разному окрашенных клеток многие из которых достигают весьма внушительных размеров (100-150 мкм), зачастую с уникальными электрофизиологически-

ми характеристиками (величина мембранного потенциала, форма потенциала действия, паттерн спонтанной активности, синаптические связи). В результате интенсивных исследований, буквально в течение 20 лет, были определены основные составляющие целого ряда нейронных сетей *Lymnaea stagnalis*, прежде всего дыхательной, пищевой и локомоторной, вовлеченных в реализацию соответствующих форм поведения моллюска, сенсорные и оборонительные нейроны, нейрогормональные клетки и др. Таким образом была заложена серьезная база для изучения влияния различных регуляторных факторов как внешних, например, температура, так и внутренних (колебания кислотно-основного равновесия, свободно-радикальный и нейромедиаторный фон) на функционирование крупных нейронных ансамблей (нервных центров).

В 1996 г. академиком Валерием Николаевичем Гуриным мне было предложено заняться изучением температурных реакций идентифицируемых нейронов прудовика в рамках выполняемой под его руководством работы над кандидатской диссертацией «Температурная зависимость параметров функциональной активности нервной системы *Lymnaea stagnalis*», успешно защищенной в 2001 г.

Нами было установлено, что идентифицируемые нейроны из состава разных функциональных сетей *Lymnaea stagnalis* характеризуются различной зависимостью электрофизиологических параметров при изменении температурных условий. У нейронов дыхательной сети (интернейронов RPeD1, VD1/RPaD2, мотонейронов крыши легкого (RPaA-группы)), локомоторных мотонейронов R(L)PeA-кластера зависимость частоты генерации потенциала действия от температуры носит куполообразный характер с максимумом при 24–26 °С. Для мотонейронов пневмостома (Vi-клеток) отмечается положительный коэффициент корреляции частоты генерации потенциала действия с температурой. У сенсорных интернейронов RPaD1 и VV1/2 отмечена куполообразная зависимость с максимумом при 14–16 °С. У нейрона RPaD1 зависимость величины мембранного потенциала имеет положительный коэффициент корреляции с температурой. Отрицательный коэффициент корреляции характерен для нейронов RPeD1, Vi-клеток, RPaA-группы, R(L)PeA-кластера. Куполообразная зависимость с максимумом при 14–16 °С отмечена для нейронов VD4, VD1/RPaD2. Частота генерации потенциала действия и величина

мембранного потенциала модуляторных интернейронов VD2/3, а также величина потенциала покоя нейронов VV1/2 и Ve-группы остается неизменной при изменении температурных условий. Увеличение амплитуды потенциала действия при понижении температуры (до 4 °C) присуще нейронам RPeD1, Ve-группы, R(L)PeA-кластера и Vi-клеткам; уменьшение – нейронам VD1/RPaD2, RPaD1, VD2/3, R(L)PeA-кластера. Амплитуда потенциала действия всех исследованных нейронов уменьшается при повышении температуры до 40 °C.

Анализ температурных коэффициентов, рассчитанных по значениям частоты импульсации показал, что существует выраженная связь между величиной Q_{10} и функциональной принадлежностью того или иного нейрона (рис. А). Так, среди интернейронов, относительно нечувствительными к изменению температуры в диапазоне 15-25 °C являются модуляторные (VV1/2) и оборонительные (RPaD1), а среди мотонейронов высокой температурной чувствительностью обладают клетки из состава пищевой сети (B4 и B4-кластер). Отметим, что каких-либо существенных различий в температурных коэффициентах между интернейронами и двигательными нейронами (структурно-функциональный критерий для сравнения) отмечено не было.

Интересными представляются данные о наличии температурных порогов прекращения спонтанной импульсации идентифицируемых нейронов *Lymnaea stagnalis*. Как правило, нижняя температурная граница генерации потенциала действия определялась для клеток, вовлеченных в реализацию дыхательной активности моллюска (рис. Б, В).

Например, для спонтанной электрической активности нейрона RPeD1 она составляла $6,2 \pm 0,44$ °C ($n = 12$), а для пары электрически связанных нейронов VD1/RPaD2 было определено значение $8,6 \pm 0,42$ °C ($n = 8$). При снижении температуры ниже указанного уровня спонтанная электрическая активность исчезает (возможны редкие нерегулярные одиночные спайки). При этом не происходит холодовой гибели нейрона. Клетка способна генерировать залп потенциалов действия при подаче деполяризующего импульса тока.

Указанные реакции характерны не только для интернейронов дыхательной сети, но и для некоторых клеток, точная принадлежность которых к какой-либо функциональной сети пока не определена. К таковым можно отнести модуляторные нейроны (VD2/3),

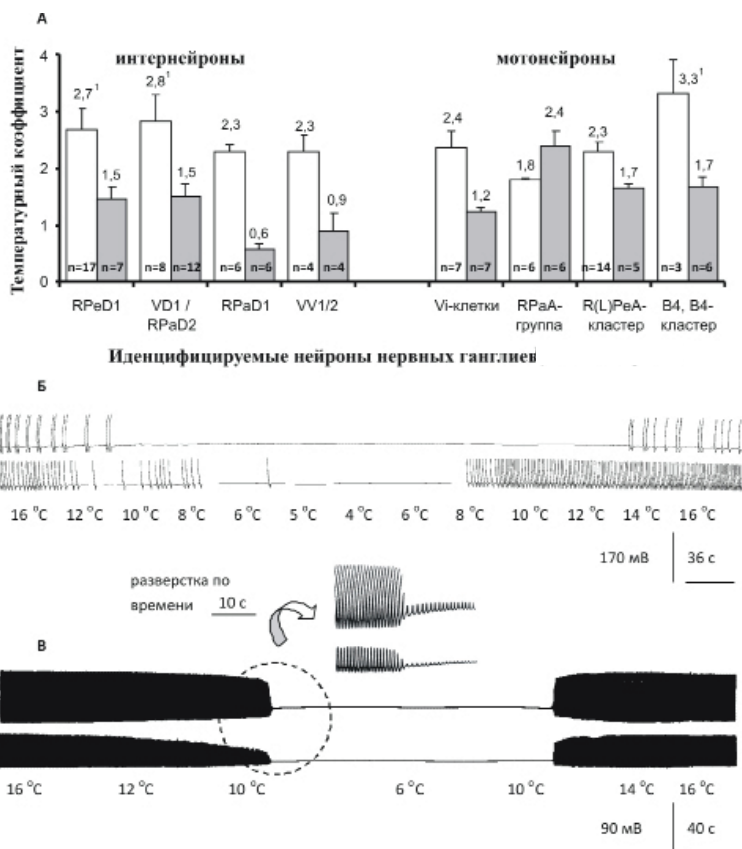


Рис. Температурная чувствительность идентифицируемых нейронов моллюска *Lymnaea stagnalis*

А. Температурные коэффициенты (Q_{10}), рассчитанные при понижении температуры с 15 °С до 5 °С (светлые столбики) и при повышении температуры с 15 °С до 25 °С (темные столбики), ¹ – значение рассчитано при понижении температуры с 20 °С до 10 °С.

Б. Спонтанная электрическая активность нейронов VD2/3 (верхняя полоса) и RPaD1 (нижняя полоса). Одновременная регистрация.

В. Спонтанная электрическая активность нейронов VD1 (верхняя полоса) и RPaD2 (нижняя полоса). Одновременная регистрация. Разверстка по времени – другой препарат.

имеющие нижнюю температурную границу спонтанной активности $9,7 \pm 1,12$ °C ($n = 7$).

При нормализации температурных условий происходит восстановление исходной нейронной активности, при температурах на 2–3 градуса превышающих порог холодовой блокады, во всех исследованных случаях. Свои прежние значения принимают амплитуда потенциала действия и мембранный потенциал. Частота генерации потенциала действия, как правило, несколько понижена по сравнению с первоначальной, однако уже по прошествии 30 мин после нормализации температуры и она принимает свое исходное значение.

Температурная чувствительность ряда крупных нейронных ансамблей, так называем центральных генераторов ритма (ЦГР) еще выше. В частности, ЦГР дыхания *Lymnaea stagnalis* не функционирует при температурах ниже $12,5 \pm 0,44$ °C ($n = 10$). Последующие эксперименты показали, что ряд центральных генераторов, например пищевой, более устойчивы к действию низких температур и сохраняют свою активность при 8–10 °C. Заметим, что и большинство исследованных индивидуальных нейронов сохраняют спонтанную электрическую активность при снижении температуры вплоть до 2–4 °C (технологический предел используемой в ходе экспериментов установки по изменению и поддержанию заданных температур).

Изменение температурных условий сказывается и на реакции нервных клеток на действии различных сигнальных молекул. При температурах ниже $12,5 \pm 0,44$ °C аппликация катехоламинов (дофамин, адреналин) на поверхность препаратов нервной системы, в условиях нормотермии приводящая к генерации дыхательного ритма, не в состоянии активизировать ЦГР дыхания. Можно предположить, что это указывает на изменение чувствительности рецепторных образований к регулирующим воздействиям, а следовательно, и на возможное наличие температурных диапазонов действия того или иного нейромедиатора – мысль, ранее высказанная В. Н. Гуриным [4].

Таким образом, полученные результаты позволили заключить, что функционально различные клетки в нейронных сетях *Lymnaea stagnalis* характеризуются неодинаковой зависимостью электрической активности от температурных условий, т. е. именно функциональная принадлежность отражает характер реакции нервных

структур и определяет влияние температуры на дыхательное, локомоторное, оборонительное и пищевое поведение моллюска.

Список литературы

1. Сравнительная физиология животных. – М., 1977. – Т. 2.
2. Руководство по физиологии. Физиология терморегуляции. – Л., 1984.
3. Кэндел, Э. Клеточные основы поведения / Э. Кэндел. – М., 1980.
4. Гурин, В. Н. Терморегуляция и симпатическая нервная система / В. Н. Гурин. – Минск, 1989.

УРОВЕНЬ МОЧЕВИНЫ И L-АРГИНИН- NO-СИСТЕМА ПЕЧЕНИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКИ

Н. А. Степанова, А. Ф. Висмонт

Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь

Известно, что монооксид азота (NO), субстратом для образования которого NO-синтазой является аминокислота L-аргинин, имеет важное значение для протекания различных физиологических и патологических процессов, в том числе, и регуляции температуры тела. Принимая во внимание, что аминокислота аргинин может использоваться в печени как для процессов мочевинообразования, так и биосинтеза монооксида азота [4; 5], можно было предположить, что утечка аргинина из цикла мочевины, будет сказываться на активности L-аргинин-NO системы печени и организма в целом.

Целью работы было выяснение роли мочевины и монооксида азота, значимости взаимосвязи и взаимодействия цикла мочевины и монооксида азота печени в патогенезе эндотоксिनновой лихорадки.

Материал и методы. Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах и кроликах обоего пола. Для создания общепринятой модели эндотоксिनновой лихорадки, использовали бактериальный липополисахарид (ЛПС) – пирогенал («МЕДГА-МАЛ» НИИ эпидемиологии и микробиологии РАМН), который вводили однократно крысам внутрибрюшинно в дозе 5 мкг/кг, кроликам в краевую вену уха в дозе 0,5 мкг/кг. Все наблюдения производились в термонеutralных условиях (20–22 °С). Ректаль-

ную температуру измеряли у крыс и кроликов с помощью электро-термометра ТПЭМ-1. Концентрацию мочевины в плазме крови определяли фотометрически с помощью стандартных наборов. Количественное содержание свободных аминокислот в плазме крови определяли на автоматическом анализаторе ААА-881 (ЧССР). Активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови и печени оценивали по содержанию в них таких продуктов, как малоновый диальдегид (МДА), диеновые конъюгаты (ДК) и основания Шиффа (ОШ). Все полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной биологической статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. В экспериментах на крысах и кроликах установлено, что при эндотоксиновой лихорадке возникают значительные изменения не только показателей теплообмена, но и содержания мочевины, а также свободного аргинина в крови. Так, пирогенал через 120 и 180 мин после внутрибрюшинного введения вызывал повышение на 26,0 % ($P < 0,05$, $n = 8$) и 37,8 % ($P < 0,05$, $n = 7$) концентрации мочевины в плазме крови у крыс по сравнению с контролем (введение физраствора). Концентрация мочевины в плазме крови у крыс после введения ЛПС составляла соответственно $4,3 \pm 0,51$ и $4,9 \pm 0,53$ мМоль/л.

Внутривенное введение эндотоксина одновременно с повышением ректальной температуры вызывало повышение концентрации мочевины в плазме крови у кроликов на 39,8 % ($P < 0,05$, $n = 7$) через 60 мин и на 77,8 % ($P < 0,05$, $n = 7$) через 120 мин после инъекции и снижение уровня свободного аргинина на 57,7 и 42,3 % (с $0,26 \pm 0,16$ до $0,11 \pm 0,24$ и $0,15 \pm 0,26$ мМоль/л соответственно). Уровень мочевины в крови у кроликов контрольной группы составлял через 60 и 120 мин после введения физиологического раствора $2,9 \pm 0,20$ и $3,1 \pm 0,27$ мМоль ($n = 6$) соответственно.

Известно, что активность свободнорадикальных реакций и уровень образуемых ими продуктов, имеет важное значение для осуществления процессов терморегуляции и эндогенного антипиреза [2; 3].

В опытах на крысах установлено, что действие бактериального эндотоксина в организме животных сопровождается возрастанием в плазме крови и ткани печени содержания основных продуктов ПОЛ: ДК, МДА и ОШ. Так, количество ДК в печени увеличива-

лось на 25,6 % ($P < 0,05$, $n = 7$) и 38,2 % ($P < 0,05$, $n = 7$) через 120 и 180 мин после инъекции ЛПС, а в плазме крови на 14,5 % ($p < 0,05$, $n = 7$) на 180-й минуте пирогеналовой лихорадки. Концентрация МДА в печени в этих условиях возрастала, соответственно на 18,8 % ($P < 0,05$, $n = 7$) и 32,2 % ($P < 0,05$, $n = 7$), в плазме крови на 70,8 % ($P < 0,05$, $n = 7$) и 91,5 % ($P < 0,05$, $n = 6$). Уровень ОШ через 120 и 180 мин после введения пирогена повышался в печени и плазме крови соответственно на 14,9% ($P < 0,05$, $n = 7$) и 20,6 % ($P < 0,05$, $n = 7$), 95,1 % ($P < 0,05$, $n = 6$) и 128,1 % ($P < 0,05$, $n = 6$). У интактных животных ($n = 7$) концентрация ДК, МДА и ОШ в плазме крови и печени была равной соответственно $0,65 \pm 0,036 \Delta D_{233}/\text{мл}$, $0,78 \pm 0,050 \text{ мкмоль/мл}$, $4,2 \pm 0,17 \text{ ЕД/мл}$ и $15,3 \pm 1,21 \Delta D_{233}/\text{г}$, $16,5 \pm 0,59 \text{ нМоль/г}$, $127,1 \pm 12,35 \text{ ЕД/г}$ ткани. Полученные результаты свидетельствуют о том, что развитие эндотоксической лихорадки у крыс сопровождается активацией процессов ПОЛ в крови и печени.

Принимая во внимание данные о том что мочевины, может оказывать стабилизирующее действие на мембраны, а через инактивацию протеолитических ферментов, препятствуя усилению протеолиза [1] и на метаболизм пептидных гормонов, цитокинов и простагландинов, имеющих важное значение в терморегуляции, можно было предположить, что содержание мочевины в крови может иметь значение в регуляции температуры тела при эндотоксической лихорадке.

Исследования, выполненные на кроликах, показали, что введение в кровяной интактным животным 30 %-го раствора мочевины не влияет на температуру тела. Введение в кровяной мочевины (0,3 г/кг) на высоте подъема температуры тела при эндотоксической лихорадке (через 60 и 90 мин от момента инъекции ЛПС) приводило к значительному понижению температуры тела и ослаблению лихорадки. Так, через 15 и 30 мин от момента введения мочевины на высоте эндотоксической лихорадки (60 мин) ректальная температура снижалась по сравнению с контролем на $0,9 \pm 0,08 \text{ }^\circ\text{C}$ ($P < 0,05$) и $0,8 \pm 0,10 \text{ }^\circ\text{C}$ ($P < 0,05$).

Установлено, что развитие эндотоксической лихорадки (через 90 мин после инъекции экзопирогена) в условиях действия мочевины у экспериментальных животных сопровождается менее выраженными изменениями процессов ПОЛ в крови и печени. Так, содержание ДК, МДА и ОШ в плазме крови у кроликов в условиях эн-

дотоксиновой лихорадки через 30 мин после введения в кровоток мочевины было ниже по сравнению с контролем (действие одного ЛПС) на 16,5 % ($P < 0,05$), 44,7 % ($P < 0,05$) и 35,8 % ($P < 0,05$), а в печени на 24,3 % ($P < 0,05$), 15,1 % ($P < 0,05$) и 37,2 % ($P < 0,05$) соответственно.

Учитывая, что гидролитическое расщепление аминокислоты L-аргинина является последним этапом образования мочевины, нами в экспериментах на кроликах было изучено влияние введения в кровоток L-аргинина солянокислого в дозе 50 мг/кг, не влияющей на температуру тела интактных животных, на процессы терморегуляции при эндотоксиновой лихорадке. Опыты, выполненные на кроликах, показали, что введение в краевую вену уха L-аргинина солянокислого (50 мг/кг) в условиях действия в организме ЛПС, через 60 мин после инъекции эндотоксина, приводит к ослаблению лихорадки. Так, ЛПС (0,5 мг/кг) вызывал повышение температуры тела у кроликов ($n = 10$) на $1,2 \pm 0,10$ °C ($p < 0,05$) через 60 мин после инъекции, а через 90 мин отклонение составляло $1,5 \pm 0,09$ °C ($p < 0,05$). Внутривенное введение L-аргинина солянокислого (50 мг/кг), спустя 60 и 90 мин после инъекции ЛПС оказывало выраженный антипиретический эффект. Снижение ректальной температуры на высоте лихорадки (через 15 и 30 мин после введения аминокислоты) составляло 0,8 и 0,7 °C ($p < 0,05$ $n = 6$).

Учитывая данные литературы о том, что действие в организме бактериальных эндотоксинов вызывает экспрессию индуцибельной NO-синтазы и приводит к образованию больших количеств NO [3; 4], представляло интерес выяснить, как будет изменяться температура тела при действии ЛПС в условиях предварительного введения в организм веществ, угнетающих активность L-аргинин-NO-системы. Нами были использованы ингибиторы NO-синтазы N^G-нитро-L-аргинин (L-NNA) и метиловый эфир N^G-нитро-L-аргинин (L-NAME).

В опытах на кроликах установлено, что лихорадочная реакция, вызываемая бактериальным эндотоксином, ослабляется предварительным введением в кровоток как L-NNA (20 мг/кг), так и L-NAME (25 мг/кг) – ингибиторов NO-синтазы, существенно не влияющих в указанных дозах на температуру тела в норме. Так, у животных через 120 мин после инъекции ЛПС (0,5 мг/кг) в условиях предварительного введения в кровоток L-NNA или L-NAME, ректальная температура повышалась с $38,7 \pm 0,12$ °C до

39,5 ± 0,13 °С (p < 0,05, n = 7) и с 38,8 ± 0,12 °С до 39,3 ± 0,128 °С (p < 0,05, n = 6), в то время как у животных контрольной группы (n = 7) с 38,6 ± 0,10 °С до 40,3 ± 0,11 °С. Установлено, что развитие пирогеналовой лихорадки у крыс, предварительно получивших ингибитор NO-синтазы L-NNA (20 мг/кг) сопровождается менее значимым подъемом температуры тела, а также интенсификацией процессов ПОЛ в крови и печени.

Следовательно, активность процессов ПОЛ в организме, как и формирование терморегуляторных реакций при действии бактериальных эндотоксинов у крыс и кроликов зависит от состояния L-аргинин-NO системы и уровня мочевины в крови. Есть основания полагать, что при бактериальной эндотоксинемии не исключена утечка аргинина из цикла мочевины, что может вносить существенный вклад в пул эндогенного аргинина, имеющегося в гепатоцитах, а соответственно сказываться на активности L-аргинин-NO системы печени. Очевидно, мочевину плазмы крови и NO можно рассматривать как важнейшие взаимосвязанные факторы, участвующие в регуляции процессов ПОЛ и температурного гомеостаза организма при эндотоксинемии, сопровождающейся лихорадкой.

Список литературы

1. Гершенович З. С., Векслер Я. И. // Биохимия. – 1963. – Т. 28. – № 6. – С. 937–940.
2. Давыдовский, А. Г. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантные процессы в печени при бактериальной эндотоксинемии / А. Г. Давыдовский. – Минск, 2004.
3. Маеда Х., Акаике Т. // Биохимия. – 1998. – Т. 63. – № 7. – С. 1007–1019.
4. Тэйлор Б. С., Аларсон Л. Х., Биллиар Т. Р. // Биохимия. – 1998. – Т. 63. – № 7. – С. 905–923.
5. Реутов, В. П. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / В. П. Реутов [и др.]. – М., 1998.

ЭФФЕКТ ГИПЕРТЕРМИИ НА КЛЕТКИ АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА *IN VITRO*

Т. И. Терпинская¹, Б. Э. Кашиевский², В. А. Кульчицкий¹

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Институт тепло- и массообмена им. А. В. Лыкова НАН Беларуси,
Минск, Беларусь

Температурный фактор является определяющим для жизнедеятельности как целого организма, так и отдельных клеток. Развивающаяся в организме лихорадка рядом исследователей рассматривается как приспособительная реакция, направленная на повреждение чужеродных агентов и инфицированных клеток [1]. Другие ученые полагают, что лихорадка является лишь признаком патологического процесса [1]. Показано, что гипертермия может приводить к торможению роста опухоли, что используется как один из методов лечения рака [2]. К сожалению, высокая температура действует губительно как на опухолевые, так и на нормальные клетки организма. В связи с этим весьма актуальны методы, позволяющие осуществить избирательный нагрев опухолевой ткани. Это позволяет достичь высокой температуры в опухоли, избежав при этом повреждения других органов. Использование методов локальной гипертермии еще далеко от совершенства и требует прецизионного знания кинетики гибели опухолевых клеток при температурах, значительно превышающих физиологические. Задачей данной работы явилось изучение скорости гибели клеток асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) при гипертермии в интервале температур от 42 °С до 50 °С в опытах *in vitro*.

Материалы и методы. Получали у мышей линии Af асцит АКЭ на 12–17 дни роста опухоли после внутрибрюшинной прививки 6 млн. клеток на мыш. Разводили полученный асцит в 200 раз физиологическим раствором Эрла, хорошо перемешивали, подсчитывали концентрацию клеток и процент жизнеспособных клеток, используя трипановый синий, и разливали в 14 отдельных пенициллиновых флаконов по 1,5 мл суспензии в каждом. Один флакон оставляли на 2 ч при 37 °С, второй – при комнатной температуре – 18–20 °С, остальные помещали в водный термостат при температуре от 42 °С до 50 °С в разных сериях опыта. Каждые 10 мин из термостата брали флакон с пробой, перемешивали и подсчитывали концентрацию клеток и долю жизнеспособных клеток;

этот флакон в эксперименте больше не использовали. При каждом температурном режиме использовали по 4 пробы асцита, взятого у одного животного. На каждом этапе оценивали процент жизнеспособных клеток по отношению к исходному уровню, который отражен на рисунке.

Результаты и обсуждение. В целом можно констатировать, что при гипертермическом воздействии доля жизнеспособных клеток в суспензии снижалась, причем кинетика процесса показала, что существуют периоды быстрой гибели значительного числа клеток, и периоды, когда уменьшение доли живых клеток происходит очень медленно (фаза плато). 10-минутный прогрев при 42 °С привел к снижению количества живых клеток в суспензии на 11 %, в течение последующих 40 мин гипертермии доля жизнеспособных клеток практически не снижалась, а затем постепенно к 120-ой минуте эксперимента достигла 74 % (везде $P < 0,05$). При режиме 43 °С через 10 мин количество жизнеспособных клеток снизилось на 17 %, через 90 – 120 мин прогрева составляло от 56 до 61 % по отношению к исходному уровню (снижение около 40 %, $P < 0,05$). Прогрев при 44 °С через 10 мин привел к снижению жизнеспособности на 11 %, через 20 мин – на 17 %, до 50 минуты воздействия, когда количество жизнеспособных клеток составляло 80 % от исходного, наблюдалась фаза плато, через 60 мин теплового шока количество живых клеток снизилось до 68 %, через 120 мин – до 45 %. При температуре 45 ° выраженной фазы плато не наблюдалось. Через 80 мин воздействия повышенной температуры погибла половина клеток АКЭ, к концу эксперимента, через 120 мин, оставалось 24 % жизнеспособных клеток. Гипертермия при температурах выше 45 °С показала, что плато смещалось от начальных этапов прогрева к конечным и наблюдалось после гибели основной части клеток. При 46 °С за 50 мин погибло 71 % клеток, в течение последующих 50 мин прогрева (плато) доля погибших клеток достигла 80 %; затем происходило ускорение процесса их гибели и ко времени окончания эксперимента осталось 9 % живых клеток. Кривая выживаемости клеток при 47-градусном прогреве аналогична таковой при воздействии температуры 46 °С, но доля выживших клеток при более высокой температуре на каждом этапе ниже: через 50 мин погибло 77 % клеточной популяции, к концу фазы плато (100 мин) – 84 %, через 120 мин – 94 %. При 48 °С начало

фазы плато наблюдали через 40 мин воздействия, к этому времени 75 % клеток погибло; через 70 мин теплового шока доля погибших клеток составила 83 %. В последующие 20 мин регистрировалось ускорение клеточной гибели и на 90-ой минуте эксперимента количество выживших клеток составляло 6 % от исходного, затем, на протяжении последних 30 мин гипертермии, в суспензии выживало 3–4 % клеток. При воздействии температуры 49 °С в течение 40 мин погибло 84 % клеток, затем в течение 20 мин их количество оставалось практически постоянным, а через 70–80 мин прогрева выжило около 10 % популяции; после 90–120 мин гипертермии в суспензии выявляли 1–4 % выживших клеток, не окрашенных трипановым синим. При 50 °С в течение 40 мин погибли 91 % клеток, оставшиеся клетки постепенно погибали в последующие 80 мин, но даже после 2-х часового прогрева в суспензии выявлялись единичные живые клетки ($0,83 \pm 0,36$ %).

Таким образом, при температурах 42–47 °С происходит снижение количества жизнеспособных клеток на 11–16 % в первые 10 мин. При 42 – 44 °С в последующие 30–40 мин наблюдается фаза плато, а затем – более быстрая гибель клеток, которая ускоряется с повышением температуры. При 45 °С корреляция между временем прогрева и количеством оставшихся жизнеспособных клеток более чем при всех остальных режимах приближена к линейной. При температурах выше 46–47 °С в течение 50 мин гибнет 71 и 77 % клеток соответственно; при 48, 49 и 50 °С в течение 40 мин гибнет 75–91 % клеток. Продолжение нагревания клеток при этих температурах в течение последующих 60–80 минут сопровождается замедлением скорости гибели клеток. Данная кинетика гибели связана с различной термочувствительностью клеток, зависящей, в частности, от фазы клеточного цикла [3]. Так, наиболее термочувствительны клетки, находящиеся в S- и M-фазах клеточного цикла, а наиболее резистентны – находящиеся в G1-фазе [3]. Существует также генетическая гетерогенность клеток по признаку устойчивости или чувствительности к тепловому шоку. Для объяснения причин выживаемости или гибели клеток при гипертермии важным является знание механизма тепловых повреждений, о чем, к сожалению, известно мало. Тот факт, что энергия, требующаяся для индукции клеточной смерти в начале экспоненциальной фазы гибели, коррелирует с энергией, при которой наблюдается потеря белковыми веществами их есте-

ственных свойств вследствие нарушения динамики и структуры молекул клеточных белков, привел к гипотезе, связывающей цитотоксический эффект гипертермии главным образом с денатурацией цитоплазматических и мембранных белков [3]. Клеточная гибель при нагревании рассматривается как двухступенчатый процесс. Первый шаг – это индукция нелетальных повреждений, которые затем переходят в летальные (второй шаг) при дальнейшем нагревании. Интенсивность возникновения повреждений обоих типов зависит от температуры [4].

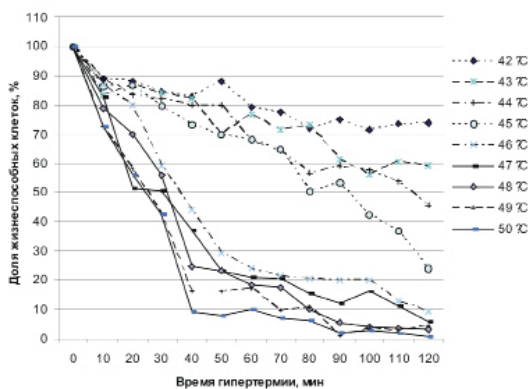


Рис. Выживаемость клеток АКЗ при различных режимах гипертермии

Гипертермия вызывает как некроз, так и апоптоз, причем на модели рака простаты показано, что при 42–43 °С индуцируется программируемая, а при более высокой температуре (44 °С) – некrotическая гибель клеток [5]. Это согласуется с данными о том, что факторы, активирующие апоптоз, при более длительном и интенсивном воздействии могут также индуцировать и некроз [3]. Вероятно, объяснение этого заключается в том, что апоптоз является активным процессом, и для его развития требуются условия, не вызывающие денатурации и не нарушающие функциональной активности ферментов. При умеренной гипертермии наблюдается активация синтеза и функциональной активности белков теплового шока – группы ферментов, функцией которых является предотвращение гибели клетки от индуцированных повышенной температурой и другими стрессорными воздействиями повреждений [3].

Однако возможно, что при температурах, когда можно предполагать быструю денатурацию белка и прекращение физиологических процессов в клетке (около 50 °С) для термоустойчивости могут иметь значение и другие факторы.

Полученные данные позволяют заключить, что эффективность гипертермии в отношении опухолевых клеток увеличивается при воздействии температур 46 °С и выше по сравнению с теми, которые типичны для лихорадки (около 42 °С). Тепловой шок в течение 50 мин при температурах 46 и 47 °С и 40 мин при температурах 48–50 °С приводит к гибели более 70 % клеточной популяции АКЭ. В этом интервале доля погибающих клеток напрямую зависит от времени прогрева. Дальнейшее продление гипертермического воздействия не приводит к заметному увеличению гибели клеток. В проведенных экспериментах гипертермия в течение двух часов не привела к полной гибели клеток: при всех примененных режимах в инкубируемой суспензии оставались выжившие клетки (от 74 % при 42 °С до 0,8 % при 50 °С).

Список литературы

1. *Koulchitsky S. V., Kulchitsky V. A.* // Proc. Natl. Sci. Counc. ROC(B). – 2001. – Vol. 25. – № 4. – P. 197–213.
2. *Van der Zee J.* // Ann. Oncol. – 2002. – № 8. – P. 1173–1184.
3. *Hildebrandt, B.* [et al.] // Crit. Rev. Oncol. Hematol. – 2002. – Vol. 43. – P. 33–56.
4. *Jung, H.* // Radiat. Res. – 1994. – Vol. 139. – № 3. – P. 280–289.
5. *Moriyama-Gonda N.* [et al.] // BJU Int. – 2002. – Vol. 90. – № 3. – P. 317–325.

УЧАСТИЕ МОНООКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМАХ РЕАЛИЗАЦИИ ВЛИЯНИЯ ИГЛОУКАЛЫВАНИЯ НА ТЕМПЕРАТУРУ ТЕЛА У КРОЛИКОВ ПРИ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКЕ

Е. А. Третьякович, Ф. И. Висмонт

Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь

Известно, что иглоукалывание является одним из эффективных и доступных методов анальгезии и лечения различных заболеваний [2; 3]. В последнее время появилось немало публикаций о влиянии

воздействия акупунктуры на иммунологические, воспалительные процессы и терморегуляцию [5; 6]. Однако механизмы реализации влияния иглокальвания на температуру тела и процессы жизнедеятельности слабо изучены и во многом не ясны. В последние десятилетия в нашей стране и за рубежом большое внимание уделяется вопросам изучения роли монооксида азота (NO) в регуляции различных физиологических функций [4]. Показано, что NO участвует в центральных механизмах регуляции процессов теплообмена при перегревании и действии пирогенных факторов [1]. Однако работы по выяснению роли NO в механизмах реализации влияния акупунктуры на процессы жизнедеятельности практически отсутствуют. Исследования с целью выяснения значимости NO в механизмах реализации иглокальвания на температуру тела и процессы теплообмена вообще не проводились, что и явилось целью настоящей работы.

Материалы и методы. Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных мягко фиксированных беспородных кроликах обоего пола массой 2,2–3,5 кг после 1–2 недельной адаптации к условиям эксперимента. Температура воздуха в помещении, где содержались животные, поддерживалась на уровне 20–24 °С. Для создания экспериментальной модели эндотоксиновой лихорадки использовали бактериальный липополисахарид (ЛПС) – пирогенал (ГУ НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН, Россия), который вводили кроликам однократно в краевую вену уха в дозе 0,5 мкг/кг. Для изменения активности NO-зависимых механизмов применяли блокатор NO-синтазы L-NAME – метиловый эфир N⁶-нитро-L-аргинина (Sigma, США), который вводили внутривенно в дозе 25 мг/кг. Реакцию поверхностных сосудов ушной раковины как специфическую реакцию теплоотдачи оценивали по общепринятой методике – измерению температуры кожи уха. Температуру кожи наружной поверхности ушной раковины, а также глубокую температуру тела кроликов (за которую принимали температуру в прямой кишке на глубине 7 см) измеряли электрическим термометром ТПЭМ-1 каждые 15 минут в течение 4 часов. ЧСС у кроликов определяли по ЭКГ, которую отводили от грудной клетки экспериментальных животных игольчатыми электродами, расположенными подкожно. Акупунктурное воздействие на аналоги БАТ осуществляли билатерально (кроме аналога БАТ жень-чжун (GV-26), которая относится к непарному заднесрединному меридиану) в течение 45 с как

у интактных кроликов, так и у животных на 60-й и 120-й минутах пирогеналовой лихорадки после предварительного выстригания шерсти, через акупунктурные иглы диаметром 0,25 мм. Глубина введения иглы составляла 3 мм. Поиск аналогов БАТ осуществлялся по анатомо-топографическим признакам и специальным атласам, а также с помощью электрического прибора, предназначенного для индикации «активных» точек. В контрольных сериях животным делали иглоукальвание вне аналогов БАТ. Весь цифровой материал статистически обработан по общепринятым методам вариационной статистики. Достоверными результаты считались при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В опытах на кроликах нами было выявлено влияние иглоукальвания в аналоги БАТ шао-шан (LU-11), шан-ян (LI-1), цюй-чи (LI-11), вай-гуань (TH-5), цзусань-ли (St-36), ней-гуань (HC-6), а также жень-чжун (GV-26) на температуру тела.

Установлено, что после акупунктурного воздействия на аналоги БАТ LU-11 и LI-1, LI-11 и TH-5 отмечается понижение температуры тела животных, а после иглоукальвания в аналогах точек St-36, HC-6 и GV-26 – возникновение слабовыраженной и кратковременной гипертермии. Так, через 15 мин после окончания иглоукальвания в аналоги точек LU-11 и LI-1, LI-11 и TH-5 отмечалось снижение ректальной температуры у кроликов на $0,4 \pm 0,041$ °C ($p < 0,05$, $n = 8$) и $0,6 \pm 0,05$ °C ($p < 0,05$, $n = 8$) соответственно. Действие акупунктуры на БАТ LI-11 и TH-5, LU-11 и LI-1 через 15 мин после иглоукальвания проявлялось снижением ЧСС на 39 ± 3 уд/мин ($p < 0,05$, $n = 7$) и на 30 ± 2 уд/мин ($p < 0,05$, $n = 8$) соответственно. Длительность гипотермии составляла 20–30 минут. Акупунктурное воздействие на аналоги точек St-36 и HC-6 повышало температуру тела на $0,5 \pm 0,061$ °C ($p < 0,05$, $n = 7$ через 15 мин) и ЧСС на 35 ± 3 ударов в мин ($p < 0,05$, $n = 7$ через 15 мин). Через 15 мин после иглоукальвания в аналог точки GV-26 температура тела у животных повышалась на $0,5 \pm 0,067$ °C ($p < 0,05$, $n = 7$), а ЧСС на 36 ± 2 уд/мин ($p < 0,05$, $n = 7$). Через 40–60 минут после акупунктурного воздействия на аналоги БАТ температура тела и ЧСС нормализовались. Одной из главных причин быстрого снижения температуры тела под влиянием иглоукальвания в аналоги точек LU-11 и LI-1, LI-11 и TH-5 было усиление теплоотдачи – через 15 мин после акупунктурного воздействия

возникала вазодилатация (температура кожи уха повышалась более чем на 2 °С).

Введение в кровотоки кроликам ($n = 10$) ЛПС в дозе 0,5 мкг/кг приводило к быстрому нарастанию ректальной температуры. Температура повышалась на 0,6 °С ($p < 0,05$), 1,1 °С ($p < 0,05$), 1,5 °С ($p < 0,05$) через 30, 60 и 120 минут после введения препарата и достигала $39,2 \pm 0,12$ °С, $40,0 \pm 0,11$ °С, $40,4 \pm 0,11$ °С соответственно. Температура кожи уха у кроликов при этом понижалась более чем на 2 °С. Акупунктурное воздействие на аналоги БАТ LU-11 и LI-1, LI-11 и TH-5 в условиях пирогеноловой лихорадки приводило через 15 минут от момента начала иглоукалывания к понижению ректальной температуры на 0,7 °С и 0,8 °С ($p < 0,05$, $n = 8$), соответственно. Иглоукалывание в аналоги БАТ St-36 и HC-6 не отражалось на развитии лихорадки. Антипиретический эффект акупунктуры сохранялся в течение 40–50 минут и в значительной мере был обусловлен усилением процессов теплоотдачи, признаком чего являлось повышение температуры кожи уха. Температура кожи уха через 15 минут после иглоукалывания в аналогах точек LU-11 и LI-1 повышалась на $3,0 \pm 0,4$ °С ($p < 0,05$, $n = 9$).

Внутривенное введение кроликам ($n = 8$) ингибитора NO-синтазы L-NAME в дозе 25 мг/кг (препарат в данной дозе не влияет на температуру тела в нормальных условиях) за 30 мин до иглоукалывания препятствовало снижению ректальной температуры после акупунктурного воздействия в аналоги БАТ LU-11 и LI-1, LI-11 и TH-5. В другой серии опытов ингибитор NO-синтазы L-NAME вводили внутривенно за 30 мин до внутривенной инъекции ЛПС и на 60-й мин развития лихорадки осуществляли иглоукалывание в аналоги БАТ LU-11 и LI-1. Через 15 мин после акупунктурного воздействия ректальная температура у опытных кроликов снижалась на 0,2 °С ($p < 0,05$, $n = 7$), у животных контрольной группы, получивших внутривенно за 30 мин до введения ЛПС бидистиллированную воду, а не L-NAME, через 15 мин после иглоукалывания температура тела снижалась на 0,7 °С ($p < 0,05$, $n = 8$). Температура кожи уха у лихорадящих животных, предварительно получивших до инъекции ЛПС L-NAME повышалась на 0,8 °С ($p < 0,05$, $n = 7$) после иглоукалывания в аналоги БАТ LU-11 и LI-1, а у кроликов в контроле – на 3,1 °С ($p < 0,05$, $n = 8$).

Выводы:

1. Воздействие акупунктуры на аналоги биологически активных точек шао-шан (LU-11) и шан-ян (LI-1), цюй-чи (LI-11) и вай-гуань (TH-5), цзу-сань-ли (St-36), ней-гуань (HC-6), а также жень-чжун (GV-26) у кроликов приводит к изменениям показателей теплообмена. Иглоукальвание в аналоги точек LU-11 и LI-1, LI-11 и TH-5 у экспериментальных животных сопровождается понижением, а в аналоги точек St-36 и HC-6, GV-26 – повышением температуры тела.

2. Воздействие иглоукальвания на аналоги БАТ LU-11 и LI-1, LI-11 и TH-5 в условиях эндотоксиновой лихорадки приводит к понижению температуры тела у кроликов.

3. Активность синтазы монооксида азота имеет значение для формирования терморегуляторных реакций на акупунктурное воздействие в аналогах биологически активных точек LU-11 и LI-1, LI-11 и TH-5 у кроликов. Угнетение образования в организме монооксида азота метиловым эфиром N⁶-нитро-L-аргинина устраняет гипотермический эффект иглоукальвания в аналоги точек LU-11 и LI-1, LI-11 и TH-5 и ослабляет антипиретический эффект акупунктуры в аналоги точек LU-11 и LI-1.

Список литературы

1. *Гурин, А. В.* // Успехи физиол. наук. – 1997. – Т. 28. – № 1. – С. 53–60.
2. *Линь, Ч.* Клиническая акупунктура: практ. рук / Ч. Линь, М. Штереншис. – Ростов н/Д, 2004.
3. *Лувсан, Г.* Традиционные и современные аспекты восточной рефлексотерапии / Г. Лувсан. – М., 1991. – Ч. I.
4. *Реутов, В. П.* Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / В. П. Реутов [и др.]. – М., 1997.
5. *Son, Y. S.* [et al.] // Neurosci. Lett. – 2002. – Vol. 319. – № 1. – P. 45–48.
6. *Hisamitsu, T.* [et al.] // International Congress Series. – 2002. – Vol. 1238. – P. 125–131.

ТЕРМОРЕГУЛЯЦИЯ: ФИЗИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОБЛЕМЫ

В. С. Улащик

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Терморегуляция – важнейшая гомеостатическая функция, направленная на поддержание постоянной температуры тела [1–6]. Для ее изучения используют различные подходы и методы: от молекулярных до организменных. Особый интерес представляет рассмотрение проблемы с физиотерапевтических позиций. С одной стороны, использование физических факторов может внести определенный вклад в изучение механизмов терморегуляции и ее нарушений. С другой стороны, исследование влияния физических факторов на терморегуляцию позволяет расширить представления о механизмах биологического действия физических факторов и научно обосновать применение различных теплоносителей с превентивными, лечебными и реабилитационными целями. Несмотря на кажущуюся важность затронутых вопросов, до настоящего времени проблема терморегуляции в физиотерапевтическом аспекте не рассматривалась и не обсуждалась. В настоящей статье делается попытка обобщить наиболее важные, как собственные, так и данные литературы по этой проблеме и наметить пути дальнейшего изучения физиотерапевтических аспектов терморегуляции.

Общие основы терморегуляции и возможности ее модуляции. Поддержание относительного постоянства температуры организма – одно из проявлений гомеостаза человека. Тепловой баланс в организме человека складывается благодаря двум противоположно направленным процессам – теплообразованию и теплоотдаче (теплоизлучению) [5; 6; 17; 22]. Теплообразование является результатом экзотермических окислительных реакций в клетках и тканях, направленных на обеспечение жизнедеятельности организма. Эти реакции протекают обычно с участием ферментов и носят адекватный характер при нормальных для организма температурах. Теплоотдача также является важным элементом температурного гомеостаза, так как без нее вследствие непрерывности экзотермических реакций была бы велика вероятность перегрева организма, ведущего к нарушению физиологических функций. Теплоотдача, называемая физической терморегуляцией, осуществляется за счет кондукции, конвек-

ции, излучения и потоотделения [5; 17]. Так как теплоотдача составляет одно из проявлений взаимодействия организма с внешней средой, ее параметры в значительной степени определяются как естественными, так и искусственно изменяемыми (например, с помощью физических факторов) условиями существования человека и животных. Терморегуляционные функции организма легко нарушаются от различных, даже незначительных внешних воздействий [6]. Все эти вопросы имеют как теоретический, так и практический интерес для физиологии, патофизиологии, физической и клинической медицины. Направленные воздействия на температурный гомеостаз как в эксперименте, так и в клинике возможны либо в форме подавления или интенсификации теплопродукции, либо путем усиления или торможения теплоотдачи. Оба пути изменения теплового баланса организма имеют место не только при изменении температуры окружающей среды, но и при использовании физических факторов с лечебно-профилактическими целями [8; 9; 14].

Целенаправленное применение физических факторов с целью изменения теплового баланса невозможно без хотя бы краткого рассмотрения современных представлений о терморегуляции в организме. Предметом терморегуляции является температура. Наиболее простая и понятная идея в этом плане была выдвинута Либермейстером еще в 1887 г. Эта идея состояла в том, что температура тела человека и гомойотермных животных регулируется по температуре мозга в области гипоталамуса. Однако единой относительно такой установочной точки в терморегуляции сегодня не существует. Можно согласиться с мнением К. П. Иванова, что предметом регуляции не может быть какая-либо одна температура тела или даже температура отдельных частей тела, как например, центральной нервной системы или кожи. Имеющиеся факты говорят о том, что предметом терморегуляции служит интегральный температурный показатель, которым может быть средняя температура тела или уровень его теплосодержания [6].

Управление всеми реакциями, которые позволяют поддерживать температуру тела в различных условиях, в том числе и при теплелечении, и криотерапии, осуществляется специальными нервными центрами, локализованными в головном мозге [6; 14; 17]. Эти центры получают информацию по проводящим путям от термочувствительных нейронов различных отделов центральной

нервной системы и от периферических терморепцепторов. Наибольшее значение для периферической температурной чувствительности имеют терморепцепторы кожи, представляющие собой свободные нервные окончания. Различают холодовые терморепцепторы с максимальной частотой импульсации при температуре кожи 25–30 °С и тепловые – с максимумом около 40 °С. Тепловые рецепторы имеют более высокую частоту импульсации, чем холодовые, что может быть использовано для избирательной их стимуляции физическими факторами в резонансном режиме воздействия. Терморепцепторы располагаются в поверхностном слое кожи непосредственно под эпителием, а также в глубоких кожных слоях и в стенках подкожных кровеносных сосудов.

Основным центром терморегуляции, как известно, является гипоталамус, куда направляется импульсация от терморепцепторов не только кожи, но и других структур. При этом передний гипоталамус регулирует процессы теплоотдачи, а ядра заднего гипоталамуса считаются центром теплообразования. По мнению К. П. Иванова, в гипоталамусе находятся нейроны различного функционального назначения, одни из которых способны интегрировать температурные сигналы от различных термочувствительных структур и управлять специфическими терморегуляторными реакциями [6; 17]. Особенно много таких нейронов в ядрах заднего гипоталамуса. Специфическими передатчиками возбуждения для нейронов центра терморегуляции служат ацетилхолин, серотонин или норадреналин. Многие биологически активные вещества способны модулировать чувствительность центра терморегуляции к температурным изменениям [4; 6]. Поддержание температуры тела отличается высокой точностью. У человека в зоне температурного комфорта (28–31 °С для обнаженного человека) сосудистая реакция терморегуляции развивается при изменении средней температуры тела всего на 0,1 °С. Отсюда со всей очевидностью следует, что терморегуляторные реакции будут возникать не только при воздействии теплолечебными факторами, но и при использовании других физиотерапевтических методов с небольшим теплообразованием.

Модуляция терморегуляции физическими факторами. Физические факторы пока еще не нашли должного применения в термофизиологии, но возможности их, как будет показано ниже, весьма заманчивы, хотя и мало исследованы.

Прежде всего физические факторы могут оказаться полезными для изучения механизмов функционирования различных структур терморегуляторной системы. Наряду с разрушением отдельных структур, что уже неоднократно использовалось различными исследователями, физические факторы можно применить для избирательной стимуляции или блокады отдельных нейронов или других структур для уточнения роли каждой из них в терморегуляции. Этот подход позволит регулировать степень развития экспериментальной гипо- или гипертермии и тем самым дифференцированно подойти к изучению включения различных терморегуляторных реакций при моделируемой глубине нарушения температурного гомеостаза. С помощью микроэлектрофореза можно точнее изучить роль ионов, нейропептидов и других биологически активных веществ в изменении активности термочувствительных нейронов гипоталамуса. Важность биологически активных веществ для различных сторон терморегуляции детально обсуждалась ранее В. Н. Гуриным с соавторами [4]. Новые возможности открывает использование магнитных наночастиц и их магнитоуправляемого нагрева для исследования различных сторон терморегуляции.

Не менее важный аспект – использование лечебных физических факторов для искусственной стимуляции терморегуляции. Современный человек часто оказывается в экстремальных ситуациях, где его терморегуляция оказывается недостаточно мощной для сохранения температурного гомеостаза. Имеются, как и у лекарственных средств, три направления решения проблемы. Первое – применение физиотерапевтических методов для нормализации психического состояния, общей стимуляции физических сил и реактивности организма, устойчивости его к неблагоприятным факторам среды. На различных экспериментальных моделях и в клинических наблюдениях показано, что таким действием обладают общая магнитотерапия, КВЧ-терапия, иглорефлексотерапия, транскраниальная электростимуляция, микрополяризация мозга и др. Не менее важно, что физические факторы могут быть использованы и для потенцирования применяемых с этой же целью фармакологических средств. Перспективным представляется использование по этому направлению трансдермальных электротерапевтических систем [15].

Второе направление – целенаправленная стимуляция специфических физиологических реакций терморегуляции: сосудистых

реакций кожи, потоотделения, термогенеза. С этой целью можно использовать теплолечебные методы, высокочастотную электротерапию, импульсное инфракрасное излучение, трансцеребральную УВЧ-терапию и др. Возможность получения таких эффектов хорошо известна и описана в различных книгах и даже учебниках [8; 9; 12; 14]. Но каждая терморегуляторная реакция, вызываемая физическими факторами, будет сопровождаться рядом других физиологических изменений. Поэтому необходимо это учитывать в комплексе, без чего терморегуляторные реакции могут оказаться неэффективными или неадекватными. К разработке этого направления необходимо относиться со всей тщательностью и осторожностью, изучая действие на организм различных физических факторов при варьировании параметров и методики воздействия, времени и места проведения физиотерапевтических процедур.

Третье направление – с помощью физических факторов или их комбинирования (сочетания) с лекарственными препаратами можно создать искусственную адаптацию организма к теплу или холоду, повысить его общую устойчивость к температурным воздействиям. Проблема эта смыкается с решением проблем акклиматизации, закаливания и общей профилактики. Здесь у лечебных физических факторов имеются определенные преимущества, так как лекарства вызывают обычно непродолжительное повышение устойчивости к влиянию температурных факторов, не сравнимое с эффектом адекватной длительной адаптации к ним. К тому же в отличие от лекарств физическим факторам присуще явление перекрестной адаптации [20]. Для закаливания, повышения устойчивости к температурным факторам используют водотеплолечебные процедуры, сауну, воздушные ванны, ультрафиолетовые облучения, аэрокриотерапию и др. Сауна к тому же считается хорошим методом дегидратационной терапии [12]. Заметим, что к холоду адаптация развивается быстрее, длительнее сохраняется и более эффективна. Возможно, это в какой-то степени обусловлено различиями в топографии холодовых и тепловых рецепторов, что подлежит выяснению.

Важный аспект рассматриваемой проблемы – использование физических факторов при нарушениях терморегуляции, вызванных различными причинами, или для вызывания гипо- и гипертермии с целью лечения некоторых заболеваний. Последнее направление в настоящее время получает особенно широкое развитие.

Согласно многочисленным исследованиям средством, угнетающим терморегуляцию, в клинике может служить легкая гипоксия, в том числе вызываемая и с помощью физиотерапевтических методов [1; 9; 13]. Механизмам нарушения терморегуляции при гипоксии посвящена монография Ю. И. Баженова [1]. Для согревания после охлаждения могут использоваться диатермия, термомагнитотерапия, общее грязелечение и др. Для борьбы с перегревани-ем используют охлаждающую постель, пылевой душ, различные виды криотерапии. Последняя позволяет варьировать глубину и площадь охлаждаемой поверхности [10]. В исследованиях сотрудников нашей лаборатории показано, что многие физические факторы (низкочастотное магнитное поле, поляризованный свет, УФО крови и др.) обладают антипиретическим действием при экспериментальной лихорадке, вызванной введением эндотоксина *E. coli*. Выраженность и продолжительность антипиретических эффектов варьировала у различных физических факторов и при изменении условий их применения [19].

Особо в этом ряду стоит использование физических факторов для лечебной гипертермии в онкологии и других областях медицины. Для создания общей гипертермии использовались такие методы, как орошение тела больного теплой водой, обдувание нагретым воздухом, погружение пациента в ванну с водой постпенно повышающейся температуры. В дальнейшем, в том числе и у нас в Беларуси, применялась общая высокочастотная электромагнитная гипертермия [18]. Значительное большее распространение получила локальная гипертермия, основанная на использовании таких физических факторов как микроволны, лазерное излучение, высокочастотные электрические токи и поля. Эти методы локальной гипертермии с успехом используются при лечении меланомы кожи, сарком мягких тканей и костей, рака молочной железы, легких, пищевода, прямой кишки, почек, мочевого пузыря, матки, яичников, поджелудочной железы. Разработан новый метод локальной гипертермии – магнитная гипертермия, успешно апробированная при лечении злокачественных новообразований ряда локализаций [7]. Институтом тепло- и массообмена им. А. В. Лыкова НАН Беларуси совместно с нами разрабатывается новый вариант ферромагнитной гипертермии, позволяющий точно дозировать и контролировать процесс нагревания опухоли. Получает распространение также

метод внутритканевой деструкции опухолей с помощью локальной лазерной термотерапии [11].

Определенное отношение к проблеме терморегуляции имеет и использование температуры в качестве управляющего сигнала при БОС-технологиях, которые позволяют добиться совершенствования или коррекции параметров функций в нужном направлении путем мобилизации собственных резервов организма. В этих технологиях о текущем состоянии своего организма человек может судить не только по биотокам мозга, частоте пульса, ритму дыхания, но и по температуре кожи или других тканей. Технология БОС, при которой используют обратную связь по температуре кожи, успешно применена при различных поражениях периферических сосудов [16; 21; 23]. С позиций терморегуляции должны рассматриваться механизмы физиологического и лечебного действия теплотечения, особенно таких как сауна, общая криотерапия, общее грязелечение и др. Только опираясь на данные термофизиологии, можно объяснить особенности действия на организм теплофизических факторов с различной глубиной проникновения и механизмами образования тепла. Без знания термофизиологии невозможно объяснить, почему при одной и той же величине теплосодержания физические факторы оказывают различное влияние на регионарное кровообращение, потоотделение, функционирование других систем организма. С позицией термофизиологии вполне удовлетворительно объяснимы различия в действии ванн одной температуры, но различного химического состава и т. д.

В свою очередь физиотерапевтические подходы могут помочь выяснению некоторых нюансов терморегуляции. Об использовании их для изучения центральных процессов терморегуляции уже отмечалось, но не меньшие возможности имеются и для исследования процессов терморегуляции на периферии. Не повреждая ткани, с помощью физических факторов можно вызвать обратимую блокаду периферических терморцепторов и путей передачи их импульсной афферентации, избирательную стимуляцию потовых желез, открытие артерио-венозных шунтов, избирательный нагрев внутренних органов. Определенным инструментом в исследовании терморегуляции могла бы служить способность физических факторов вызывать нагрев отдельных структур, эндогенный или экзогенный нагрев тканей, легко изменять глубину и степень на-

грева тканей и др. Эти данные могли бы оказаться полезным и при разработке технических средств борьбы с нарушением терморегуляции.

Исследование проблем терморегуляции важно не только само по себе, для понимания закономерностей функционирования живых систем, но и для решения смежных вопросов и прикладных проблем, например в физиотерапии. При этом важно подчеркнуть, что физические факторы различной природы могут быть использованы не только для нормализации температурного гомеостаза при экстремальных ситуациях и патологических состояниях, вызывания гипо- или гипертермии с лечебно-профилактическими целями, но и как удобный инструмент для изучения интимных механизмов терморегуляции. Для того чтобы эти задачи решались успешно, нужны, с одной стороны, глубокие знания по теплообмену и терморегуляции, а с другой стороны, учет особенностей действия на различные системы и процессы в организме, прежде всего на температурный гомеостаз физических факторов, различающихся механизмом действия, способами применения, дозировкой и местом применения. Разумеется, наибольший успех возможен при совместной работе термофизиологов и физиотерапевтов.

Список литературы

1. *Баженов, Ю. И.* Терморегуляция при адаптации к гипоксии / Ю. И. Баженов. – Л., 1986.
2. *Гурин, В. Н.* Центральные механизмы терморегуляции / В. Н. Гурин. – Минск, 1980.
3. *Гурин, В. Н.* Терморегуляция и симпатическая нервная система / В. Н. Гурин. – Минск, 1989.
4. *Гурин, В. Н.* Терморегуляция и биологически активные вещества крови / В. Н. Гурин, А. В. Гурин. – Минск, 2004.
5. *Иванов, К. П.* Терморегуляция / К. П. Иванов // БМЭ. 3-е изд. – М., 1985. – Т. 25. – С. 106–114.
6. *Иванов, К. П.* Основы энергетики организма / К. П. Иванов. – Л., 1990. – Т. 1: Общая энергетика, теплообмен и терморегуляция.
7. *Никифоров В. Н., Брусенцов Н. А.* // Мед. физика. – 2007. – № 2. – С. 51–59.
8. *Олиференко, В. Т.* Водотеплолечение / В. Т. Олиференко. – М., 1986.
9. *Пономаренко, Г. Н.* Общая физиотерапия / Г. Н. Пономаренко. – Киев, 2004.
10. *Портнов, В. В.* // Физиотерапевт. – 2008. – № 3. – С. 33–50.
11. *Привалов В. А., Селивестров О. В., Ревель-Муроз Ж. А.* // Хирургия. – 2001. – № 4. – С. 10–13.
12. Сауна / под ред. В. М. Боголюбова, М. Матея. – М., 1984.

13. *Сумбатов, Л. А.* Искусственная гипотермия / Л. А. Сумбатов. – М., 1985.
14. *Улащик, В. С.* Введение в теоретические основы физической терапии / В. С. Улащик. – Минск, 1981.
15. *Улащик, В. С.* // *Здравоохранение.* – 2003. – № 1. – С. 6–14.
16. *Улащик, В. С.* // *Здравоохранение.* – 2008. – № 5. – С. 13–18.
17. Физиология терморегуляции / под ред. К. П. Иванова. – Л., 1984. – С. 267–310 (Руководство по физиологии).
18. *Фрадкин, С. З.* // *Здравоохранение.* – 1995. – № 9. – С. 6–9.
19. *Чичкан, Д. Н.* Механизмы действия лечебных физических факторов / Д. Н. Чичкан [и др.]. – Минск, 2007.
20. *Яковлев, Н. Н.* Живое и среда / Н. Н. Яковлев. – Л., 1986.
21. *Baby S., Elfner L., Way J.* // *Int. J. Psychophysiol.* 1990. Vol. 9, N3. P. 225-230.
22. *Hales, J.* *Thermal Physiology* / J. Hales. – N. Y., 1984.
23. *Lubar, J.* // *Appl. Psychophysiol Biofeedback* / J. Lubar. – 1997. – Vol. 22. – № 2. – P. 111–126.

РЕАБИЛИТАЦИЯ ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ В РЕЗУЛЬТАТЕ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС

Н. А. Фудин, А. А. Хадарцев, С. Я. Классина

НИИ нормальной физиологии им. П. К. Анохина РАМН,
Москва, Россия

Тульский НИИ новых медицинских технологий, Тула, Россия

Проблема восстановления нарушенных функций у лиц, находящихся на территории неблагоприятных техногенно-экологических воздействий, приобретает все большую актуальность. Экологически неблагоприятная среда обитания, каковой является 30-ти километровая зона Чернобыльской АЭС, не только «загрязняет» организм человека, но и способствует развитию устойчивого психоэмоционального стресса, ведущего к формированию психосоматических заболеваний. В этих условиях все большую значимость приобретает проблема защиты и реабилитации человека, направленной на восстановление нарушенных функций целостного организма.

В центре «Диагностика здоровья» НИИ нормальной физиологии имени П. К. Анохина РАМН разработан принципиально новый реабилитационно-оздоровительный метод для реабилитации лиц, пострадавших от радиационных, техногенных и экологических воздействий и находящихся в состоянии психоэмоционального стресса. В основу предлагаемого реабилитационно-оздоровительного

метода были положены тепло-холодовые и физические нагрузки, осуществляемые на фоне приема витаминных комплексов, минеральных веществ, микроэлементов и биологически активных веществ естественного происхождения. На этот реабилитационно-оздоровительный метод получена лицензия официальных органов Министерства Здравоохранения РФ за № 9627/1086, серия МДКЗ, дающая право на его широкое использование в лечебно-оздоровительных учреждениях РФ, издано методическое пособие, утвержденное МЗ РФ [5; 6].

Материалы и методы (методика и организация реабилитационно-оздоровительных мероприятий). Обследованы и реабилитированы 120 человек в возрасте от 23 до 45 лет – участники ликвидации аварии на Чернобыльской АЭС и лица, проживающие на загрязненной радионуклидами территории. Ликвидаторы, выполнявшие работы по дезактивации помещений энергоблока и территории станции, сооружению защитных устройств вокруг высокоактивных источников, подверглись воздействию целого ряда факторов, составной частью которого было ионизирующее излучение и стрессорные нагрузки. Жители загрязненных радиацией территорий подверглись «внутреннему» облучению, возникшему в результате употребления в пищу продуктов и воды, загрязненных радионуклидами.

Реабилитационные мероприятия этих лиц по предложенному нами методу состояли из *основного* и *закрепляющего* курса с общей длительностью 20 дней.

При этом перед началом основного курса реабилитационных мероприятий и через 10 дней после них пациентам рекомендовалось пройти врачебное обследование и лабораторные исследования крови: клинический анализ крови, биохимический анализ крови с помощью селективного биохимического анализатора (фирма Хитачи, Япония). Оценивали содержание катехоламинов (адреналин, норадреналин) в крови с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии на катехоламиновых анализаторах (фирма BAS, США). Оценивали витаминный статус по критериям обеспеченности витаминами А, С, Е, В₁, В₂, В₆, РР и бета-каротину, минеральный статус – по кальцию, железу и селену. Оценку обеспеченности витаминами проводили по содержанию их в сыворотке крови, по величине экскреции витаминов и их метаболитов в утренней часовой моче, а также по ТДФ и ФАД – эффектам (эритроцитов).

Определение содержания кальция, железа и селена проводили с использованием унифицированных методов исследования.

Основной курс имел протяженность 10 дней. При этом ежедневно после выполнения физических упражнений, приема витаминных комплексов и биологически активных веществ на фоне обильного питья пациенты в течение 1–1,5 часов с 5–7 минутными перерывами подвергались чередующимся тепловым (в увлажненной сауне при температуре 60–80 °С) и холодным (вне сауны под прохладным душем или в бассейне) воздействиям. Высокоэффективный поливитаминный препарат «Daily Care Pack» (фирма «Юнион Фарма Компани», США), представляющий собой оптимальный набор витаминов А, В₁, В₂, В₆, С, Е, РР, минеральных и биологически активных веществ, предлагался испытуемым непосредственно перед тепло-холодовыми процедурами и сразу же после них.

Пациентам, находящимся в сауне, рекомендовалось периодически покидать ее с целью дополнительного приема жидкости (за время сеанса рекомендовалось выпить от 3 до 5 литров жидкости: минеральной воды, чая, соков, настоев и отваров лекарственных трав, кислородных коктейлей). С целью интенсификации «промывания» жидких сред организма пациентам рекомендовалось принимать потогонные (мед с корнем женьшеня, чай с малиной и т. п.) и мочегонные средства (зелень петрушки, сельдерея, кинзы и т. п.), слабительные чаи.

Реабилитация по предложенному методу проходила под врачебным контролем. Ежедневно до и после сеанса реабилитации в сауне у пациентов измеряли систолическое (САД, мм рт. ст.) и диастолическое (ДАД, мм рт. ст.) артериальное давление по методу Короткова и частоту сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин), на основе которых рассчитывали минутный объем кровотока (л/мин) и вегетативный индекс Кердо (%). Измеряли уровень динамического тремора (td, число касаний за 40 секунд) с помощью тремометра, а также опрашивали пациентов об их субъективном самочувствии [1].

Закрепляющий курс осуществлялся по завершении основного курса, как поддерживающая процедура, в течение которого обследуемым лицам рекомендовался ежедневный прием индивидуально подобранных витаминных комплексов и биологически активных веществ в течение последующих 10 дней.

Результаты и обсуждение. Известно, что высокотемпературное тепловое воздействие сауны является мощным средством активации регуляторных систем человека. Потоотделение практически мгновенно включается в комплекс вегетативных реакций, однако основную нагрузку при этом все же принимает на себя сердечно-сосудистая система. Выявлено, что к концу реабилитации у обследуемых отмечалась тенденция к снижению вегетативного индекса Кердо с $6,06 \pm 0,4$ до $0 \pm 1,0$ %, позволившая говорить о нормализации вегетативного баланса у обследуемых, отмечалось достоверное снижение пульса с $82,6 \pm 1,4$ до $74,6 \pm 2,0$ уд./мин. ($p < 0,05$), достоверное снижение систолического артериального давления (САД) с 152 ± 5 до 137 ± 3 мм рт. ст. ($p < 0,05$) на фоне сохранения уровня минутного объема кровотока. Вероятно, такого рода направленность адаптивных реакций являлась отражением работы механизмов саморегуляции, позволившей сохранить исходный уровень минутного объема кровотока, и, в конечном итоге, физическую работоспособность обследуемых.

Предварительные обследования показали, что практически у всех обследуемых нами лиц исходно отмечался высокий уровень психоэмоционального напряжения. Однако уже к 10-му дню реабилитации у обследуемых на фоне улучшения субъективного самочувствия отмечалось достоверное снижение уровня тремора с $21,0 \pm 3,6$ до $12,9 \pm 1,8$ касаний ($p < 0,05$, рис.), что позволило говорить о снижении уровня психоэмоционального напряжения у них.

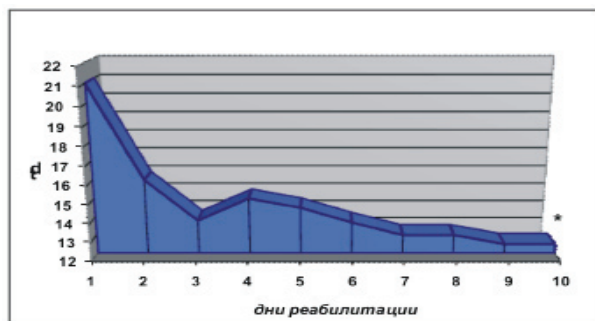


Рис. Динамика средних значений тремора (td, число касаний за 40 с) у обследуемых в процессе реабилитации (*— $p < 0,05$ по отношению к исходному состоянию)

Витамины-антиоксиданты являются специфическим средством терапии радиационных поражений. Выявлено, что исходно дефицит витамина С отмечался у 86 % обследуемых, дефицит витамина А – у 30 %, дефицит бета-каротина – у 67 %, дефицит витамина Е – у 45 %, дефицит витамина В₁ – у 66 %, дефицит витамина В₂ – у 76 %, дефицит витамина В₆ – у 90 %, дефицит витамина РР – у 33 % обследуемых. Исходный дефицит по кальцию достигал – 33 %, по селену – 100 %, по железу – не был обнаружен. Обеднение организма витаминами при радиационных и стрессорных нагрузках происходило, по-видимому, вследствие разрушения их первичными продуктами радиолитиза, а также в результате их утилизации и обмена, повышенного выброса из организма, что особенно относится к аскорбиновой кислоте [2]. Однако уже к концу реабилитационных мероприятий отмечалось снижение витаминной недостаточности, а именно практически полное отсутствие дефицита по витаминам А, С, В₂, РР и бета-каротину, снижение дефицита по витаминам В₁ и Е до 10 %. Однако по витамину В₆, который является катализатором, регулирующим обмен нуклеиновых кислот, белков, жиров, углеводов, некоторых гормонов дефицит остался достаточно высоким – 72 %. Дефицит минеральных веществ сохранился. Вероятно, дополнительная витаминизация на фоне обильного питья и потоотделения явилась эффективным способом «промывки жидких сред организма».

Показано, что тепло-холодовые процедуры и витаминотерапия на фоне обильного питья создали условия для интенсивного потоотделения и последующего выведения радиоактивного цезия-137 из организма обследуемых. Проявилась выраженная тенденция к снижению среднего уровня радиоактивного цезия с 10861 ± 1708 до 6930 ± 142 Бк. Этот факт свидетельствует в пользу эффективности предложенного нами реабилитационного метода в плане детоксикации организма человека.

Реабилитационная программа, включающая прием витаминов, микроэлементов и биологически активных веществ в сочетании с тепло-холодовыми процедурами в сауне и физическими упражнениями, оказала существенное влияние на показатели крови обследуемых. Известно, что в результате радиационного воздействия угнетается гемопоэз. Предложенный реабилитационный метод проявил себя как средство восстановления гемопоэза после

радиационного воздействия. Это нашло свое отражение в тенденции к повышению количества эритроцитов с $(4,3 \pm 0,1) \cdot 10^{12}$ до $(4,5 \pm 0,1) \cdot 10^{12}$ 1/л, тромбоцитов с $(211 \pm 19) \cdot 10^9$ до $(282 \pm 11) \cdot 10^9$ 1/л и уровня гемоглобина с $136,7 \pm 5,4$ до $143,3 \pm 4,7$ г/л в периферической крови к концу реабилитационных процедур. Если при стрессе отмечается выраженное увеличение содержания катехоламинов в крови, то после реабилитационных процедур уровень адреналина в крови обследуемых имел тенденцию к снижению от 1117 ± 182 до 985 ± 135 пг/мл, а уровень норадреналина достоверно снизился с 969 ± 132 до 592 ± 130 пг/мл ($p < 0,05$).

Известно, что при радиационном воздействии меняется иммунологический статус обследуемых, в частности, снижается уровень иммуноглобулина-G в крови [3; 4]). Установлено, что исходно среднее значение уровня иммуноглобулина-G в крови наших обследуемых составило $10,8 \pm 0,5$ г/л, что приблизительно соответствовало нижней границе физиологической нормы, зато после проведения реабилитационных мероприятий отмечался достоверный рост уровня иммуноглобулина-G до $13,1 \pm 0,8$ г/л ($p < 0,05$), что свидетельствует в пользу повышения иммунорезистентности организма обследуемых. Следовательно, тепло-холодовые процедуры в сауне в сочетании с приемом витаминов, микроэлементов и биологически активных веществ способствовали восстановлению гемопоэза и повышению иммунорезистентности у наших обследуемых.

Таким образом, разработанный нами комплексный реабилитационный метод, включающий в себя сочетанные тепло-холодовые воздействия и физическую нагрузку на фоне приема витаминных комплексов, микроэлементов, биологически активных веществ и обильного приема жидкости, проявил себя как эффективное средство реабилитации и терапии радиационных и постстрессорных воздействий. При этом на реабилитационное воздействие целостный организм давал системный ответ, включающий в себя интегральный отклик многих функциональных систем организма. Перестройки в системных механизмах целостного организма привели к нормализации вегетативных и метаболических показателей, восстановлению гемопоэза и повышению иммунорезистентности, к снижению уровня радиоактивного загрязнения организма и, в конечном итоге, к снижению уровня психоэмоционального стресса.

Список литературы

1. Вейн, А. М. Вегетосудистая дистония / А. М. Вейн, А. Д. Соловьева, О. А. Колосова. – М., 1981.
2. Кондрусев, А. И. [и др.]. // Химико-фармацев. журн. – 1990. – Т. 24. – № 1. – С. 4–12.
3. Прокопчук, Б. И. Клинические, иммуногематологические и цитокариогенетические показатели у здоровых и практически здоровых военнослужащих, участвовавших в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС: автореф. дисс. ... канд. мед. наук / Б. И. Прокопчук. – СПб., 1992.
4. Романенко, А. Е. // Вестн. РАМН. – 1992. – № 2. – С. 7–14.
5. Судаков, К. В. // Системные механизмы реабилитации / Труды науч. совета РАМН по эксперим. и прикл. физиологии. – М., 1994. – Т. 5. – С. 6–14.
6. Фудин, Н. А. Реабилитация лиц, подвергшихся стрессорным и неблагоприятным экологическим воздействиям: метод. рекомендации / Н. А. Фудин [и др.]. – М., 1997.

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ЦИКЛА ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ В ТКАНЯХ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ЭНДОТОКСИНА И ПРОВЕДЕНИЯ КУРСА КОНТРАСТНЫХ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Г. Ф. Цыхун, И. Н. Семененя

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Постоянное увеличение контактов человека и животных с ксенобиотиками биотического и абиотического происхождения создает принципиально новую опасность для организма. Интерес к таким исследованиям обусловлен, прежде всего необходимостью оценки неблагоприятного действия факторов, прогнозирования состояния здоровья и разработки мероприятий по защите и минимизации последствий, вызванных этими воздействиями.

В настоящее время проблема эндотоксинового шока (ЭШ) является одной из наиболее важных в области практического здравоохранения в связи с тем, что смертность от него остается очень высокой и достигает 90 % [5]. Необходимо также подчеркнуть необычайную быстроту развития гемодинамических, метаболических, структурных, иммунологических и других нарушений при попадании эндотоксина в кровотоки. Пребывание в таких условиях ведет к дополнительным затратам энергии, расходованию резервных средств организма. По-видимому, нет необходимости специально обосновывать особый интерес исследователей к изучению энерге-

тического обмена, поскольку от его эффективности и надежности в огромной мере зависит устойчивость организма к воздействию различных неблагоприятных факторов, мощность защитных механизмов и способность организма использовать свои резервные возможности в поддержании своего энергетического гомеостаза.

В своих экспериментах в качестве повреждающего агента мы использовали липополисахарид *Escherichia coli* (ЛПС *E. coli*) – препарат, обладающий выраженными иммуномодулирующими свойствами и вызывающий экспрессию провоспалительных цитокинов. Кроме того, в клинической практике состояние бактериальной эндотоксемии встречается у пациентов с широким спектром заболеваний и поиск возможных путей преодоления разрушительных для организма последствий инфекционного шока имеет большое значение для медицины.

С целью изучения возможности повышения устойчивости организма к бактериальному эндотоксину в работе использованы импрессионные контрастные температурные воздействия (КТВ).

Контрастные температурные воздействия используются в клинической практике, спортивной медицине как эффективное средство тренировки, закаливания и оздоровления организма. Несмотря на то, что подобные температурные воздействия применяются с незапамятных времен, механизм их положительного действия практически не изучен. Имеются единичные исследования, свидетельствующие об усилении обменных процессов, тканевого дыхания, активности протеолитических ферментов в ответ на применение указанных процедур. Известно, что КТВ оказывают возбуждающее действие на центральную нервную систему, вызывают снижение реактивности артериального давления, улучшение психоэмоционального статуса больных с вегето-сосудистыми расстройствами, повышение физической работоспособности у больных гипертонией вследствие повышения адаптивной способности системы кровообращения в организме в целом.

Исходя из вышеизложенного, целью данного исследования явилось изучение влияния контрастных температурных воздействий на устойчивость экспериментальных животных к эндотоксемии, вызванной введением липополисахарида *Escherichia coli* в токсической дозе, на основании оценки глубокой температуры тела и активности ферментов цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) в больших полушариях головного мозга и миокарде крыс.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 32 белых крысах самцах (начальная масса – 170–220 г), которые содержались в стандартных условиях вивария. В течение 15 дней животных подвергали иммерсионным контрастным температурным воздействиям (чередование воды с температурой 42–43 °С и 5–7 °С). Погружение животных в воду производили в специально изготовленных из металлической сетки ящиках. Крысы, подвергавшиеся КТВ, погружались в воду на 15 с 14 раз в день: 7 раз в горячую воду и 7 – в холодную. Контролем служили интактные животные.

Ректальную температуру (Т_р) у крыс измеряли с помощью электротермометра ТПЭМ-1 до и сразу после проведения температурных воздействий.

Через 3 дня после окончания курса КТВ половине крыс с целью развития у них эндотоксинового шока внутрибрюшинно вводили липополисахарид *E. coli* в дозе 0,5 мг/животное. Остальные крысы получали инъекцию апиrogenного физиологического раствора.

Через 1 сутки после введения ЛПС в ткани больших полушарий головного мозга и миокарда изучали активность пируватдегидрогеназы (пируват: липоатоксидоредуктаза, ПДГ, КФ.1.2.4.1.), НАД-изоцитратдегидрогеназы (Ls-изоцитрат: НАД-оксидоредуктаза, НАД-ИЦДГ, КФ.1.1.1.41), 2-оксоглутаратдегидрогеназы (2-оксоглутарат: липоатоксидоредуктаза, ОДГ, КФ.1.2.4.2.), сукцинатдегидрогеназы (сукцинат (акцептор) оксидоредуктаза, СДГ, КФ.1.3.99.1.).

Активность митохондриальных дегидрогеназ ЦТК определяли по скорости превращения 2, 3, 5-трифенилтетразолия хлорида (Sigma) в формазан в присутствии феназинметасульфата. Активность ферментов выражали в мкг формазана на 1 мг белка митохондрий. Белок определяли по методу Лоури.

Полученные данные обработаны статистически с применением t-критерия Стьюдента. Достоверность результатов учитывали при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Изменение у крыс ректальной температуры до проведения КТВ и сразу после их окончания показало, что достоверное снижение Т_р после КТВ отмечалось в течение первых 7 дней. В дальнейшем разница в значениях Т_р до и после воздействия (Δt°) не была статистически значимой (исключение составили 10-й и 13-й дни) и температура тела этих животных сразу после иммерсионных контрастных температур-

ных воздействий практически не отличалась от исходной (Δt° составило 0,1–0,5 $^\circ\text{C}$).

Таким образом, иммерсионные контрастные температурные воздействия приводили к формированию у животных признаков температурной адаптации.

Установлено, что длительный курс КТВ приводит к выраженной активизации ЦТК в головном мозге и миокарде, наиболее значимые изменения ($p < 0,01$) зарегистрированы в повышении активности НАД-изоцитратдегидрогеназы на 25,5 % и 30,8 % и ФАД-зависимого фермента – сукцинатдегидрогеназы на 17,5 % и 15,8 % соответственно. Активность мультиэнзимных комплексов (ПДГ и ОДГ) оставалась тоже на повышенном уровне, однако не достигала достоверных изменений по отношению к контрольным величинам.

Полученный факт служит веским аргументом в пользу того, что при длительном воздействии контрастных температур, по видимому, имеет место сложная интеграция и взаимное потенцирование действия чередующихся высоких и низких температур, что, в свою очередь, может оказывать влияние на мобилизацию митохондриального энергообеспечения в тканях крыс.

Введение бактериального эндотоксина в дозе 0,5 мг на крысу выявило различия между опытной и контрольной группой животных, которые характеризовались достоверным снижением активности дегидрогеназ в ЦТК митохондрий головного мозга и миокарда, в частности: ПДГ на 20,5 % и 17 %, НАД-ИЦДГ на 15,5 % и 12,7 %, ОДГ на 16,3 % и 11,5 % и СДГ на 18,5 % и 12,3 % соответственно. Обнаруженный нами энергетический дефицит в головном мозге может явиться следствием токсического поражения эндотоксином структур ЦНС, которые в клинике принято называть как шоковый мозг [1] или гипоксическая энцефалопатия [2].

В литературе имеются сведения о том, что в условиях эндотоксемии в различных органах и системах организма наблюдается каскад биохимических, метаболических и ультраструктурных повреждений [2; 4]. В частности, наши данные согласуются с результатами работ других исследователей, которыми установлено, что при эндотоксиновом шоке в коре головного мозга происходит снижение метаболизма богатых энергией фосфатов (креатинфосфата и АТФ), уменьшение соотношений креатинфосфата/ креатина и АТФ/АДФ, отражающих интенсивность фосфорилирования, а так-

же усиление гликолиза, повышение лактата и соотношения лактат/пируват [6; 7]. Кроме того, есть сведения, что в промежуточный и поздний период ЭШ (5 ч до 3-х суток) в сердечной мышце крыс выявляются признаки внутриклеточной регенерации, в первую очередь следует отметить увеличение размера митохондрий, их гиперплазию, появление гранул гликогена, что указывает на кардио-депрессивный эффект и усиливающуюся дисфункцию сердца [4]. Известно также, что эндотоксин резко снижает (в 20 раз) концентрацию глюкозы, причем гипогликемический эффект зависит от дозы эндотоксина [1]. Кроме того, на наш взгляд, выявленные изменения интенсивности аэробного звена энергетического обмена в тканях в условиях эндотоксемии могут быть связаны также с опосредованными изменениями ультраструктуры митохондриальной мембраны и соответственно с конформационными перестройками мембраносвязанных ферментов цикла трикарбоновых кислот. Таким образом, обнаруженное в наших экспериментах выраженное угнетение энергообеспечения головного мозга и миокарда может являться следствием токсического поражения эндотоксином структур центральной нервной и сердечно-сосудистой систем.

Однако введение ЛПС *E. coli* животным, предварительно подвергавшимся 15-дневному курсу КТВ, приводило к нормализации активности ферментов ЦТК в больших полушариях головного мозга и сердечной мышце. Полученный факт можно рассматривать в пользу того, что курс иммерсионных контрастных температурных воздействий обладает способностью обеспечить поддержание энергетического гомеостаза в тканях крыс в условиях эндотоксемии.

Итак, 15-дневный курс иммерсионных контрастных температурных воздействий вызывал стимуляцию энергопродуцирующей функции митохондрий головного мозга и миокарда крыс. Введение животным липополисахарида *Escherichia coli* в токсичной дозе (0,5 мг/животное) вызывало угнетение активности ферментов ЦТК в больших полушариях головного мозга и миокарде. Предварительное проведение курса КТВ препятствовало возникновению митохондриального энергодефицита, вызванного введением бактериального эндотоксина.

Таким образом, установленный стимулирующий эффект иммерсионных контрастных температурных воздействий на энергетический гомеостаз головного мозга и миокарда у контрольных

животных и их нормализующий эффект в условиях эндотоксемии позволяет рекомендовать проведение курса КТВ в клинической практике в случаях, сопровождающихся возникновением энергетического дефицита.

Список литературы

1. Бардахчян Э. А., Харланова Н. Г. // Физиол. журн. – 1991. – Т. 37. – № 5. – С. 41–47.
2. Бардахчян Э. А., Харланова Н. Г., Ломов Ю. М. // Цитология и генетика. – 1997. – Т. 31. – № 6. – С. 11–15.
3. Сорокина Е. И., Ячменев Н. В., Гончарова О. И. // Вопр. курортол., физиотер. и леч. физ. культ. – 1994. – № 5. – С. 4–7.
4. Харланова, Н. Г. Закономерности биологического действия эндотоксина *E. coli* на ультраструктуру органов-мишеней: автореф. дис. ... докт. биол. наук / Н. Г. Харланова. – М., 2001.
5. *Ispahani P., Pearson N.J., Greenwood D.* // Quart. J. Med. – 1987. – Vol. 63. – № 241. – P. 427–440.
6. *Kolmel H. W., von Maravic M.* // Acta Neurol. Scand. – 1988. – Vol. 78. – № 1. – P. 6–9.
7. *Rietschel, E. T.* [et al.] // Rev. Infect. Dis. – 1997. – Vol. 9, suppl. 5. – P. 527–536.

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ НИТРО-L(D)-АРГИНИНА ПРИ ТЕПЛОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА КРЫС¹

Г. И. Якубовская, В. Б. Казакевич

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Гипертермические повреждения мозга обычно связывают с действием гипоксии и монооксида азота [1; 2; 7]. Монооксид азота, с одной стороны, является ингибитором клеточного дыхания на уровне электронтранспортной цепи митохондрий и индуктором цепных свободно-радикальных реакций, с другой – является цитопротекторной молекулой, способной перехватывать свободные радикалы. [3]. Имеющиеся в настоящее время данные о роли NO в нарушениях церебральной сосудистой регуляции при тепловом стрессе противоречивы. В ряде исследований защитные свойства проявляли как ингибитор индуцибельной NO-синтазы аминогуанидин (30 мкмоль/кг), так и предшественник монооксида азота

¹Работа выполнена при поддержке БРФФИ (проект № Б07К-041).

L-аргинин (в дозе 120 мг/кг). Аминогуанидин смягчал проявления сосудистой дисрегуляции, вызванные тепловым шоком: уменьшал интракраниальную гипертензию и артериальную гипотонию, церебральную ишемию и повреждения нейронов [4]. По другим данным предварительно введенный метиловый эфир нитро-L-аргинина (L-NAME, 1,5 мг/кг) и L-аргинин в дозе 60–120 мг/кг увеличивали смертность перегретых мышей, в то время как L-аргинин в дозе 8 мг/кг оказывал благоприятное влияние [5]. В других работах не было обнаружено заметного влияния аминогуанидина на устойчивость крыс к тепловому шоку, а L-NAME (ингибитор конститутивных изоформ) резко снижал толерантность животных к тепловому воздействию [2]. В свете приведенных фактов исследование способности других ингибиторов NO-синтаз повышать устойчивость организма к экстремальным тепловым воздействиям является актуальным. Весьма перспективным в этом отношении является N(ω)-нитро-L-аргинин (L-NNA), действующий в гораздо более низких концентрациях, чем аминогуанидин и L-NAME.

Целью данной работы является исследование нейропротекторных свойств ингибитора NO-синтазы L-NNA и его стереоизомера D-NNA при тепловом воздействии на крыс.

Материалы и методы. Крысам весом 250–290 г, находящимся под уретановым наркозом, вживляли позолоченные электроды во фронто-париетальную соматосенсорную кору согласно атласа Paxinos, Watson (1982). L(D)-NNA вводили внутривентрикулярно в дозе 10 мг/кг веса. Тепловое воздействие проводили, прогревая в суховоздушном термостате при 42 °С в течение 1 часа. Температуру тела контролировали ректально с помощью элетротермометра ТПЭМ-1. Регистрацию и обработку электрокортикограмм (ЭКОГ) производили с помощью программы Input. Производился спектральный анализ ЭКОГ с использованием алгоритма классического преобразования Фурье для вычисления показателей спектральной плотности мощности в следующих частотных диапазонах: Δ ритм – от 0,5 до 4 гц; θ – от 4 до 8 гц; α – от 8 до 12 гц; β – от 12 до 30 гц.

Результаты и обсуждение. В наших экспериментах контрольные крысы под уретановым наркозом при комнатной температуре имели пониженную температуру тела около 34 °С. Во время теплового воздействия ректальная температура животных повышалась до 42 °С и в течение 20 мин после воздействия сохранялась на повышенном уровне (42–39 °С). При этом наблюдалось стойкое

увеличение плотности мощности колебаний на 11–15 % во всех исследованных диапазонах ЭКоГ.

При инъекции L-NNA прослеживалась тенденция (хотя изменения были недостоверны) к увеличению электрической активности коры головного мозга крыс при нормотермии. Электрическая активность коры животных подвергнутых воздействию L-NNA после теплового воздействия не только не возрастала, но даже несколько снижалась. Так, дельта-, альфа- и бета-активность снижались в среднем на 2–3 %, а активность тета-ритма на 5 % по сравнению с нормотермическим контролем.

Инъекция D-NNA перед перегреванием приводила к следующим изменениям: электрическая активность коры быстро угасала и через 10–15 мин становилась у большинства животных необратимо изоэлектрической, т. е. крысы погибали. При комнатной температуре достоверные эффекты D-NNA не были выявлены.

Согласно данным, полученным *Canini et. al.* [1; 2] тепловой удар сопровождается ишемией мозга и значительным повышением уровня NO в нервной ткани. Весьма вероятно, что при этом NO играет роль важного патогенетического фактора. Именно с этих позиций можно объяснить обнаруженные нами токсические свойства D-NNA. Известно, что в присутствии восстанавливающих агентов (аскорбиновая кислота, восстановленный глутатион, NADH) ингибиторы NO-синтаз (в большинстве, это производные нитро-L-аргинина) становятся донорами NO [6]. Именно такие восстановленные условия создаются при гипертермии и недостатке кислорода в мозге. В этой связи интересно отметить, что окисленный субстрат гликолиза пируват, снижающий уровень NADH, но не лактат, препятствует развитию депрессии нейронной активности в слайсах гиппокампа при повышенной температуре [7]. Поскольку D-NNA, в отличие от L-NNA, совершенно не способен ингибировать NO-синтазу [8], возможно, поэтому он и оказался токсичным в нашем эксперименте, так как может являться фактором, способствующим повышению концентрации NO в мозге (или в других жизненно важных органах) при повышенной температуре. Сходный механизм действия, вероятно, характерен для широко применяемых в клинике органических нитратов, которые противопоказаны при повышенном внутричерепном давлении, а интракраниальная гипертензия является характерным следствием повышенной тепловой нагрузки на организм. Судя по показателям

электрокортикограмм, L-NNA при гипертермии действительно является протекторным препаратом, поскольку после его введения влияние температуры на электрическую активность мозга минимизируется и все животные в эксперименте сохраняли жизнеспособность.

Список литературы

1. *Canini F., Bourdon L., Cespuglio R.* // *Neurosci. Lett.* – 1997. – Vol. 231. – P. 67–70.
2. *Canini F., Buguet A., Bourdon L.* // *Neurosci. Lett.* – 2001. – Vol. 316. – P. 45–49.
3. *Chiueh C.* // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1999. – Vol. 890. – P. 301–311.
4. *Chang C., Lee C., Chen S., Lin M.* // *J. Pharmacol. Sci.* – 2004. – Vol. 95. – P. 56–64.
5. *Poduval T., Chatterjee S., Sainis K.* // *Int. J. Hyperthermia.* – 2003. – Vol. 19. – P. 35–44.
6. *Barnabe N., Marusak R., Hasinoff B.* // *Nitric Oxide.* – 2003. – Vol. 9. – P. 211–216.
7. *Takeya M., Hasuo H., Akasu T.* // *Kurume Med. J.* – 2003. – Vol. 50. – P. 27–34.
8. *Okamoto H., Meng W., Ma J.* [et al.] // *Anesthesiology.* – 1997. – Vol. 86. – P. 875–884.

ВОЗМОЖНОЕ УЧАСТИЕ ВЫЗВАННОГО НОРАДРЕНАЛИНОМ ПОТЕНЦИРОВАНИЯ НЕЙРОГЕННОЙ ВАЗОРЕАКТИВНОСТИ В МЕХАНИЗМАХ ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ

В. Н. Ярцев, О. В. Караченцева, Д. П. Дворецкий

Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

Важным элементом адаптации организма к холоду является уменьшение тепловыделения, реализуемое за счет как местных, так и центральных механизмов. В частности, известно, что при снижении температуры сокращение подкожных сосудов происходит в результате как повышения чувствительности гладкомышечных клеток к норадреналину, так и рефлекторного увеличения импульсации симпатических нервов [5]. Недавно нами было впервые показано, что норадреналин способен восстанавливать сниженную спонтанно или под действием ацидоза нейрогенную конструкцию сегмента изолированной хвостовой артерии молодых крыс [1]. В данном исследовании, выполненном на том же объекте, мы по-

пытались выяснить влияние снижения температуры на этот эффект.

Материалы и методы. Нейрогенная вазореактивность тестировалась с помощью стимуляции периваскулярных нервов электрическим полем (30 В, 3 мс в течение 3 с через каждые 3 мин) в изотонических условиях сокращения. Частота электростимуляции составляла 10 Гц – для получения субмаксимальной или 40 Гц – для получения максимальной вазоконстрикции, Сосудистый сегмент (длиной 1,2 мм) хвостовой артерии молодых крыс (возраст 4–5 недель) помещался на две вольфрамовые иглолочки миографа, одна из которых была соединена с датчиком для измерения натяжения стенки сосуда, а другая – с устройством для его растяжения. После адаптации сегмента в течение 30 мин в термостатированной (37 °С) проточной ванночке с бикарбонатным раствором Кребса он растягивался до величины натяжения, при которой наблюдался максимальный ответ на электростимуляцию. В первой серии экспериментов через 30 мин после растяжения сосуда температуру перфузионного раствора снижали до 25°С, и через 90 мин после растяжения вводили норадреналин, на фоне которого измеряли величину сокращения в ответ на электростимуляцию сосуда. Вторая серия экспериментов, поведившаяся при температуре 37 °С, служила контролем по времени. Норадреналин в концентрации от 0,03 до 10 мкМ вводился кумулятивно.

Результаты и обсуждение. При температуре 37 °С происходило отмеченное нами ранее спонтанное снижение величины вазоконстрикторной реакции, которое наблюдалось при обеих использованных нами частотах электростимуляции. Норадреналин в концентрации 0,03–0,10 мкМ вызывал восстановление этой реакции при частоте электростимуляции 10 Гц (рисунок А). Понижение температуры с 37 до 25 °С приводило к большему падению величины нейрогенного сокращения, вызванного электростимуляцией с частотой 10 Гц, тем не менее, норадреналин в концентрации 0,03–0,05 мкМ восстанавливал величину этого сокращения до того же значения, что и при температуре 37 °С. (рис. 1А). При частоте электростимуляции, равной 40 Гц, в условиях температуры 25 °С эффективность потенцирования вазоконстрикторной реакции норадреналином в концентрации 0,03–0,05 мкМ значительно превышала таковую в условиях температуры 37 °С (рис. Б). Следует отметить, что величина реакции на норадреналин во всех исполь-

зованных нами концентрациях была существенно больше при температуре 25 °С, чем при температуре 37 °С.

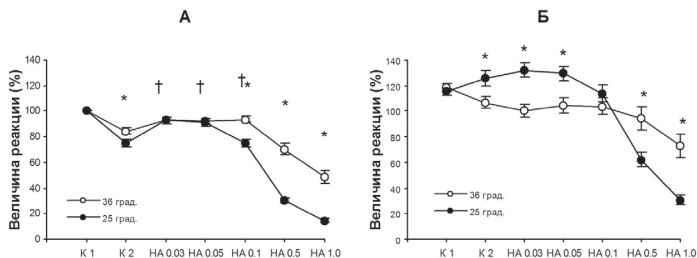


Рис. Реакция сегмента хвостовой артерии крысы на стимуляцию электрическим полем с частотой 10 Гц (А) или 40 Гц (Б) через 5–10 мин (К 1) и 90 мин (К 2) после растяжения этого сегмента в контроле, а также на фоне последующего действия норадреналина (НА) в концентрации 0.03–1,0 мкМ при температуре 37 и 25°С (n = 45 при каждой температуре)

По оси ординат – величина реакции по сравнению с ее величиной через 5–10 мин после растяжения сегмента при частоте электростимуляции, равной 10 Гц, %. Достоверность отличия: * $p < 0,05$, по непарному t-тесту при сравнении величины реакции при температуре 37°С с ее величиной при температуре 25 °С; † $p < 0,05$ по парному t-тесту при сравнении с K2 (для температуры 37°С).

Нами было показано угнетающее действие сниженной температуры на нейрогенную вазоконстрикцию хвостовой артерии крысы, вызванную электростимуляцией с частотой 10 Гц, что согласуется с имеющимися в литературе данными о том, что понижение температуры с 37 до 30 °С вызывает уменьшение эффективности нейрогенной субмаксимальной стимуляции другого сосуда, также принимающего участие в терморегуляции центральной ушной артерии кролика [2]. Несмотря на более значительное падение величины сократительной реакции при температуре 25 °С норадреналин в концентрации 0,03–0,05 мкМ восстанавливал эту реакцию до той же величины, что и при температуре 37 °С. Удивительным оказалось повышение максимального ответа на электростимуляцию с частотой 40 Гц при температуре 25 °С. Однако и в этом случае норадреналин потенцировал нейрогенную вазоконстрикцию существенно больше при сниженной температуре. По имеющимся литературным данным, при действии холода концентрация норадреналина в плазме крови крыс может увеличиваться в 6 раз, до-

стигая значения примерно 0,01 мкМ [4], что близко к наименьшей концентрации этого гормона, оказывавшей эффективное воздействие в наших экспериментах. Так как хвостовая артерия у крыс принимает непосредственное участие в терморегуляции, обусловленное значительным изменением теплоотдачи в результате изменения диаметра данного сосуда [3], то можно предположить, что обнаруженный нами феномен усиления потенцирующего действия норадреналина на нейрогенную вазоконстрикцию может иметь значение для терморегуляции организма при адаптации к холоду. То есть норадреналин, концентрация которого увеличивается при холодовом стрессе, в результате своего потенцирующего действия на нейрогенный тонус кожных сосудов компенсирует его уменьшение, вызванное понижением температуры.

Список литературы

1. Ярцев В. Н., Караченцева О. В., Дворецкий Д. П. // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2004. – Т. 90. – № 11. – С. 1363–1369.
2. Garcia-Villalon, A. L. [et al.] // Pflugers Arch. – 2000. – Vol. 440. № 4. – P. 548–555.
3. O'Leary D. S., Johnson J. M., Taylor W. F. // J. Appl. Physiol. – 1985. – Vol. 59. – № 5. – P. 1533–1538.
4. Pacak, K. [et al.] // Am. J. Physiol. 1998. – Vol. 275. – № 4. – P. R1247–R1255.
5. Vanhoutte, P. M. // Handbook of Physiology. The Cardiovascular System. Vascular Smooth Muscle. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc. – 1980, Sect. 2. – Vol. II. – Chapt. 16. – P. 443–474.

DEVELOPMENT OF CENTRAL NERVOUS THERMOREGULATORY MECHANISMS IN BIRDS: A REVIEW

B. Tzschentke

Institute of Biology, Humboldt-University of Berlin, Berlin, Germany

Development of hypothalamic neuronal thermosensitivity

Just as peripheral mechanisms of thermoregulation, central nervous thermoregulatory mechanisms are developed early and might show the same fundamental characteristics in the prenatal condition as experienced in the postnatal period (Tzschentke, 2007). During the course of investigation in Muscovy duck embryos thermosensitive neurons were found in the preoptic area of the anterior hypothalamus (PO/AH) on days 22 and 23 of incubation, which show characteristics

similar to post-hatching (Tzschentke and Basta, 2000), growing (own experiments, unpublished) and adult birds (Nakashima *et al.* 1987) as well as mammals (Schmid and Pierau, 1993).

Proportion of temperature sensitive and –insensitive neurons

From day 28 of incubation until hatching the proportion of cold sensitive (CS), warm sensitive (WS) and temperature insensitive (TI) neurones in relation to all neurones investigated was very constant and not significantly different from that in hatchlings (Tzschentke and Basta, 2000, Tzschentke *et al.*, 2004). In contrast to the growing and adult ducks, the neuronal hypothalamic thermosensitivity in embryos and ducklings during the first days of post-hatching is characterised by a higher neuronal cold sensitivity. In this species, a qualitative change occurs between days 5 and 10 in the neuronal thermosensitivity of the PO/AH from the ‘juvenile’ to the ‘adult’ type (Fig. 1 A) (Tzschentke and Basta, 2000), which is characterised by a high warm sensitivity and a low cold sensitivity (Nakashima *et al.*, 1987). In our further investigations, carried out 2002 together with Katsiaryna Melianchuk from the Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, we could find, that in Muscovy ducks this change continued until day 30.

In chickens a similar developmental pattern of the neuronal hypothalamic thermosensitivity was found (Sallagundala *et al.*, 2006). But the first stage of the development of neuronal hypothalamic thermosensitivity, which is characterised by high and as well increasing neuronal cold sensitivity, occurs during a later developmental period. The increase in the percentage of CS neurones continues until the age of day 20 post hatching. There is also a shift from cold-sensitivity towards warm sensitivity in the second stage of development in neuronal hypothalamic thermosensitivity, which has been indicated by the results of the 30 days old birds (Fig. 1B).

When we compare the results from chicken with the Muscovy ducks, we find a shift of hypothalamic thermosensitivity, which represents species specificity and is obviously related to the different developmental patterns in both species. Altogether, *Galliformes* during early postnatal development are characterised by a lower precocial status than *Anseriformes* (McNabb and Olson, 1996).

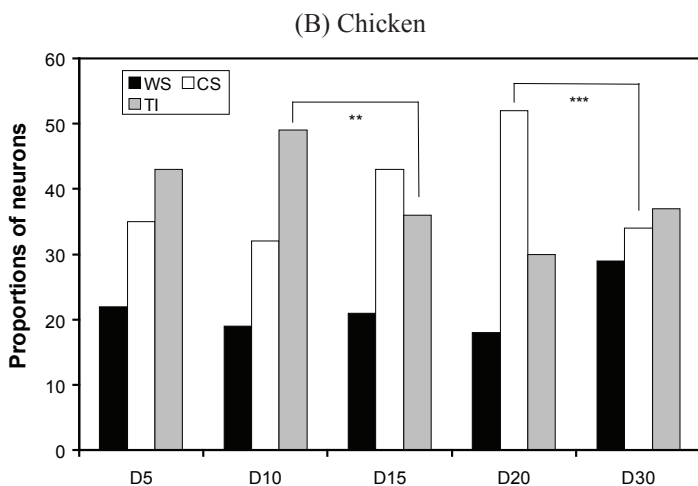
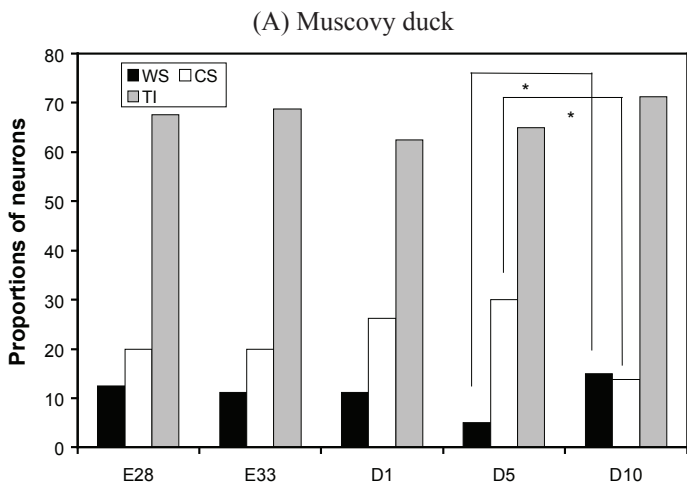


Fig. 1. Influence of age (E=embryonic day, D=day post-hatching) on proportion of warm-, cold- and temperature-insensitive neurons in relation to all neurons investigated in their respective age groups in the preoptic area of the anterior hypothalamus of chicken and Muscovy ducks (data from Muscovy ducks published by Tzschenke and Basta, 2000, from the chicken by Sallagundala et al., 2006). Asterisks represent significance at the level of * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Inherently cold sensitive neurons

The high hypothalamic neuronal cold sensitivity during the prenatal and early postnatal development in birds suggests a possibly thermoregulatory role of hypothalamic CS neurons. Inherently CS neurons, which retain their thermosensitivity during synaptic blockade, may function as central thermoreceptors (Dean and Boulant, 1989).

In mammals and adult birds, within the low number of hypothalamic CS neurons single inherent CS neurons were found in brain slices during blockade with Ca^{++} -free/high- Mg^{++} artificial cerebrospinal fluid (ACSF) using extracellular recordings (Nakashima *et al.*, 1987). In another study using Ca^{++} -imaging and extracellular cell-attached patch recording, primary CS neurons with low threshold temperature were found in PO/AH of rats (Abe *et al.*, 2003). To identify inherently CS neurons in the hypothalamus of juvenile birds first experiments were carried out 1998 in Muscovy ducklings together with Tatiana Petrushuk and Vladimir Vasilenko from the Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (Vasilenko *et al.*, 1999).

This previous experiments showed that inherently CS neurons seem to exist in the bird's hypothalamic neuronal network. It could be verified in recent experiments in chickens (Sallagundala *et al.*, 2006). In this study 12 CS neurons in the PO/AH of 10- to 20-days-old chickens were investigated under synaptic blockade with Ca^{++} -free ACSF. Within these neurons 3 increase the firing rate and one of them strongly, under cold load during synaptic blockade and show an inherently cold sensitivity (Fig. 2, Sallagundala *et al.*, 2006).

Superfusion with Ca^{++} -free ACSF induced an inhibition of the neuron. During sinusoidal temperature stimulation under synaptic blockade the neuron increased activity at the lowest temperatures around 37°C (TC: $-1.83 \text{ imp/s}/^{\circ}\text{C}$). After change to the control ACSF the neuron starts to recover. However, it is doubtful if Ca^{++} free ACSF removes all influences of presynaptic sensory neurons, where Ca^{++} - independent but voltage-dependent secretion occurs (Parnas *et al.*, 2000; Zhang and Zhou, 2002, Yang *et al.*, 2005). Additional investigations with specific receptor blockade are necessary for further identifications of primary CS neurons in juvenile birds.

Temperature guardian neurons

Besides the typical CS and WS neurons a new type of neuronal thermosensitivity was found in the PO/AH of 10-days-old Muscovy ducklings (Basta *et al.*, 1997).

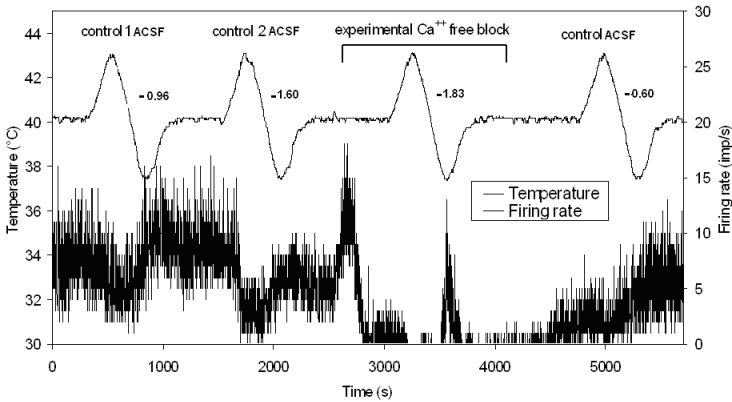


Fig. 2. Example of cold sensitive hypothalamic neuron under synaptic blockade with Ca^{++} -free ACSF. The calculated thermal coefficient (TC) for a given temperature stimulus is indicated at the responses. Superfusion with Ca^{++} -free ACSF induced an inhibition of the neuron. During sinusoidal temperature stimulation under synaptic blockade the neuron increased activity at the lowest temperatures around 37°C (TC: $-1.83 \text{ imp/s}^{\circ}\text{C}$). After change to the control ACSF the neuron starts to recover (Sallagundala et al., 2006)

We called this type of neurons, which are temperature sensitive over a small temperature range not more than 1°C during an applied sinusoidal temperature range ‘temperature guardian neurones’. Such neurones are exclusively sensitive to extreme low ($35,9/36,1^{\circ}\text{C}$) or high ($42,8/42,5^{\circ}\text{C}$) brain temperatures and may activate more effective thermoregulatory mechanisms if the normal regulatory range is exceeded. This kind of neurons was also found in Muscovy duck embryos on day 28 of incubation (Fig. 3, Tzschentke and Basta, 2000).

In comparison to birds post-hatching, in embryos a shift of the temperatures at which the ‘temperature guardian neurones’ were sensitive was found. This shift has been explained where the high brain temperature threshold was about 2°C lower ($40,4/40,7$) and low brain temperature threshold was about 2°C higher ($37,7/37,9^{\circ}\text{C}$) than in ducklings. The high brain temperature threshold of $40,4/40,7^{\circ}\text{C}$ for activation of ‘temperature guardian neurones’ in Muscovy duck embryos corresponds with the threshold at which the second phase of panting starts (body core temperatures above $40,6^{\circ}\text{C}$, Nichelmann and Tzschentke, 1999).

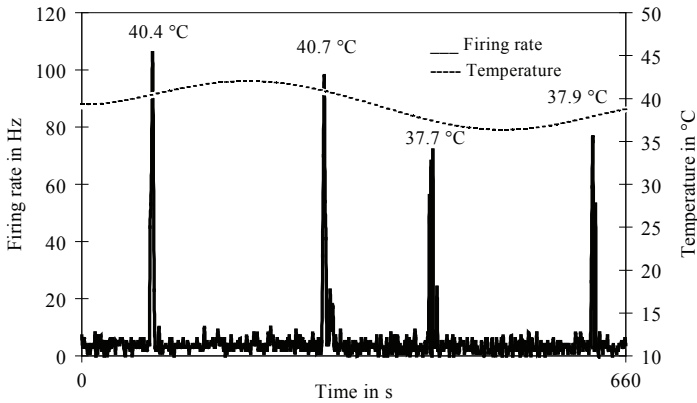


Fig 3. Temperature dependent reaction of a PO/AH 'temperature guardian neuron' in a Muscovy duck embryo on day 28 of incubation (Tzschentke and Basta, 2000)

Modulation of hypothalamic neuronal thermosensitivity by neuropeptides and neurotransmitters

Bombesin

Bombesin is one of the most investigated neuropeptides known to influence thermoregulation in ectothermic and endothermic vertebrates. In brain slices of adult rats, bombesin application enhanced the warm sensitivity of the PO/AH, by an increase in the thermal coefficient (TC) of WS and TI neurones (Schmid *et al.*, 1993). The majority of TI neurones were converted into WS neurones.

In Muscovy duck embryos as well as in ducklings during the first 10 days of life (Fig. 4, Tzschentke *et al.*, 2000) and possibly in adult birds (Kanosue and Schmid, unpublished results, cited by Schmid *et al.*, 1993) thermosensitivity of PO/AH neurones can be modulated by the neuropeptide bombesin. The first experiments on the modulatory action of bombesin on the hypothalamic neuronal activity in bird's brain slices were carried out 1996 in Muscovy ducklings together with Alexander V. Gourine from the Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus. In contrast to mammals, in juvenile ducklings the TC increased and decreased in the same number of TI-neurones and only a few neurones were transformed after bombesin application into another class of sensitivity (Tzschentke *et al.*, 2000).

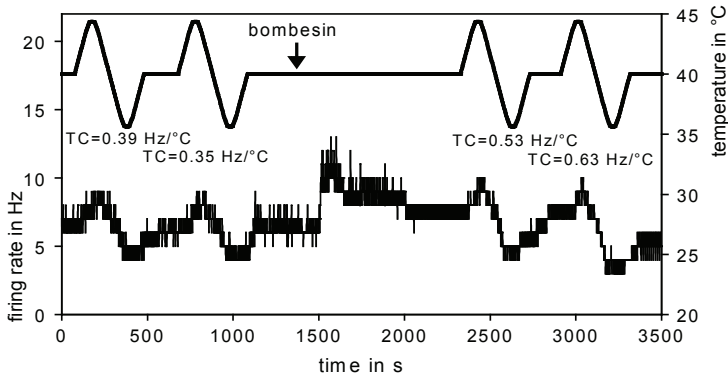


Fig. 4. Influence of bombesin application on activity and thermal coefficient (TC) of a temperature insensitive PO/AH neuron in a 10-days-old Muscovy duckling (Tzschentke *et al.*, 2000). Bombesin application induced an increase in the TC and, finally, the neuron changed from temperature insensitivity into warm sensitivity

This result could be related to the observation that during the early development of body function (exogenous or endogenous) environmental manipulations first lead to uncoordinated and almost nonadaptive reactions of the respiratory mechanisms (Tzschentke, 2007).

GABA

In mammals γ -Aminobutyric acid (GABA) is the numerically dominant neurotransmitter in the hypothalamus. GABA receptors are functional very early in the hypothalamic development and are expressed widely in the hypothalamus. GABAergic terminals and receptors are present in the PO/AH (Decavel and Van den Pol, 1990). Local microinjection studies have shown that GABA, its agonist, and its antagonist in this area may modulate body temperature (Yakimova and Ovtcharov, 1989).

In birds immunohistochemical and autoradiographic studies in pigeons suggest that GABA plays a role as neurotransmitter in nearly all fore- and mid-brain regions. Mostly, distribution of GABAergic binding sites closely resembles the patterns found in mammals (Veenman and Reiner, 1994; Veenman *et al.*, 1994). This is supported by a recent study on distribution and cellular localization of GAD65 mRNA, which is co-expressed in GABAergic neurons in the chicken forebrain and midbrain (Sun *et al.*, 2005). These results indicate a conservative evolution of GABAergic mechanisms among amniotes.

Our pioneering experiments on the influence of GABAergic substances on the hypothalamic neuronal activity in bird's brain slices were carried out in co-operation with Krassimira Yakimova, Professor for Pharmacology of the Medical University, Sofia, Bulgaria, (Yakimova *et al.*, 2005, Sallagundala *et al.*, 2007). Most effects of GABA, mediated via the GABA_A- and GABA_B-receptors on thermosensitive and -insensitive PO/AH neurons in the chicks are similar with that described in mammals. Also these results indicate that GABAergic neuronal mechanisms are highly conserved during the evolution of the amniotes. Main difference in respect of the GABA_B-receptor mediated change in hypothalamic neuronal temperature sensitivity. In chicken this action was restricted to cold-sensitive neurons (Fig. 5), whereas in mammals this effect was only seen in the warm-sensitive neurons. But obviously, this result is age related.

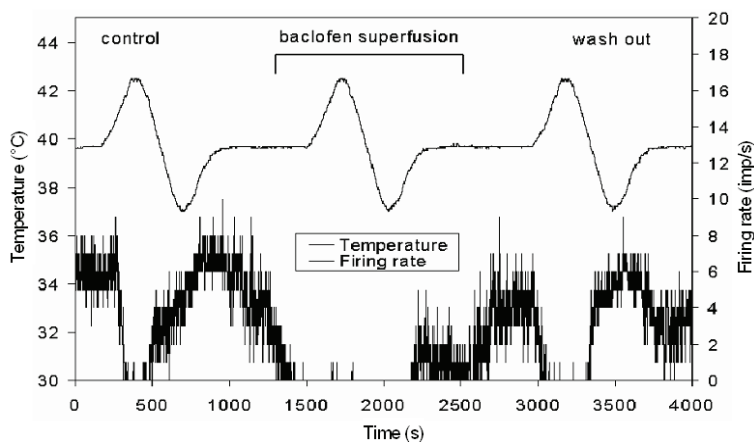


Fig. 5. Effect of GABA(B) receptor agonist baclofen on a cold-sensitive neuron in the PO/AH in chicken: experimental protocol of the neuronal activity and temperature recorded close to the slice (from Sallagundala *et al.*, 2006)

Juvenile birds exhibit predominantly neuronal cold sensitivity in nature. In this respect the present results on the specific modulatory action of GABA_B agonist baclofen only in cold sensitive neurons seems to be restricted to the early ontogeny in birds. We could arrive at this conclusion only after making a comprehensive investigation of GABA_A-receptor and GABA_B-receptor agonists and as well as their antagonists in chicken hypothalamic neurons. Thus it has been duly found that

GABA_A-receptor agonist does not play a role in altering the TC values, which was specific to cold-sensitive neurons.

Nitric oxide(NO)

NO is prominently involved in the regulation of various physiological functions like thermoregulation. In the brain it acts as a messenger molecule in differentiation, synaptic plasticity and neurotoxicity. NO is produced by activation of nitric oxide synthase (NOS). The marker for NOS-positive neurons is nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase (NADPH-d). In our co-operation with Valery Dunai from the Belarusian State University in Minsk we investigated the development of neuronal NOergic mechanisms of the anterior hypothalamus in Muscovy duck embryos and its influence of acute temperature stimulation (34 °C or 39 °C over 3 h). Neuronal NO-synthase (nNOS) was detected using histochemistry. Without temperature stimulation first NOS positive hypothalamic neurons could be detected in Muscovy duck embryos on day 23 of incubation. Acute cold load but not acute warm load seems to stimulate nNOS activation. Serial sectional studies have established the presence of nNOS positive neurons in the anterior hypothalamus in this group already on day 20 of incubation (Dunai and Tzschentke, 2005).

Also in older age groups, cold stimulation increases the activation of nNOS in the hypothalamus, which could be lead to the ‘training effect’ of prenatal environmental stimulation on the development of body functions (Nichelmann and Tzschentke, 2002).

Modulation of hypothalamic neuronal thermosensitivity by epigenetic temperature adaptation

During ‘critical period’ in the course of the perinatal development environmental influences may have a strong influence on the determination of the setpoint of physiological systems. It can be realized by both neural ‘imprinting’ at the microstructural level (*e.g.*, in terms of synaptic plasticity) as well as ‘genomic imprinting’ by lasting environment-induced modification of the genome (Tzschentke and Plegemann, 2006). For an ‘imprinting’ like that of the thermoregulatory system the term ‘epigenetic (temperature) adaptation’ was introduced (Nichelmann *et al.*, 1994, 1999; Tzschentke and Basta, 2002). In precocial birds epigenetic temperature adaptation can be induced by changes in incubation temperature. Altogether, prenatal cold experience induces postnatal cold adaptation and prenatal warm experience induces postnatal warm adaptation. Changes could be shown for peripheral as

well as central mechanisms of thermoregulation (Tzschentke *et al.*, 2004).

Changes in neuronal hypothalamic thermosensitivity

In Muscovy ducklings during the first 10 days of life changes in incubation temperature induced a clear alteration of hypothalamic thermosensitivity. On the 10th day of post-hatching prenatal cold load elevated the neuronal hypothalamic warm-sensitivity where an increased proportion of warm and a reduced proportion of cold sensitive neurones in comparison with the control group were observed (Fig. 6). Prenatal warm load induced the opposite effect (Tzschentke and Basta, 2002). This change in neuronal thermosensitivity of the PO/AH may be the result of an alteration in the temperature dependent activity of PO/AH neurones in the temperature range investigated ($40 \pm 3^\circ\text{C}$), possibly by downward or upward shift of the threshold temperature for the temperature sensitivity of the respective group of thermosensitive neurones (CS, WS or TI neurones).

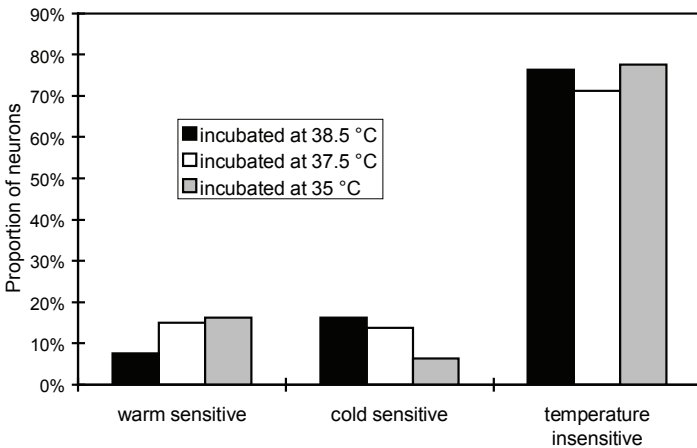


Fig. 6. Proportion of warm-, cold- and temperature insensitive hypothalamic neurons in relation to all neurons investigated ($n = 80$ neurons for each experimental group) of 10-days Muscovy ducklings incubated at 35, 37.5 or 38.5°C during the last days of incubation (from Tzschentke and Basta, 2002)

Changes in c-fos expression of hypothalamic neurons

In cellular models of synaptic plasticity, activation of immediate early genes like c-fos mediates the rapid up-regulation of de novo RNA and protein synthesis (Lanahan and Worley, 1998). In our experiments

(Janke and Tzschentke, 2006), we used c-fos as stress marker to detect acute heat stress in chicken embryos, which were on the last day of incubation adapted to different incubation temperatures (34,5, 37,5, and 38,5 °C). Heat stress evoked c-fos expression in the POAH in all embryos but not in the unstressed control. Even the differences between the groups were not significant; trends show that temperature-experienced embryos have a lower c-fos expression than in the control after acute heat stress (Fig. 7). Its interesting that also prenatal cold load decreased c-fos expression after acute heat stress. It could be related to the observation that during the early development of body function environmental manipulations first lead to uncoordinated and almost nonadaptive reactions of the respective mechanisms (Tzschentke, 2007). The large variability of c-fos expression among individual embryos might be an expression of the immaturity of the brain functions of the embryo compared to that of an adult bird.

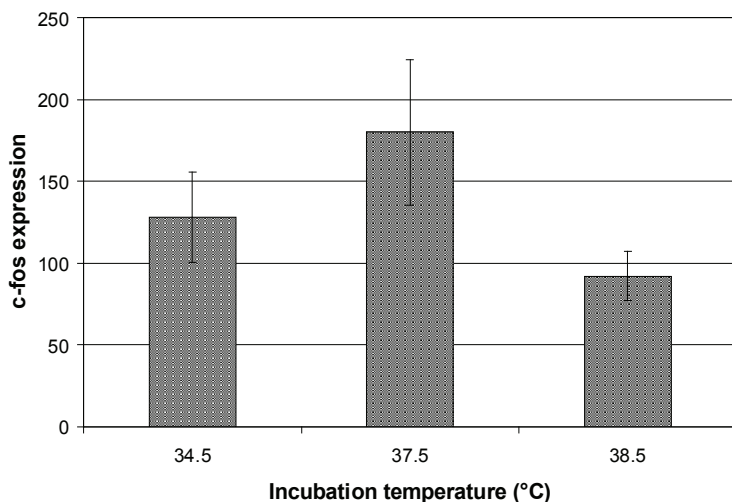


Fig. 7. Neuronal c-fos expression in the PO/AH of different incubated chicken embryos on the last day of incubation after 90 min of heat stress (42.4°C) (data published by Janke and Tzschentke, 2006)

To test the long-term effect of manipulations in incubation temperature on the development of the hypothalamic network c-fos expression was investigated in 8 weeks old chicken, which were incubated at low (34,5), normal (37,5) and high (39,5) incubation temperature during the last 4 days of incubation. At an age of 8 weeks post-hatching c-fos expression was detected after 90 min heat load of 42,5 °C using immunohistochemistry in brain slices. Significant differences ($p < 0,05$) in neuronal hypothalamic expression of the immediate early gene c-fos were found between the cold- and warm incubated group.

Summary

During the late prenatal ontogeny in birds, prerequisites for central nervous control of temperature regulation are already developed. Their maturation occurs during the first weeks of post-hatching. During early ontogeny neuronal hypothalamic thermosensitivity, for instance, is characterised by a higher neuronal cold sensitivity. During later development neuronal thermosensitivity of the PO/AH changed from the 'juvenile' to the 'adult' type, which is similar to the adult mammals characterised by a high warm sensitivity and a low cold sensitivity. The time-window of the shift from the 'juvenile' to the 'adult' type of neuronal hypothalamic thermosensitivity depends on the bird species investigated: in the Muscovy duck it occurs between days 5 and 10 and in the chicken between days 20 and 30 of post-hatching.

For early consolidation and maturation of body functions, sensory inputs are necessary. Environmental influences (*e.g.* incubation temperature) can stimulate this process ('training effect'). On environmental stimulation body functions show a typical reaction pattern. This is characterized by uncoordinated and nonadaptive reactions. It seems not to be important for the organism that a distinct adaptable reaction on various environmental influences occurs, but rather that any reaction occurs seems to be important for the adaptability during later life. It could be shown for the neuronal activity after bombesin application as well as acute heat stress during the perinatal period.

Further, during 'critical periods' in the course of the perinatal ontogeny a long-lasting modification in the development of central nervous mechanisms of thermoregulation can be induced by changes in incubation temperature (epigenetic temperature adaptation).

References

1. Abe J., Okazawa M., Adachi R. et al. // *Neurosc. Letters*. – 2003. – Vol. 342. – P. 29–32.
2. Basta D., Tzschentke B., Nichelmann M. // *Brain Res.* – 1997. – Vol. 767. – P. 361–362.
3. Dean J. B., Boulant J. A. // *Am. J. Physiol.* – 1989. – Vol. 257. – P. R65–R73.
4. Decavel C., Van den Pol A. N. // *J. Comp. Neurol.* – 1990. – Vol. 302. – P. 1019–1037.
5. Dunai V. I., Tzschentke B. // *Proceedings of the International Conference on Social, Medical and Ecological Basis of Illness.* – Minsk, 2005. – P. 125–128.
6. Janke O., Tzschentke B. // *New insights into fundamental physiology and peri-natal adaptation of domestic fowl.* / Ed. S. Yahav and B. Tzschentke. – 2006. – P. 109–115.
7. Lanahan A., Worley P. // *Neurobiol. Learn. Mem.* – 1998. – Vol. 70. – P. 37–43.
8. McNabb F. M. A., Olson J. M. // *Poult. Avian Biol. Rev.* – 1996. – Vol. 7. – P. 111–125.
9. Nakashima T., Pierau Fr.-K., Simon E. and Hori T. // *Pfluegers Arch.* – 1987. – Vol. 409. – P. 236–243.
10. Nichelmann M., Tzschentke B. // *Ornis Fennica.* – 1999. – Vol. 76. – P. 177–187.
11. Nichelmann M., Tzschentke B. // *Comp. Biochem. Physiol. A.* – 2002. – Vol. 131. – P. 751–763.
12. Nichelmann M. [et al.] // *Thermal Balance in Health and Disease. Advances in Pharmacological Science* / Ed. E. Zeisberger, E. Schönbaum, P. Lomax. Birkhäuser Verlag, Basel. – P. 167–173.
13. Nichelmann M., Höchel J., Tzschentke B. // *Comp. Biochem. Physiol. A.* – 1999. – Vol. 124. – P. 429–437.
14. Parnas H., Segel L., Dudel J. and Parnas I. // *Trends Neurosc.* – 2000. – Vol. 23. – P. 60–68.
15. Sallagundala N., Yakimova K. and Tzschentke B. // *New insights into fundamental physiology and perinatal adaptation of domestic fowl.* Ed. S. Yahav and B. Tzschentke. – 2006. – Nottingham University Press. – P. 99–108.
16. Sallagundala N., Yakimova K., Tzschentke B. // *Comp. Biochem. Physiol. A.* – 2007. – Vol. 148. – P. 374–381.
17. Schmid H. A., Pierau Fr.-K. // *Am. J. Physiol.* – 1993. – Vol. 264. – P. R440–R448.
18. Schmid H. A., Janský L. Pierau, Fr.-K. // *Am. J. Physiol.* – 1993. – Vol. 264. – P. R449–R455.
19. Sun Z. [et al.] // *J. Chem. Neuroanatomy.* – 2005. – Vol. 29. – P. 265–281.
20. Tzschentke B. // *Poult. Sci.* 2007. Vol. 86. P. 1025–1036.
21. Tzschentke B., Basta D. // *J. Therm. Biol.* – 2000. – Vol. 25. – P. 119–123.
22. Tzschentke B., Basta D. // *Comp. Biochem. Physiol. A.* – 2002. – Vol. 131. – P. 825–832.
23. Tzschentke B., Plagemann A. // *World's Poult. Sci. J.* – 2006. – Vol. 62. – P. 626–637.
24. Tzschentke B., Basta D., Gourine A. V. and Gourine V. N. // *Reg. Peptides.* – 2000. – Vol. 88. – P. 33–39.
25. Tzschentke B., Basta D., Janke O. and Maier I. // *Avian Poult. Biol. Rev.* – 2004. Vol. 15. – P. 107–118.

26. *Vasilenko V. Y., Petruchuk T. A., Tzschentke B.* // Recent Advances in Thermal Biology. / Ed. V.N. Gourine. – Minsk, 1999. – P. 122–126.
27. *Veenman C. L., Reiner A.* // J. Comp. Neurol. – 1994. – Vol. 339. – P. 209–250.
28. *Veenman C. L., Albin R. L., Richfield E. K. and Reiner A.* // J. Comp. Neurol. – 1994. – Vol. 344. – P. 161–189.
29. *Yakimova K. S., Ovtcharov R.* // Acta Physiol. Pharm. Bulg. – 1989. – Vol. 15. – P. 50–54.
30. *Yakimova K., Sallagundla N., Tzschentke B.* // Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. – 2005. – Vol. 27. – P. 401–404.
31. *Yang H., Zhang C., Zheng H.* [et al.] // Eur. Biophys. J. – 2005. – Vol. 34. – P. 1007–1016.
32. *Zhang C., Zhou Z.* // Nature Neurosc. – 2002. – Vol. 5. – P. 435–430.

Раздел третий

СИСТЕМНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИЙ ОРГАНИЗМА В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Нарушения внутрисистемной интеграции вследствие отклонений в деятельности растормаживающих механизмов и контролируемых ими метаболических процессов в высших автономных центрах могут явиться причиной значительных нарушений гомеостаза...

Проблема нарушений интегративных процессов в стволе мозга является актуальной проблемой нейрофизиологии и нейропатологии и требует всестороннего и глубокого изучения.

В. Н. Гурин



**Редакторы раздела: профессор В. Н. Калюнов,
доктор биологических наук А. Г. Чумак**

СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЕРДЦА И КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ В ПОСТРАДИАЦИОННЫЙ ПЕРИОД

А. Н. Антоненко^{1,2}, Л. М. Лобанок^{1,3}

¹Институт радиобиологии НАН Беларуси, Гомель, Беларусь

²Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

³Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь

Выполненные к настоящему времени исследования указывают на изменение механизмов регуляции функционального состояния сердца и сосудов при действии на организм ионизирующих излучений [1; 2]. Для нормальной деятельности сердца необходим непрерывный и достаточный кровоток. Если вазоконстрикторные механизмы преобладают над вазодилаторными, то наступает коронарospазм, что нарушает трофику миокарда и ведет к развитию ишемической болезни органа. Известны сосудосуживающие эффекты серотонина, его способность взаимодействовать с эндотелием сосудов и оказывать влияние на сократимость кардиомиоцитов [3]. Исходя из вышеизложенного, представляется актуальным изучить особенности серотонинергической регуляции функционального состояния сердца и коронарных сосудов после пролонгированного воздействия на организм ионизирующих излучений, чему и посвящена настоящая работа.

Материалы и методы. Эксперименты выполняли на белых беспородных крысах-самках массой 200–250 г, подвергшихся внешнему пролонгированному воздействию γ -излучения на установке «Гаммарид-190/120» в дозе 1,0 Гр при мощности дозы $2,8 \times 10^{-7}$ Гр/с. Животных брали в эксперимент на 3-и, 10-е, 30-е и 90-е сутки после окончания облучения.

Крыс наркотизировали тиопентал-натрием (80 мг/кг). Изолированное сердце перфузировали по Лангендорфу при температуре 37 °С раствором Кребса-Хензелейта, который насыщали кислородом (pO_2 составляло 600 ± 50 мм рт. ст.). Давление раствора в аорте (60 мм рт. ст.) поддерживали на постоянном уровне с помощью специальной системы. Сердце сокращалось при функционировании собственного водителя ритма.

Биомеханическую активность его регистрировали с помощью латексного баллончика, введенного в левый желудочек, биомонитора БМТ 501 (RFT, Германия) и самописца Н3021-3 (Россия). Измеряли и анализировали частоту сердечных сокращений (ЧСС, сокр./мин), максимальное систолическое давление в левом желудочке (P_{\max} , мм рт. ст.), максимальную скорость его нарастания ($+dP/dt_{\max}$, мм рт. ст./с) и падения ($-dP/dt_{\max}$, мм рт. ст./с), а также объемную скорость коронарного потока (ОСКП, мл/мин). Для изучения механизмов регуляции использовали серотонин (5-НТ, SIGMA, США) в концентрациях 10^{-8} – 10^{-6} М. Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Серотонин не вызывал изменений ЧСС контрольных животных. Параметры инотропной функции сердца (P_{\max} , $+dP/dt_{\max}$ и $-dP/dt_{\max}$) незначительно возрастали при 10^{-8} – 10^{-7} М серотонина в перфузионном растворе. ОСКП в ответ на действие агониста уменьшалась и величина максимального эффекта составила 15 % ($P < 0,05$; рис.).

Положительная инотропная реакция миокарда на серотонин, по всей видимости, связана с увеличением Ca^{2+} -тока и концентрации ионов Ca^{2+} внутри кардиомиоцитов. Известно, что в сарколемме находятся 5-НТ₄-серотонинергические рецепторы, при взаимодействии серотонина с которыми через G_s-белок осуществляется активация аденилатциклазы. Следствием того является синтез цАМФ с последующей стимуляцией цАМФ-зависимых протеинкиназ, участвующих в фосфорилировании специфических белков Ca^{2+} -каналов, в результате чего внутриклеточный уровень ионов Ca^{2+} возрастает [4].

Уменьшение объемной скорости коронарного потока при действии серотонина обусловлено повышением тонуса сосудов сердца. Вазоконстрикция является следствием стимуляции гладкомышечных 5-НТ₂-рецепторов [5] и определяется, в основном, поступлением Ca^{2+} из внеклеточной среды в клетку через кальциевые каналы. Серотонин может вызывать и вазодилатацию, которая осуществляется, во-первых, за счет выделения эндотелиальными клетками простаглицина, во-вторых, через стимуляцию эндотелиальных 5-НТ₁-рецепторов и высвобождение NO [6].

Поэтому сосудистый эффект серотонина определяется как сумма констрикторной и эндотелий-зависимой дилататорной реакций гладкомышечных клеток (ГМК). Очевидно, в коронарных сосудах

крыс констрикторный компонент реакций ГМК при действии серотонина превышает эндотелий-зависимый дилататорный.

Пролонгированное воздействие γ -излучения в дозе 1,0 Гр не оказывало существенного влияния на основные биомеханические параметры изолированного сердца, однако его функциональный ответ на серотонинергическую стимуляцию после облучения имел особенности.

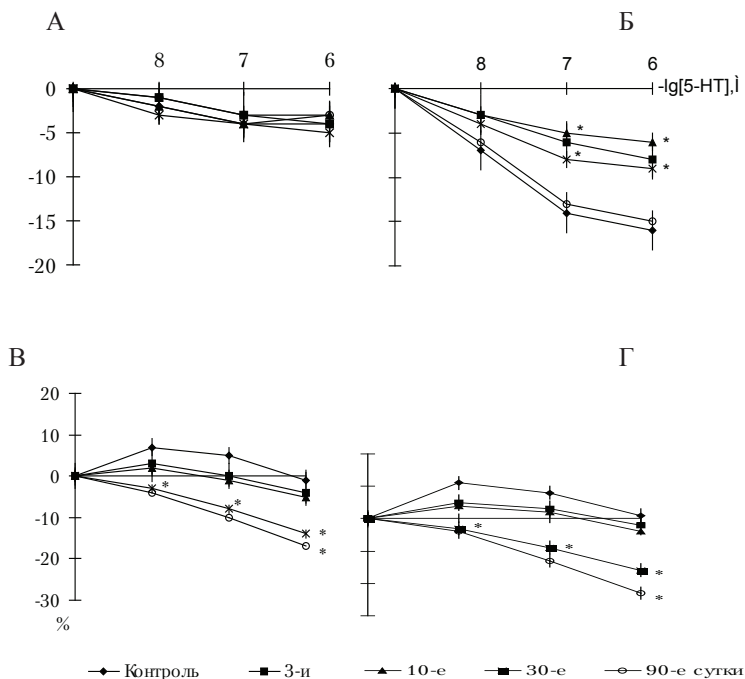


Рис. Динамика ЧСС (А), ОСКП (Б), P_{\max} (В) и $+dP/dt_{\max}$ (Г) в изолированном сердце крыс в разные сроки после пролонгированного воздействия γ -излучения в дозе 1,0 Гр при действии серотонина (5-НТ).

* – различия достоверны по отношению к контролю при $P < 0,05$

В частности, если ЧСС при действии серотонина у облученных животных не отличалась от таковой в контроле, то показатели сократительной функции сердца (P_{\max} , $+dP/dt_{\max}$ и $-dP/dt_{\max}$) при этом дозозависимо уменьшались. Отрицательный инотропный ответ наблюдался на 30-е и 90-е сутки пострadiационного периода, достигал наибольшего значения при концентрации аго-

ниста 10^{-6} М и составлял, в среднем, 20 % ($P < 0,05$). У облученных животных серотонин вызывал снижение ОСКП, но в меньшей степени, чем у необлученных. Различия в изменении величины коронарного потока отмечались на 3-и, 10-е и 30-е сутки после облучения (рисунки).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что пролонгированное облучение модифицирует серотонинергическую регуляцию инотропной функции сердца и тонуса коронарных сосудов. Вероятно, в миокарде облученного организма изменяется путь реализации эффекта серотонина, что приводит к уменьшению концентрации Ca^{2+} в кардиомиоцитах и соответственно к снижению их сократительной активности. Пострадиационная редукция его эффекта на коронарный поток обусловлена, по-видимому, сужением диапазона констрикторной реакции сосудов сердца.

Список литературы

33. *Малыхина, А. П.* Биоэлектрическая активность кардиомиоцитов облученного организма при гипоксии: автореф. дис. ... канд. биол. наук / А. П. Малыхина. – Минск, 1998.
34. *Лушка, Л. С.* Роль эндотелия в регуляции сократительных и дилататорных реакций артериальных сосудов в пострадиационный период: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Л. С. Лукша. – Минск, 1996.
35. *Ouadid, H.* [et al.] // Mol. Pharmacol. 1992. Vol. 41. P. 346-351.
36. *Bach, T.* [et al.] // Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol. – 2001. – Vol. 363. – № 2. – P. 146–160.
37. *Cocks T. M., Angus J. A.* // Nature. – 1983. – Vol. 305. – № 5935. – P. 627–630.
38. *Vanhoutte, P. M.* // Schweiz. Rundschau Med. – 1993. – Vol. 82. – № 42. – P. 1161–1166.

АПОПТОЗ КАРДИОМИОЦИТОВ КАК ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФАКТОР ДИЛАТАЦИОННОЙ КАРДИОМИОПАТИИ

Л. И. Арчакова, О. А. Манеева, А. А. Емельянова, С. А. Новаковская

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), наиболее часто способствующая развитию сердечной недостаточности (СН) по сравнению с другими некоронарогенными заболеваниями миокарда, характеризуется синдромом малого сердечного выброса, нарушениями ритма и проводимости, нарастанием дилатации полостей

сердца. На апоптотический процесс указывается как на важный механизм ремоделирования сердечной мышцы, который является морфологической основой прогрессирующей дилатации полостей сердца при развитии СН. Особенно важна роль апоптоза на этапах декомпенсации СН, когда структурная деградация сердца определяется значительной потерей кардиомиоцитов (КМЦ) [6]. Участие апоптоза КМЦ в развитии ДКМП показано на трансгенных моделях СН, которая вызывалась активацией каспаз, индуцирующих апоптоз, и подавлением экспрессии факторов выживания. Верификация апоптоза с помощью TUNEL-метода в эндомикардиальных биоптатах больных ДКМП подтверждает увеличение распространенности апоптотического процесса по сравнению с нормальным миокардом, что сопровождается значительным повышением апоптотического индекса. Величина последнего определяется степенью прогрессирования СН и достигает максимальных значений в терминальной стадии. Таким образом, апоптоз КМЦ вносит существенный вклад в уменьшение их количества при развитии СН.

Как известно, для апоптоза характерны изменения в плазмемных мембранах, протеолиз интрацеллюлярных белков, потеря митохондриальной функции и фрагментация ДНК. Эти процессы находят отражение в специфических морфологических проявлениях, рассматриваемых в качестве критериев апоптоза и включающих в себя конденсацию хроматина по периферии клеточного ядра, карипикноз и кариорексис, уменьшение размеров клетки, потерю клеточных контактов друг с другом, вспенивание («блэббинг») мембраны, формирование цитоплазматических выростов, а в конце – образование апоптотического тела.

Несмотря на то, что идентификация апоптоза по ультраструктурным характеристикам клетки считается наиболее убедительной, подробное морфологическое описание его ультраструктурных критериев, которые могли бы использоваться для прижизненной цитологической диагностики ДКМП у человека, отсутствует. В связи с вышеизложенным очевидна актуальность субмикроскопического тестирования апоптоза КМЦ как морфологически значимого показателя и потенциально возможного агента терапевтического воздействия.

Материалы и методы. Объектом исследования являлся миокард правого желудочка сердца людей, у которых на основании

клинико-инструментальных обследований была установлена ДКМП. Работа выполнена на биоптатах миокарда, полученных трансфеморальным доступом с предварительной катетеризацией направляющим катетером из трех зон: верхушки правого желудочка, межжелудочковой перегородки и зоны выходного тракта правого желудочка.

Кусочки ткани размером 1–2 мм³ фиксировали в растворе, состоящем из 3 % глутарового альдегида и 1 % параформа, после чего материал измельчали и обрабатывали 2 % раствором четырехокси осмия. После промывания 0,1 М фосфатным буфером материал обезживали в спиртах возрастающей крепости и заключали в аралдит по общепринятой методике Боголепова. Срезы готовили на ультратоме LKB и просматривали в электронном микроскопе JEM – 100 CX.

Результаты и обсуждение. Проведенные ультраструктурные исследования биоптатов сердца пациентов с ДКМП свидетельствуют о том, что патогенез данного заболевания характеризуется сложностью и полиморфизмом. При этом необходимо отметить мозаичность и разнообразие инволюционных изменений в миокарде, когда среди КМЦ с интактной структурой выявляются КМЦ с такими патологическими признаками, как очаговая дегенерация цитоплазмы и ее органелл, пониженное содержание миофибрилл, их истончение, дезориентация и литические дефекты, расширение вставочных дисков и, как следствие, разобщение соседних миокардиальных клеток. В ряде случаев определяются диффузно расположенные гипертрофированные КМЦ с разобщенными пучками миофибрилл и большим количеством беспорядочно расположенных мелких митохондрий.

Характерные изменения ультраструктуры КМЦ при ДКМП состоят в следующем:

- снижение содержания миофибрилл, образующих в саркоплазме рыхлые сети, в просвете которых хаотично рассеяны мелкие плотные митохондрии, имеющие неодинаковые размеры и форму;
- наличие в цитоплазме групп крупных лизосом, содержащих материал высокой электронной плотности, что свидетельствует об очаговой дегенерации цитоплазмы и ее органелл;
- появление миофиламентов с неплотной упаковкой миофибрилл и с пустотами, занимающими значительные участки саркомера, а также истонченных миофиламентов с контурами «бамбуко-

вого ствола» и литическими дефектами;

- запустевание цитоплазмы в околядерных и межфибриллярных пространствах на фоне общего снижения объемной плотности миофибрилл;

- образование выпячиваний клеточной стенки, в которых содержатся митохондрии и другие внутриклеточные органеллы;

- появление конгломератов фрагментов внутриклеточных структур КМЦ в межклеточном пространстве;

- образование мелких пиноцитозных пузырьков под сарколеммой, являющихся морфологическим субстратом обменных процессов между саркоплазмой и внеклеточной средой;

- скопление многочисленных пузырьков и крупных электроннопрозрачных вакуолей на фоне полного отсутствия миофибрилл в ряде КМЦ.

Полиморфизм КМЦ выражен также в отношении ядерного компартмента. Наряду с КМЦ с нормально организованными ядрами отмечаются КМЦ с выраженной складчатостью нуклеолеммы и маргинальной агрегацией глыбок гетерохроматина, образующих в ядре серповидные шапки и осмиофильные полосы с повышенной электронной плотностью. Определяется агрегация ядрышек с редукцией гранулярного компонента. В цитоплазме КМЦ с патологическими изменениями ядрышек свободные рибосомы и полирибосомы встречаются редко, что свидетельствует о патологическом снижении синтеза клеточных белков.

О важной патогенетической роли апоптоза в структурной перестройке миокарда при ДКМП свидетельствуют такие отмечаемые нами изменения в КМЦ, как выраженная складчатость кариолеммы с маргинальной агрегацией глыбок гетерохроматина у ядерной мембраны, инвагинация кариолеммы с отшнуровыванием ядерных фрагментов, снижение плотности саркоплазмы, лизис миофибрилл и хаотично локализованные мелкие плотные митохондрии, крупные плотные лизосомы и остаточные тельца в цитоплазме и межклеточном пространстве. Данные изменения идентичны изменениям, описываемым в КМЦ при апоптозе некоторыми авторами. Полиморфизм митохондрий и их разбросанность среди истонченных миофибрилл также позволяют расценить их как апоптотические [5].

Таким образом, отсутствие в миокарде воспалительной реакции вместе с особенностями ультраструктурных изменений КМЦ

при ДКМП дают основание считать, что элиминация части КМЦ при данном заболевании осуществляется путем апоптоза. Диффузная локализация апоптотически измененных КМЦ в различных полях зрения позволяет предположить, что вовлечение отдельных миоцитов в патологический процесс происходит асинхронно, а индуцирующий изменения фактор действует неодновременно.

Определяются КМЦ как в начальной, так и в развернутой стадии апоптотической дегенерации. Как известно, наиболее ранним характерным признаком апоптоза является конденсация хроматина по периферии, под мембраной ядра, при этом образуются четко очерченные плотные массы различной формы и размеров. В наших исследованиях о начальной фазе апоптотического процесса свидетельствуют такие ультраструктурные критерии, как маргинация глыбок хроматина в виде серповидных шапок и осмиофильных полосок у кариолеммы и изрезанность контуров ядра. К несколько более поздним признакам можно отнести изменение митохондриальной популяции КМЦ, которое выражается в появлении мелких плотных митохондрий, неодинаковых по размерам и форме и хаотично рассеянных среди разобщенных пучков миофибрилл.

Помимо КМЦ с начальными признаками, определяются КМЦ в развернутой фазе апоптотического процесса, на что указывает инвагинация кариолеммы с отшнуровыванием ядерных фрагментов, а в ряде случаев – полная фрагментация кариоплазмы с образованием разобщенных фрагментов ядра, не связанных между собой. Процессом, предшествующим формированию апоптотических телец, является образование выпячиваний клеточной стеки, в которых содержатся митохондрии и другие внутриклеточные органеллы. На конечную фазу апоптоза указывает появление конгломератов фрагментов внутриклеточных структур КМЦ (так называемых остаточных телец) в межклеточном пространстве. Таким образом, проведенное нами субмикроскопическое исследование биоптатов сердца пациентов с ДКМП позволяет по ультраструктурным характеристикам сердечных миоцитов идентифицировать диффузный апоптотический процесс в миокарде.

На основании анализа собственных результатов и данных литературы можно заключить, что процесс программированной клеточной гибели участвует в патогенезе ДКМП. На формирование заместительного фиброза вследствие апоптотической гибели КМЦ указывается как на причину ремоделирования левого желудочка

при данной патологии. В терминальной стадии ДКМП отмечается уменьшение количества кардиомиоцитов на 28 % в левом и на 30 % в правом желудочке сердца [4].

Существует и точка зрения, что апоптоз при ДКМП ограничивается лишь отдельными кардиомиоцитами [3]. Однако если принять во внимание, что гибнущая по механизму апоптоза клетка может быть выявлена *in vivo* лишь в течение нескольких часов, а клеточная популяция миокарда не может быть восполнена за счет митоза, то обнаружение в сердечной мышце небольшого количества апоптотических клеток свидетельствует о важности этого феномена для ремоделирования миокарда и прогрессирующей дилатации полостей сердца.

Существует мнение, что апоптоз в миокарде трудно распознать, трудно дифференцировать апоптоз КМЦ от апоптоза других клеток миокарда. Очевидно, это связано с тем, что данный феномен в миокарде имеет свои тканевые особенности, которые авторами не были учтены. Необходимо отметить, что временной промежуток и скорость протекания апоптоза КМЦ в миокарде точно не известны, а морфологические проявления отличаются от таковых в культуре клеток. В силу особенностей субмикроскопической организации КМЦ происходящие в них изменения ультраструктуры могут не полностью соответствовать существующим критериям апоптотического процесса и несколько различаться в зависимости от способов его индукции. Так, например, при экспериментальном моделировании на животных показано, что апоптотическая гибель КМЦ вследствие ишемии-реперфузии происходит без типичной конденсации и маргинации хроматина, но с выраженной деградацией ядерной ДНК. Редко отмечается такой морфологический признак апоптоза, как пузырьчатость ядерной мембраны [2].

Важность феномена апоптоза в миокарде подтверждается тем, что низкий уровень апоптотической гибели мышечных клеток сердца может оказать большее отрицательное воздействие на гемодинамику желудочков, чем эквивалентный очаговый некроз КМЦ. В частности, СН после окклюзии коронарной артерии развивается в результате очаговой гибели 40–50 % КМЦ левого желудочка, такой же исход регистрируется при диффузной потере 10–20 % от общего числа мышечных клеток сердца при экспериментальной дилатационной кардиомиопатии антрациклинового генеза [1].

Таким образом, нами исследован феноменологический ряд структурно-функциональных и патологических изменений КМЦ в биоптатах сердца пациентов с ДКМП. На основании существующих ультраструктурных критериев идентифицирован процесс элиминации КМЦ путем диффузного апоптоза. Полученные сведения о морфологии апоптотических КМЦ могут быть использованы в качестве электронно-микроскопических критериев данного заболевания с целью его прижизненной цитологической диагностики.

Список литературы

1. Лушникова, Е. Л.]и др.]. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2004. – Т. 138. – № 12. – С. 684–689.
2. Симоненко В. Б., Бойцов С. А., Глухов А. А. // Терапевт. архив. – 1999. – № 12. – С. 64–67.
3. Шумаков В. И., Хубутия М. Ш., Ильинский И. М. Дилатационная кардиомиопатия. – М., 2003.
4. Beltrami C. A., Finato N., Rocco M. // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1995. – Vol. 27. – P. 291–05.
5. Saton M., Hiramoni K., Famura G., Satodat R. // Nipp. Rinsho. – 1996. – Vol. 54. – № 7. P. 1982–1985.
6. Williams, B. //Am. J. Cardiol. 2001. – Vol. 87. (8A). – P. 10C–17C.

АДЕНОЗИН ДОЗОЗАВИСИМО ИЗМЕНЯЕТ ВЕЛИЧИНУ АФФЕРЕНТНОЙ ИМПУЛЬСАЦИИ КРАНИАЛЬНЫХ БРЫЖЕЕЧНЫХ НЕРВОВ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА У КРЫС

М. В. Головач

Брестский государственный университет им. А. С. Пушкина,
Брест, Беларусь

В последние годы в разносторонних по методическим подходам исследованиях представлены доказательства наличия пуриновых рецепторов в различных отделах ЖКТ, о чем можно судить по ряду обобщающих публикаций [1, 2]. По данным литературы к настоящему времени известно, что пищевые нуклеотиды (АТФ) и нуклеозиды (аденозин) оказывают свое действие путем активации пуриновых рецепторов на энтероциты кишечного эпителия, секреторную и сократительную функцию кишечника, секрецию эндокринных желез и воспалительные процессы. Через активацию A_1 и A_2 рецепторов аденозин может контролировать включение других рецепторов, а при активации A_2 В-рецептора нуклеозид проду-

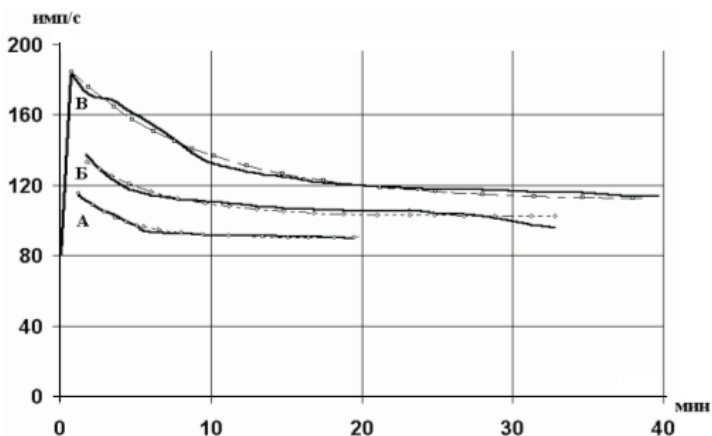
цирует образование большого количества цАМФ, т.е. вовлечен в систему вторичных передатчиков, что способствует синтезу клетками эпителия, тучными клетками и макрофагами широкого спектра биологически активных веществ, способных действовать на рецепторные аппараты и модулировать афферентную активность нервных волокон. Аденозин непосредственно деполяризует субмукозальные нейроны, действует на A_2 - и A_1 -рецепторы, угнетает выделение соответственно ацетилхолина и норадреналина. Кроме того аденозин во многих синапсах модулирует синаптическую передачу, соединяясь с рецепторами на пре- и постсинаптической клетках. У крыс внутривенное и внутриартериальное введение аденозина сопровождается усилением афферентной активности в брыжеечных нервах тощей кишки и увеличением внутрикишечно-го давления у анестезированных крыс [3].

Поэтому нами были изучены особенности изменений афферентной импульсации висцеральных нервов после введения экзогенного аденозина на окончания афферентных волокон в слизистой оболочке тонкого кишечника. Для этого регистрировали активность чувствительных волокон краниальных брыжеечных нервов тощей кишки до и после внутрикишечной инфузии аденозина в различных дозах в соответствующий участок кишечника.

Материалы и методы. Эксперименты выполняли на наркотизированных тиопенталом натрия (70 мг/кг массы тела, внутрибрюшинно) крысах. Животных помещали на термостабилизированную грелку с температурой 35-36°C. Для регистрации нервной активности использовалась электрофизиологическая установка.

Как нами ранее было установлено введение 0,5 мл изотонического раствора NaCl в тощую кишку не сопровождалось достоверными изменениями афферентной импульсации в изучаемых нервах [4]. При этом частота нервной активности в фоне и после введения вышеуказанного раствора соответствовала 80 Гц. Аденозин вводили в дозе (0,1, 0,5 и 3,0 мг) в тощую кишку в 0,5 мл изотонического раствора NaCl.

Результаты опытов обработали с помощью программы Origin, импортировали в программу SigmaPlot, с помощью которой находили коэффициенты регрессии функции для уравнений описывающих графики (рис.).



$$y = 90.3558 + 37.9838 \times \exp(-0.3289 \times x) = 10.3558 + 37.9838 \times e^{(-0.3289 \times X)} \quad (\text{A});$$

$$y = 102.4545 + 43.5404 \times \exp(-0.1869 \times x) = 22.4545 + 43.5404 \times e^{(-0.1869 \times X)} \quad (\text{B});$$

$$y = 103.5252 + 79.6375 \times \exp(-0.1149 \times x) = 23.5252 + 79.6375 \times e^{(-0.1149 \times X)} \quad (\text{B}).$$

Рис. Аfferентная импульсация брыжеечных нервов краниальной части тощей кишки после введения в полость тощей кишки 0,1 мг (А), 0,5 мг (Б), 3 мг (В) аденозина в 0,5 мл изотонического раствора NaCl

Обработанные графики опытов. Уравнения описывают теоретическое поведение функции нервной активности в зависимости от дозы препарата (по уравнениям штриховыми линиями построены графики этих зависимостей).

Расчеты и построение графиков проводили с помощью табличного редактора MS Excel. Так как нервная активность изменялась нелинейно, следовательно и общий вид функции, которой описываются графики будут иметь вид: $y = a_0 + a_1 * \exp(-b * x)$, где a_0 , a_1 и b – коэффициенты, x – время (минут), y – частота (импульсов в секунду) [5].

Данные рисунка указывают на то, что с увеличением дозы препарата частота импульсации возрастает. Графики нервной активности достаточно хорошо описываются уравнениями, которые имеют экспоненциальную зависимость нервной активности от времени в зависимости от дозы введенного препарата. При этом коэффициент корреляции Kr во всех случаях имел отрицательные значения, что свидетельствует об отрицательной корреляции, проявляющейся в постепенном снижении импульсации в брыжееч-

ных нервах краниальной части тощей кишки по мере увеличения времени и снижения концентрации препарата. Kr указывает вклад различных факторов на величину нервной активности, рассчитанную теоретически.

При сравнении экспериментальных данных с теоретическими, мы использовали коэффициент относительной вариации K_{var}^2 , который составил 12,1 % (А), 11,2 % (Б) и 5,9 % (В), а коэффициент корреляции Kr^2 при этом составил 85,8 %, 76,8 % и 68 % соответственно. Коэффициент корреляции Kr^2 показывает процент учтенных факторов на величину нервной активности. Таким образом, анализ данных показывает хорошее соответствие предлагаемой модели для проведенного исследования, что подтверждается уравнениями и графиками (рис.).

Из графиков видно, что через 10–12 мин после инфузии 0,1 мг нуклеозида, нервная активность начинает снижаться и приближается к фоновым значениям (рис. А). В других опытах (рис. Б, В) при увеличении концентрации аденозина частота и продолжительность его действия увеличиваются, т.е. стимулирующие эффекты в данном случае наблюдались более длительное время (35 мин и более). Поэтому в дальнейших исследованиях целесообразнее использовать концентрацию аденозина 1 мг в 0,5 мл изотонического раствора NaCl.

Результаты проведенных исследований позволяют сделать вывод о том, что действие аденозина со стороны слизистой оболочки тощей кишки проявляется в дозозависимом усилении тонической афферентной импульсации краниальных брыжеечных нервов. То есть впервые показано, что частота и продолжительность нервной активности в изучаемых нервах может зависеть от концентрации нуклеозида в тонком кишечнике.

Список литературы

1. Burnstock G. // *Neuropharmacology*. – 1997. – Vol. 36. – P. 1127-1139.
2. Burnstock G. // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2001. – Vol. 22. – № 4. – P. 182–188.
3. Kirkup A.J., Eastwood C., Grundy D. et al. // *British J. Pharmacology*. – 1998. – Vol. 125. – P. 1352–1360.
4. Солтанов, В. В. *Новости мед.-биол. наук* / В. В. Солтанов, М. В. Головач. – 2004. – № 2. – С. 34-38.
5. Фармакокинетика / Н. Н. Каркищенко и др.]. – Ростов н/Д., 2001.

ВЛИЯНИЯ ИНГИБИТОРА TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРОВ И АННЕКСИНА V НА РАЗМЕР ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

К. Н. Грищенко

Каролинский Институт, Стокгольм, Швеция
Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь

В 1994 г. Nomura с соавторами открыли toll-like рецепторы [5], связывающие молекулы группы патогенов, на поверхности клеточных мембран. Было обнаружено, что они инициируют иммунный ответ организма на внедрение инфекционного агента, на эндотоксин микроорганизмов и обеспечивают реакции врожденного иммунитета. Считается, что эти рецепторы универсальны для различных видов организмов и служат первичным звеном в реакциях врожденного иммунитета. Показано, что врожденный дефицит toll-like рецепторов может уменьшать размер инфаркта миокарда [6]. Учитывая влияние эндотоксина на развитие экспериментального инфаркта миокарда [6], представляло интерес выяснить, как будет сказываться предварительное введение животным ингибитора toll-like рецепторов (IDX-1), связывающих эндотоксин, на размер инфаркта миокарда.

Материалы и методы. Эксперименты были выполнены на 42 крысах-самцах линии Sprague-Dawley. С целью анестезии животным внутрибрюшинно вводили пентобарбитал натрия (Aro-teksbolaget, Швеция) в дозе 60 мг/кг, с последующей постоянной внутривенной инфузией со скоростью 5 мг/кг/ч. Моделирование острой коронарной недостаточности с перевязкой передней нисходящей коронарной артерии проводили по Fishbein M.C. et al. [2]. Время ишемии составляло 30 мин, последующей реперфузии – 120 мин. В ходе эксперимента контролировали АД, ЧСС и температуру ядра тела. По истечении времени реперфузии коронарную артерию снова пережимали и вводили во внутреннюю яремную вену 1,5 мл 2 % раствора Эванс Блю, после чего извлекали сердце. В последующем готовили поперечные срезы миокарда левого желудочка, сканировали их, после чего вычисляли методами планиметрии размеры зоны ишемии, а также зоны инфаркта. Для вычисления последней срезы предварительно инкубировали в течение 15 мин при температуре 37 °С в растворе трифенилтетразолия

хлорида (ТТС) [2] и выдерживали 12 часов при комнатной температуре в растворе формалина.

Критерии отбора животных в исследование во всех группах включали стабильные показатели гемодинамики и температуры ядра тела. Допустимые пределы колебаний систолического АД составляли 100 ± 20 мм рт. ст., ЧСС – 400 ± 50 ударов в минуту, температуры ядра тела – $38,0 \pm 0,5$ °С. Мониторинг и запись показателей гемодинамики осуществлялся с помощью датчика давления (Statham P23Db) и компьютерной программы «PharmLab V3,0» (Astra-Zeneca R&D, Швеция).

Исследуемые растворы IDX-1 (InDex Lab, Швеция) и аннексина V (InDex Lab, Швеция) вводили животным внутривенно болюсно за 15 мин до начала ишемии в дозе 1 мг/кг в 1 мл раствора. В качестве растворителя использовался 0,9% раствор хлорида натрия. С целью сравнения протективного влияния на ишемизированный миокард внутривенно вводили L-аргинина гидрохлорид (SigmaUltra, США) в дозе 200 мг/кг, препарат с известным вазодилатирующим и антигипоксическим эффектом.

Статистический анализ проводился с использованием пакета ANOVA программы статистического анализа «StatPlus».

Результаты и обсуждение. Внутривенное введение IDX-1 в дозе 1 мг/кг не влияло на размер определяемой зоны ишемии у крыс и достоверно уменьшало размер зоны инфаркта по сравнению с контролем (внутривенная инфузия 0,9 % раствора хлорида натрия). Так, зона ишемии у животных в контрольной группе (группа 1) составляла $49,3 \pm 2,9$ % от массы левого желудочка ($n = 8$), а после инъекции IDX-1 (группа 2) – $41,8 \pm 3,5$ % от массы левого желудочка ($n = 6$). У крыс после введения L-аргинина (группа 3) зона ишемии была $46,52 \pm 3,42$ % ($n = 8$). Однако размер зоны инфаркта у животных второй группы составлял $48,7 \pm 6,28$ % от зоны ишемизированного миокарда ($p \leq 0,05$; $n = 8$), а также $61,78 \pm 4,26$ % ($p \leq 0,05$; $n = 8$) у крыс после инфузии L-аргинина. Изучение размеров зон инфарктов у крыс второй и третьей групп не выявило достоверных различий между ними.

С целью уточнения возможных механизмов протективного действия IDX-1 на ишемизированный миокард представлялось интересным выяснить, как будет изменяться размер зоны инфаркта при одновременном введении IDX-1 и L-аргинина. В опытах на крысах показано, что предварительное за 15 мин до ишемии введение в

кровоток IDX-1 и L-аргинина значительно уменьшало размер зон ишемии по сравнению с другими экспериментальными группами до $34,56 \pm 3,64$ % ($p \leq 0,05$; $n = 4$), что дало основания полагать о потенцировании эффекта вводимых препаратов.

В литературе имеются сведения о значении дисфункции эндотелия в патогенезе коронарной недостаточности и, в частности, инфаркта миокарда [3; 4]. Показано, что при тромбозе и атеросклерозе резко увеличивается экспрессия аннексина V [1] на поверхности эндотелиоцитов, однако значение ее остается до сих пор не ясным. С целью уточнения роли аннексина V и эндотелий-зависимых механизмов свёртывания крови в развитии экспериментального инфаркта миокарда представлялось целесообразным изучить, как будет влиять на размер инфаркта миокарда предварительное введение в организм животных аннексина V.

В отдельной серии изучали размеры зоны инфаркта миокарда после внутривенного введения крысам аннексина V. Протокол данного исследования включал аналогичные предыдущему опыту контрольные группы животных, которым предварительно вводили внутривенно 1 мл 0,9 % раствора хлорида натрия, либо 1 мл раствора L-аргинина. Внутривенное введение крысам аннексина V, анти-тромботического фактора, ингибирующего эндотелий-зависимое свёртывание крови, в дозе 1 мг/кг в 1 мл раствора за 15 мин до ишемии способствовало уменьшению размера зоны инфаркта до $36,67 \pm 2,58$ %, что было достоверно ниже соответствующих показателей в группе с введенным физиологическим раствором хлорида натрия ($p \leq 0,05$; $n = 5$), и L-аргинином ($p \leq 0,05$). При этом не наблюдалось существенных различий в размерах зон ишемии во всех исследуемых группах.

В процессе выполнения экспериментов была выявлено различие в частоте приступов фибрилляции желудочков в периоде ишемии и общей выживаемости в испытуемых группах. Так, несмотря на уменьшение зоны некротизированного миокарда, частота эпизодов фибрилляции была выше в группе с аннексином V и составляла $15,3 \pm 1,3$ пароксизма ($n = 5$), что было достоверно выше показателей в контроле: группа с 0,9% раствором хлорида натрия – $12,1 \pm 2,4$ пароксизма ($p \leq 0,05$; $n = 5$), а в группе с предварительным введением L-аргинина – $6,3 \pm 1,5$ пароксизма ($p \leq 0,05$; $n = 5$). Частота приступов фибрилляции в группе с IDX-1 существенно не отличалась от таковой в первой группе. Летальность животных

также существенно различалась от 50 % в группе, получавшей аннексин V, и до 6 % в группе, животным которой вводили L-аргинин ($p \leq 0,05$). Высокая вероятность гибели экспериментальных животных после введения аннексина V может быть связана с развитием геморрагических осложнений в ходе исследования.

Выводы:

1. Исследуемые препараты – ингибитор toll-like рецепторов IDX-1 (1 мг/кг) и аннексин V (1 мг/кг), влияющие на эндотелий-зависимые механизмы сосудистой и, в частности, коронарной недостаточности, при предварительном за 15 мин до ишемии введении в кровоток достоверно уменьшали размер зоны инфаркта миокарда у крыс.

2. Не выявлено достоверных различий в протективном действии аргинина, либо IDX-1 на размер зоны инфаркта при предварительном внутривенном их введении. В то же время аннексин V обладал более выраженным защитным эффектом по сравнению с L-аргинином.

3. Совместное применение IDX-1 и L-аргинина усиливало протективный эффект.

4. Выживаемость экспериментальных животных была наибольшей при введении L-аргинина, а самая низкая – после введения аннексина V.

Список литературы

1. *Cederholm A., Frostegard J.* // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2007. – Vol. 1108. – P. 96–103.
2. *Fishbein M. C.* [et al.] // Am. Heart J. – 1981. – Vol. 101. – P. 593–600.
3. *Gourine A. V.* [et al.] // Nitric Oxide. – 2002. – Vol. 7. – P. 210–216.
4. *Lefer A. M.* [et al.] // FASEB J. – 1991. – Vol. 5. – P. 2029–2034.
5. *Nomura N.* [et al.] // DNA Res. – 1994. – Vol. 1. – P. 27–35.
6. *Stapel H.* [et al.] // Eur. J. Heart Fail. 2006. – Vol. 8. – № 7. – P. 665–672.

КОРРЕКЦИЯ С ПОМОЩЬЮ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Е. И. Золотухина, В. С. Улащик, В. Н. Филиппович

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь
Минская областная клиническая больница, Минск, Беларусь
Госпиталь КГБ Республики Беларусь, Минск, Беларусь

Наиболее распространенные заболевания сердечно-сосудистой системы – ишемическая болезнь сердца (ИБС) и артериальная гипертензия (АГ) – являются одной из наиболее актуальных медицинских проблем любого общества и составляют основу выделенных ВОЗ социально-обусловленных заболеваний. Указанные заболевания доминируют в структуре сердечно-сосудистой патологии и смертности от нее. Поэтому важнейшей задачей современной медицины является совершенствование методов диагностики и профилактики сердечно-сосудистой патологии.

Недостаточная эффективность или плохая переносимость фармакологических препаратов, все чаще возникающая у некоторых категорий кардиологических пациентов, требует поиска альтернативных или комплексных методов лечения больных ИБС и АГ. В сложившихся условиях приоритетным для отечественного здравоохранения остается дальнейший поиск эффективных методов лечения сердечно-сосудистых заболеваний, среди которых значительную роль играют немедикаментозные методы, в частности, физические методы лечения.

Наше внимание привлекли такие физические факторы, как низкочастотное магнитное поле и полихроматическое лазерное излучение в силу следующих причин. Во-первых, при нашем участии разработаны оригинальные аппараты, позволяющие проводить новые физиотерапевтические методы – общую магнитотерапию и многоцветную лазеротерапию, терапевтическое действие которых практически еще не изучено. Во-вторых, сведения о механизмах действия этих физических факторов и отдельные клинические наблюдения позволили прогнозировать их высокую терапевтическую эффективность при сердечно-сосудистой патологии. В третьих, в действии и магнитных полей, и лазерных излучений большая роль отводится их избирательному влиянию на регуляторные системы

организма, прежде всего на вегетативную нервную систему, играющую важную роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний и отдельных нарушений при них, в частности, сердечного ритма и сосудистого тонуса [5; 6].

В свете изложенного целью настоящего исследования является изучение влияния общей магнитотерапии и многоцветной лазеротерапии на сердечно-сосудистую систему и эффективность лечения больных ИБС и АГ, также оценка роли в нем вегетативной нервной системы.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования выбраны 134 больных с хронической ИБС, которым в комплексном лечении применялась магнитолазерная терапия и 140 больных АГ различной степени тяжести, которым назначалась общая низкоинтенсивная магнитотерапия. Пациенты находились на лечении в кардиологических отделениях Минской областной клинической больницы и госпиталя КГБ Республики Беларусь.

Кроме стандартного комплекса общеклинического обследования были проведены следующие исследования: при поступлении больных в стационар, а также в конце курса лечения изучались показатели уровня фибриногена А и активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ); для оценки липидного статуса крови до начала лечения и после него определяли уровень общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП), холестерина липопротеинов низкой (ХС-ЛПНП) и очень низкой плотности (ХС-ЛПОНП), рассчитывался коэффициент атерогенности (КА); мозговая гемодинамика оценивалась методом реоэнцефалографии (РЭГ); вариабельность сердечного ритма (ВСР) – методом спектрального (частотного) и статистического (временного) анализов на основании суточного холтеровского мониторирования, толерантность к физической нагрузке определялась методом велоэргометрической пробы.

На фоне стандартной медикаментозной терапии 32-м больным ИБС проводилась надвенная магнитолазерная терапия на область кубитальной вены. Поочередно осуществлялось воздействие линейно-поляризованным излучением синего светодиода в течение 10–20 мин, затем красного лазера – 10–15 мин. Энергетическая доза за процедуру – от 51 до 102 Дж/см². Курс лечения – 8–12 ежедневных процедур. Во второй группе прекардиальная магни-

толазерная терапия. Воздействие проводилось синим светодиодом в течение 20–30 секунд, затем лазерами: красным – 20–25 секунд, инфракрасным непрерывным – 20–25 секунд. Курс лечения – 8–12 ежедневных процедур. Энергетическая доза за процедуру – от 17,2 до 28,8 Дж/см². В третьей группе (35 человек) осуществлялось чередование методик, указанных выше.

Больные АГ получали процедуры общей магнитотерапии. Продолжительность процедуры в начале курса лечения составляла 8–10 минут, постепенно увеличиваясь к концу курса до 20–30 мин. Частота модуляции – 50 Гц, индукция магнитного поля подбиралась индивидуально в зависимости от уровня АД. При уровне АД до 139/89 мм. рт. ст. индукция магнитного поля составляла 1,0–1,1 мТл, при АД от 139/89 мм. рт. ст. до 159/99 мм. рт. ст. – индукция магнитного поля от 2,1 –2,7 мТл, и, если цифры АД были 160/100 мм. рт. ст. и выше, то индукция магнитного поля составляла 3,0–3,1 мТл.

Результаты и обсуждение. *Лечение ИБС.* У больных ИБС магнитолазерная терапия оказывает зависимое от локализации и методики воздействия антиишемическое, гипотензивное, гиполипидемическое и гипокоагуляционное действие. Надвенная магнитолазерная терапия у больных ИБС: снижает уровень общего холестерина, триацилглицеридов, холестерина липопротеинов низкой и очень низкой плотности и повышает уровень холестерина липопротеинов высокой плотности; повышает антикоагуляционный потенциал крови; улучшает показатели ВЭП, РЭГ, достоверно уменьшает число эпизодов ишемии миокарда и количество экстрасистол в сутки (по данным холтеровского мониторирования). Курс комбинированной магнитолазерной терапии, включающий чередование надвенной и прекардиальной методик, вызывает наиболее выраженные и достоверные положительные изменения в липидном спектре и антикоагуляционном потенциале крови, показателях холтеровского мониторирования, а также более существенно улучшает физическую работоспособность. Наиболее целесообразно использование у больных комбинированной магнитолазерной терапии, после курса которой значительное улучшение отмечено у 91,4 %, а улучшение – у 8,6 % больных ИБС.

Лечение АГ. Включение в лечение больных артериальной гипертензией общей магнитотерапии приводит к более быстрому и у большего числа пациентов по сравнению с контролем купирова-

нию церебральных жалоб и жалоб со стороны сердечно-сосудистой системы, оказывает антиатерогенное действие, достоверно повышает антикоагуляционный потенциал крови и уровень гемоглобина. После курса лечения общей магнитотерапией у больных артериальной гипертензией отмечается достоверное снижение периферического сопротивления сосудов, увеличение объемной скорости мозгового кровотока и улучшение венозного оттока. Терапевтический эффект курсовой общей магнитотерапии зависит от исходного уровня артериального давления. Наиболее эффективен этот метод у больных артериальной гипертензией с менее тяжелой степенью заболевания.

Изменение мозговой гемодинамики и активности ВНС. В оценке состояния ВНС использовались спектральные методы анализа вариабельности сердечного ритма (ВСР), которые позволяют качественно оценить различные частотные составляющие колебаний ритма сердца, отражающие активность определенных звеньев регуляторного механизма. В суммарной мощности ВСР выделяют три основных компонента: очень низкая частота (VLF) – характеризует активность симпатического отдела ВНС; низкая частота (LF) – характеризует состояние симпатического отдела ВНС, в частности, системы регуляции сосудистого тонуса; вагусная активность является основной составляющей высокочастотного компонента (HF). Кроме того, изучались нормализованные характеристики в области низких (LFn) и высоких (HFn) частот, процентный вклад каждой из мощностей – очень низкочастотной (VLF %), низкочастотной (LF %) и высокочастотной (HF %) в общую мощность спектра [4].

При регистрации РЭГ оценивались следующие показатели: А – амплитуда артериальной компоненты; ВА – систолическое отношение (характеризует периферическое сопротивление артериальных и артериоларных сосудов исследуемой области); ВО – венозный отток (условия возврата крови из венозного русла исследуемой области в сердце); ВВ – амплитуда пресистолической волны (тонус сосудов венозного русла); F – объемная скорость венозного кровотока (характеристика гемодинамических условий транскапиллярного обмена в исследуемой области). На основании анализа полученных данных можно заключить, что использование в комплексном лечении больных АГ общего слабого магнитного поля способствует нормализации баланса между отделами вегета-

тивной нервной систем, вызывая снижение исходно повышенной активности симпатической нервной системы с одновременной тенденцией к увеличению ваготропных влияний. Комплексное курсовое лечение АГ с применением общего магнитного поля вызывает достоверное снижение показателей LF ($p < 0,05$), LFn ($p < 0,01$), повышение HFn ($p < 0,01$). Такие изменения могут свидетельствовать о благоприятном влиянии данного фактора на активность вазомоторного центра и тонус блуждающего нерва.

При оценке мозговой гемодинамики по данным РЭГ у больных стенокардией I–III ФК с сопутствующей артериальной гипертензией после проведения курса магнитолазерной терапии (МЛТ) отмечалось улучшение венозного оттока из полости черепа, снижение тонуса сосудов мелкого и среднего калибра, снижение коэффициента асимметрии между мозговыми полушариями. Данные изменения бесспорно носят положительный характер, т. к. гиперкинетический тип кровообращения и выраженная симпатикотония у этих пациентов являются прямыми показателями к проведению курса МЛТ [1; 2; 3]. Следовательно, данный метод способствует саногенетической трансформации гемостатических и реологических свойств крови, что ведет к восстановлению нарушений микроциркуляции и нормализации функционирования различных систем организма, в том числе сердца и головного мозга.

Таким образом, предложенные способы лазеротерапии у больных ИБС и магнитотерапии у больных АГ являются эффективными и заслуживают широкого применения в комплексном лечении этих сердечно-сосудистых заболеваний. В саногенетических механизмах действия использованных физических факторов важную роль играет нормализующее влияние их на функциональное состояние вегетативной нервной системы.

Список литературы

1. Васильев А. П., Стрельцов Н. Н., Сенаторов Ю. Н. // Вопр. курортол. – 2001. – № 6. – С. 10–13.
2. Волотовская А. В., Улащик В. С., Филипович В. Н. // Вопр. курортол. – 2003. – № 3. – С. 22–25.
3. Картелишвев, А. В. [и др.] // Психиатрия и наркология. Научные и прикладные аспекты лазерных технологий реабилитации психофармакорезистентных больных депрессиями психосоматического генеза: матер. конф. – М., 2007. – С. 60–66.
4. Иванов А. П., Эльгард И. А., Сдобнякова Н. С. // Вестн. аритмол. – 2001. – № 22. – С. 45–48.

5. Корнюхина Е. Ю., Черникова Л. А. // Физиотер., бальнеол. и реабилитация. – 2007. – № 2. – С. 46–51.

6. Шляхто Е. В., Конради А. О. // Артериальная гипертензия. – 2003. – Т. 9. – № 3. – С. 81–87.

ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ГЕМОДИНАМИКИ ПРИ ИНТЕСТИНОПЛИКАЦИЯХ

А. С. Калугин

Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины,
Гомель, Беларусь

В онтогенезе микроциркуляторного русла выделяют три отдела: а) артериальный, образующийся в пренатальном периоде и обеспечивающий доставку к органам и тканям пластических и энергетических субстратов; б) венозный, по которому происходит возврат крови к органам. Причем благодаря депонированию крови и лимфы происходит перераспределение этих жидкостей; в) микрососуды регионального кровотока, т. е. артериолы, капилляры и посткапиллярные венулы, которые непосредственно обеспечивают трофическое снабжение тканей организма.

Сложная комбинация артериальных и венозных сетей функционирует таким образом, что артериальная кровь может переходить в венозный отдел, образуя артериоло-венозные анастомозы, минуя сеть капилляров.

Несмотря на обширную литературу по вопросам брюшинных спаек, эта проблема не потеряла своей актуальности и в настоящее время. Особенно вопросы системы регуляции гемодинамики при различных видах интестинопликации. В литературе нет должного отражения состояния моторно-эвакуаторной функции желудочно-кишечного тракта при различных модификациях интестинопликаций в эксперименте, как и регуляции системной гемодинамики при них.

Целью работы было выявить особенности гемодинамики при различных видах интестинопликаций в эксперименте.

Материал и методы. Для изучения возможностей применения сегментарно-брыжеечной интестинопликации (СБИ) у человека исследовались артериальные сосуды брыжеечного края тонкой кишки и размеры брыжейки на 20 патолого-анатомических ком-

плексах. Объект (свежий нефиксированный кишечник) препарировали и заполняли контрастной массой, содержащей цинко-свинцовые соединения, с последующей рентгенографией.

При изучении материала обращалось внимание на форму верхнебрыжеечной артерии, количество и длину интестинальных артерий, характер сосудистых аркад, прямых артерий (их численность на единицу площади в разных отделах тонкого кишечника).

Применялась флуоресцеиновая проба в силу изменчивости и малого калибра кишечных краевых сосудов. Для этого в экспериментах использовался 5% раствор флуоресцеина, приготовленный на 2 % содовой основе. 3–4 мл свежей смеси вводили в вену нижней конечности собаки. Во время лапаротомии на операционном столе кишечник освещался кварцевой лампой ПРК-4 со вставленным в вудовский фильтр. Время фиксировали при помощи секундомера. В тех случаях, когда кровоснабжение тканей тонкого кишечника не нарушалось, они отчетливо давали свечение желтого цвета. На участках же с поврежденной микроциркуляцией, свечение приобретало более темный цвет.

Результаты и обсуждение. Наименее выраженная люминесценция имела место после интестинопликации по Ноблю с горизонтальным расположением пликированных рядов тонкого кишечника. Более высокая – при интестинопликации Чайлдса-Филлипса и максимальная при СБИ с расположением пликированных петель перпендикулярно ходу брыжейки. Именно она судя по сравнению с показателями вазорентгенографии обеспечивает наиболее оптимальные условия кровоснабжения.

Выбор брыжеечной интестинопликации находится в прямой зависимости от расположения сосудистых аркад тонкого кишечника и, в первую очередь, зависит от архитектоники прямых кишечных артерий.

Размеры межсосудистых промежутков брыжейки колеблются от $0,9 \pm 0,1$ см (в начальной части тощей кишки) до $0,7 \pm 0,01$ см (в терминальном отделе подвздошной кишки у человека).

Исходя из величины межсосудистых промежутков, мы разработали в эксперименте на собаках пликацию промежутков узловыми шелковыми швами в виде сегментов с обязательным захватом в шов двух серозных листков брыжеечного края на расстоянии 1–1,5 см от *pars nuda*. Углы поворотов кишечных рядов не пликируются на расстоянии 3–4 см [1–4].



Рис. Фрагмент вазорентгенограммы тонкого кишечника человека, пликированного сегментно-брыжеечным методом (горизонтальное расположение петель)

Таким образом, разработанный нами метод сегментарной интестинопликации в эксперименте на собаках, который был апробирован и в клинических условиях, подтвердил физиологичность метода СБИ.

Список литературы

1. Бебуришвили А. Г. [и др.] // Хирургия. – 2004. – № 6. – С. 27–30.
2. Калугин. А. С. Еюнопликации / А. С. Калугин. – Минск, 1976.
3. Калугин А. С. // Известия Гомельского гос. ун-та. – 2006. – № 4 (31). – С. 78–82.
4. Комаровский Ю. Т., Корчинский И. Ю., Гордиенко С. К. // Клинич. хирургия. – М., 1962. – № 7. – С. 34–40.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА C-FOS В МОЗГЕ У КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ СТРЕСС-РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ В УСЛОВИЯХ ВНУТРИБРЮШИННОГО ВВЕДЕНИЯ АНАЛОГА АКТГ (4-10) – СЕМАКСА

Е. В. Коплик, П. Е. Умрюхин

НИИ нормальной физиологии им. П. К. Анохина РАМН,
Москва, Россия

Семакс – регуляторный пептид пролонгированного действия, представляющий собой аналог фрагмента молекулы АКТГ(4–10) – АКТГ(4–7)-Про-Гли-Про. Он используется в клинической практике для лечения различных заболеваний ЦНС (в частности инсультов) и как адаптоген для здоровых людей в экстремальных условиях. Показано, что препарат обладает антистрессорным действием [1; 3; 5].

В исследованиях [2; 6; 7] выявлено, что при эмоциональном стрессе наблюдается усиление экспрессии гена *c-fos* в разных структурах мозга, наиболее выраженное у предрасположенных к эмоциональному стрессу крыс. У этих животных максимальная экспрессия гена *c-fos* наблюдалась в коре, миндалине, в обонятельных структурах, гипоталамусе и стволе мозга. У крыс, устойчивых к эмоциональному стрессу, в аналогичных условиях эксперимента экспрессия гена *c-fos* выявлена только в инфраламбической коре и обонятельных ядрах [2; 5].

Учитывая антистрессорные свойства семакса, мы поставили задачу изучить его влияние на экспрессию ранних генов в различных структурах мозга у устойчивых и предрасположенных к эмоциональному стрессу животных, до и после перенесенного ими эмоционального стресса.

Материалы и методы. Опыты проведены на 80 крысах-самцах Вистар массой 240–280 г в весенне-летний период. Животные содержались при комнатной температуре в условиях свободного доступа к пище и воде.

С целью определения индивидуально-типологических особенностей поведения крыс и прогностической оценки их устойчивости к стрессорным воздействиям животных тестировали в «открытом поле» (ОП) в течение 5 мин.

Оценивались: латентные периоды первого движения и выхода в центр поля, двигательная активность, продолжительности груминга и количеству дефекаций [4].

Потенциально устойчивых и предрасположенных к эмоциональному стрессу животных разделили на 4 группы, в каждую из которых входили 5 устойчивых и 5 предрасположенных к эмоциональному стрессу особей. Крысы контрольной группы были декапитированы через 1 ч после внутрибрюшинного введения 1 мл воды для инъекций. Животным 2-й группы за 1 ч до декапитации внутрибрюшинно в дозе 0.05 мг/кг вводили семакс.

Животных 3-й группы помещали в условия конфликтной ситуации – иммобилизации в тесном «домике» в течение часа с одновременным электрокожным раздражением, наносившимся в области спинки по стохастической схеме переменным током порогового значения с напряжением 4–6 В, частотой 50 Гц и длительностью импульсов 1 мс. Продолжительность каждой стимуляции составляла 30–60 с, а их количество составило 16–18 раздражений. Животные этой группы были декапитированы через 1 час после начала стрессорного воздействия.

Крысам 4-ой группы непосредственно перед помещением в стрессорную ситуацию вводили семакс. Животные этой группы подвергались стрессорному воздействию течение 1 ч, а затем подвергались декапитации.

После декапитации у крыс извлекали головной мозг, который замораживали в изопропанолe при температуре -45°C . Фронтальные срезы мозга толщиной 30 мкм получали с помощью замораживающего микротома при температуре -18°C . Идентификация клеток, содержащих белок Fos, – продукт экспрессии раннего гена *c-fos*, осуществлялась иммуногистохимически.

Особенности индукции гена *c-fos* изучали в эмоциогенных структурах мозга: парвоцеллюлярная часть паравентрикулярного гипоталамуса (ПВГ), базолатеральная миндалина, медиальная и латеральная перегородка. Автоматизированный подсчет и выделение *fos*-позитивных клеток осуществляли при помощи программы для компьютерной обработки изображений Image-Pro Plus на ПК Пентиум II. В соответствии с установками, заданными программе, к иммунореактивным были отнесены такие клетки, окраска ядер которых лежала в диапазоне цветов от коричневого до почти черного.

Для идентификации структур использовали стереотаксический атлас мозга крысы. Достоверности различий полученных результатов вычисляли с помощью статистического пакета «Статистика 5,0», используя многофакторный дисперсионный анализ.

Результаты и обсуждение. Как показали проведенные нами исследования, у потенциально устойчивых к эмоциональному стрессу крыс контрольной группы в паравентрикулярном ядре гипоталамуса (ПВГ) количество fos-позитивных клеток в среднем составило $5,3 \pm 0,7$ (средняя величина \pm стандартная ошибка среднего). Тогда как у предрасположенных к эмоциональному стрессу животных – $9,5 \pm 1,8$, то есть значимо ($p < 0,05$) превышало экспрессию гена c-fos у устойчивых животных.

Число fos-позитивных клеток в ПВГ у крыс 2-й группы (получивших инъекцию семакса) составило: $11,3 \pm 1,6$ у устойчивых и $17,2 \pm 2,4$ у предрасположенных к эмоциональному стрессу особей, то есть существенно выросло как в популяции устойчивых ($p < 0,005$), так и предрасположенных ($p < 0,05$) к эмоциональному стрессу животных по отношению к контролю.

У крыс 3-й группы, подвергнутых электрокожному раздражению в условиях относительной иммобилизации в тесном «домишке», число c-fos иммунореактивных единиц в ПВГ составило: у потенциально устойчивых индивидов $73,2 \pm 8$, а у предрасположенных к эмоциональному стрессу животных – $73,9 \pm 6,0$, что существенно ($p < 0,0001$) превосходило контрольные показатели.

В 4-й группе крыс, которым до иммобилизации был введен семакс, количество fos-позитивных клеток в ПВГ составило соответственно: у устойчивых к эмоциональному стрессу – $60,3 \pm 5,7$, у предрасположенных – $42,2 \pm 4,2$. Как видно, при введении семакса у предрасположенных животных существенно ($p < 0,0005$) уменьшилась экспрессия гена c-fos по сравнению с крысами 3-й группы.

В базолатеральной миндалине в контрольной группе у устойчивых к эмоциональному стрессу крыс количество fos-позитивных клеток составило $15,7 \pm 1,5$, а у предрасположенных к эмоциональному стрессу животных – $8,8 \pm 0,8$. То есть экспрессия гена c-fos у устойчивых к эмоциональному стрессу животных в этой структуре мозга оказалась более высокой ($p < 0,001$) по сравнению с предрасположенными к эмоциональному стрессу животными.

Число иммунореактивных клеток в базолатеральной миндалине у крыс 2-й группы, получивших инъекцию семакса, составило

у устойчивых к эмоциональному стрессу животных $13,2 \pm 1,4$, а у предрасположенных – $7,3 \pm 1,0$.

После иммобилизации животных в сочетании с электрокожным раздражением число клеток, экспрессирующих ген *c-fos*, в базолатеральной миндалине у устойчивых к эмоциональному стрессу крыс 3-й группы достигло $16,5 \pm 1,0$, а у предрасположенных – $12,3 \pm 1,1$. Таким образом, у предрасположенных животных наблюдалось достоверное ($p < 0,02$) нарастание экспрессии гена *c-fos* по сравнению с контролем.

В базолатеральной миндалине у устойчивых к эмоциональному стрессу животных 4-й группы, получивших до помещения в конфликтную ситуацию инъекцию семакса, количество *c-fos* иммунореактивных клеток равнялось $16,4 \pm 1,2$, а у предрасположенных к эмоциональному стрессу – $11,1 \pm 0,9$, т. е. особенно не отличалось от количества иммунореактивных клеток у крыс 3-й группы.

В латеральной области перегородки мозга у стрессоустойчивых крыс контрольной группы в среднем выявлено $2,7 \pm 0,6$ *fos*-позитивных клеток, а у предрасположенных – $0,9 \pm 0,3$. Таким образом, последние характеризовались меньшим ($p < 0,005$) количеством *fos*-позитивных клеток в поле подсчета.

На фоне предварительного введения семакса у крыс 2-й группы количество *fos*-иммунопозитивных клеток у устойчивых к эмоциональному стрессу животных составило $3,9 \pm 0,4$, а у предрасположенных – $1,9 \pm 0,4$.

У крыс 3-й группы при эмоциональном стрессе экспрессия *c-fos* в латеральной области перегородки у устойчивых к эмоциональному стрессу животных составила $15,2 \pm 1,3$ иммунореактивных клеток, а у предрасположенных к эмоциональному стрессу животных – $12,8 \pm 1,0$, т. е. значительно ($p < 0,00002$ и $p < 0,00001$ соответственно) возросла у тех и других по сравнению с контролем.

У крыс 4-й группы, устойчивых к эмоциональному стрессу, получивших до помещения в условия конфликтной ситуации инъекцию семакса, число *fos*-позитивных клеток в латеральной перегородке составило $13,7 \pm 1,0$, а у предрасположенных – $9,8 \pm 1,4$, что существенно превысило интенсивность экспрессии гена *c-fos* у крыс 2-й группы, но оказалось незначительно меньше таковой у животных 3-й группы.

В медиальной области перегородки у устойчивых к эмоциональному стрессу крыс контрольной группы количество иммуно-

позитивных клеток в среднем составило $3,8 \pm 0,7$, а у предрасположенных – $2,0 \pm 0,6$, с достоверным ($p < 0,05$) преобладанием у устойчивых. На фоне предварительного введения семакса у крыс 2-й группы устойчивых и предрасположенных к эмоциональному стрессу экспрессия гена *c-fos* составила $4,3 \pm 1,4$ и $0,8 \pm 0,4$ соответственно.

При иммобилизационном эмоциональном стрессе у крыс 3-й группы число *fos*-позитивных клеток в области медиальной перегородки увеличилось по сравнению с контролем до $9,8 \pm 1,4$ у устойчивых ($p < 0,05$) и до $8,2 \pm 1,1$ у предрасположенных ($p < 0,005$) к эмоциональному стрессу крыс. При предварительной инъекции семакса в области медиальной перегородки у крыс 4-й группы количество *c-fos* иммунопозитивных клеток составило у стрессоустойчивых крыс – $9,1 \pm 1,0$, а у предрасположенных – $4,2 \pm 1,1$, что превысило экспрессию гена *c-fos* у крыс 2-й группы, но существенно ($p < 0,05$) ее понизило по сравнению с предрасположенными животными 3-й группы.

Таким образом, полученные нами результаты позволяют сделать вывод о том, что предварительная обработка семаксом вызывает индукцию раннего гена *c-fos* у крыс в обычном состоянии и уменьшает его экспрессию, вызванную эмоциональным стрессом. Однако, интимный механизм влияния семакса на экспрессию гена *c-fos* остается не вполне ясным и является предметом наших дальнейших исследований.

Список литературы

1. Ашмарин И. П. [и др.] // Журн. высш. нерв. деят. – 1997. – Т. 47. – Вып. 2. – С.420–430.
2. Бабаи, П. Особности экспрессии гена *c-fos* в мозге крыс с различной устойчивостью к эмоциональному стрессу: автореф. дис. ... канд. биол. наук / П. Бабаи. – М., 1997.
3. Каплан А. Я. [и др.] // Физиология человека. – 1992. – Т. 18. – № 5. – С. 104–107.
4. Коплик Е. В. // Вестн. новых мед. технол. – 2002. – Т. 9. – № 1. – С. 16–18.
5. Судаков, К. В. Индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу / К. В. Судаков. – М.; Рязань, 1998.
6. Honkaniemi J. [et al.] // Neuroreport. – 1992. – Vol. 3. – № 10. – P. 849–852.
7. Sharp F. R. [et al.] // J. Neuroscience. – 1991. – Vol. 11. – P. 2321–2331.

ПУСКОВЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ НЕКОТОРЫХ ФОРМ АДДИКТИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А. В. Котов

НИИ нормальной физиологии им. П. К. Анохина РАМН,
Москва, Россия
Новгородский государственный
университет имени Ярослава Мудрого,
Великий Новгород, Россия

Как известно, аддиктивное поведение проявляется в чрезвычайно разнообразных формах и характеризуется императивностью в ходе их реализации, ненасыщаемостью и подчинением якобы внешней вынуждающей силе (алкоголь, наркотики, азартные игры, графомания и др.). Очевидно, что при анализе любой формы зависимых поведенческих актов (химическая, нехимическая аддикции), мы имеем дело с самообманом, когда «под действием некоей внутренней силы, влияющей на человека изнутри, формируется его деструктивная привязанность к чему-либо, что находится снаружи» [2]. В контексте сказанного особое значение приобретают многочисленные теоретико-экспериментальные обоснования, гипотезы и концепции об автономных центрах мозга, которые не только осуществляют относительно самостоятельный контроль периферических функций, но также и связь «центра» и «периферии», обеспечивающую работу организма как целого во внешней среде:

– «пейсмекерные» механизмы и пластичность биологических мотиваций [5; 10];

– механизмы выбора подкрепления при конфликте [8] и процессов актуализации одной из мотивационных доминант среди других, «скрытых» [9].

Считают, что мотивациям зависимого поведения присущи те же признаки что и биологическим мотивационным доминантам, однако они обнаруживаются в гипертрофированной форме. Такая подчеркнута преувеличенная манифестация основных признаков мотиваций происходит в силу одного из фундаментальных свойств мотивационной доминанты – ее способности к самоусилению и даже стихийному саморазвитию [11]. Например, в условиях эндо/экзогенных конфликтов у субъекта наблюдается бесконтрольная

активация форм поведения первоначально не имеющих самостоятельной мотивационной основы и выполняющих роль «сброса» избытка мотивационно-эмоционального возбуждения [7] за счет приема алкоголя, наркотиков или выполнения так называемых «привычных действий», внешне лишенных целесообразности. По мере нарастания конфликта и перехода его в хроническую форму компенсаторные тенденции изменяют свой «вектор» активности, начиная выступать уже в качестве самостоятельных мотивационных компонентов поведения. Очевидно, что переломным моментом в этом процессе является избыточная и неспецифическая активация внутримозговых «пейсмекеров», когда субъект находится в условиях нарастания первично возникшего конфликтного возбуждения. В свете сказанного особое значение приобретают концептуально-теоретические разработки академика НАН Беларуси В. Н. Гурина о механизмах растормаживания автономных центров регуляции физиологических функций. Он считал, что этот механизм может «срабатывать» и при отсутствии влияний с возбуждающих структур, когда входы центров мозга заблокированы и «ничто не препятствует распространению растормаживающих влияний» [3].

Конфликтное противодействие различных процессов в ЦНС и противостояние разнонаправленных тенденций «открывают мозг» восприятию ранее безразличных или даже отвергаемых раздражителей, приобретающих подкрепляющую силу. Это ведет к окончательной ломке ранее сложившихся мотивационно-подкрепляющих отношений на фоне прогрессирующего и даже экстатического развития новых отношений, характерных уже для аддиктивного поведения [4; 12].

При создании биологических моделей химической и нехимической зависимости исходили из основных положений пейсмекерной теории биологических мотиваций и системного характера реализации на их основе целенаправленных актов [1; 10]. Обычно, первичное возбуждение «пейсмекеров» гипоталамуса обеспечивает специфическую интеграцию мотивационного возбуждения, реализующегося через поведенческий акт, который направлен на достижение полезного «результата действия» или даже на приближение к потребному раздражителю. Считали, что при создании хронических очагов возбуждения в пусковых зонах гипоталамуса будет формироваться «...то состояние нервной системы, когда вновь

приходящие раздражения начинают действовать преимущественно в смысле подкрепляющих возбуждений» [11]. Как известно, на этом фоне происходит интерференция и функциональное объединение механизмов «программной мобилизации» и «экзальтированного переживания» мотивационного состояния субъективно воспринимаемого как ощущение эмоционального подъема и способности к любым действиям на фоне обостренного восприятия действительности. Подобные чувствования характерны для переживания действия психостимуляторов (фенамин, амфетамин, кокаин), каннабиноидов (гашиш, марихуана) и при некоторых видах нехимической зависимости («гемблинг»). Несомненно, описанные преобразования и метаморфозы в эмоционально-мотивационном восприятии действительности и в ходе реализации собственной деятельности представляют собой итог радикальных преобразований в работе нервных сетей и клеточных ансамблей целого мозга, а также нейрохимических механизмов, обеспечивающих консолидацию нервных клеток, необходимую для обеспечения системной деятельности организма в целом. Нам представляется, однако, что в наиболее выраженной форме преобразование и реконструкция межклеточных отношений при становлении и реализации аддиктивных форм поведения происходят в «пейсмеркерах» биологических мотиваций гипоталамуса. К сожалению, вопросам, связанным с динамикой «внутрипейсмеркерных» межнейронных отношений практически не уделяется должного внимания. Исключение составляют исследования В. Н. Гурина и А. В. Гурина, где на моделях функционирования автономных «центров терморегуляции» подробно изучается роль интернейронов в координации и перекрестном торможении нервных клеток, участвующих в регуляции теплопродукции и теплоотдачи; подвергнуто анализу взаимодействие прямых (возбуждающих, тормозящих) и интегрированных влияний при обеспечении температурного баланса в организме в целом и др. Кроме того, получены данные о селективном влиянии различных биологически активных веществ на установление разнообразных комбинаций и функциональных взаимоотношений нервных клеток «центров терморегуляции» гипоталамуса. Ряд гипотез, предложенных академиком В. Н. Гуриным спекулятивно применимы также и к процессам преобразования функций первичных биологических мотиваций, наблюдаемых в ходе становления и реализации аддиктивных форм поведения.

При моделировании у животных зависимых форм поведения в виде фиксированного выполнения ими деятельности (навязчивое воспроизведение приобретенного инструментального навыка) мы наблюдали, что в силу своей исходно повышенной чувствительности к нервным и гуморальным воздействиям «пейсмекеры» биологических мотиваций гипоталамуса при их хронической стимуляции (длительное подпороговое электрическое раздражение, многократные микроинъекции психостимулирующих биологически активных соединений и др.) теряли свою исходную специфичность. При этом они включались в интеграцию качественно новых мотивационных состояний по типу «сдвига мотива на цель» [6]. В таких условиях деятельность субъекта начинала предопределяться не столько информационной и/или виртуальной моделью исходного потребного «результата действия» (например, прием пищи или воды), сколько эмоциональным предвосхищением его достижения. На этом экзальтированном (расторможенном) фоне происходили, по-видимому, положительная эмоциональная сверхоценка животными выполнения самих актов достижения цели (инструментальные действия), их сверхактуализация, знаменующие в конечном итоге новое целеполагание в рамках исходной поведенческой активности и, следовательно, формирование новой целенаправленной активности. По-видимому, стабилизация вновь формирующихся мотивационно-подкрепляющих отношений сопровождается сначала сближением, а затем и сращиванием мотивационной и исполнительной частей поведенческих актов. Это реализуется через поведение по типу «здесь и теперь», а также на фоне ощущений эмоционального подъема и переживаний удовлетворения самой процедурой осуществления действий еще недавно выполнявших вспомогательные или оперантные функции.

При моделировании химических форм аддикции (например, устойчивый прием алкоголя или опиатов) исходили также из предположения, что формирование новых мотиваций зависимого поведения возможно не только за счет «приращивания» непосредственно мотивационных функций «пейсмекеров» гипоталамуса в конфликте. Представляется, что при действии эйфоригенных веществ преобразование самого мотивационного звена такой активности осуществляется вторично, а инициальные события происходят за счет первичной модуляции подкрепляющих структур мозга. Тем самым, в нейродинамической структуре исходных биологиче-

ских мотиваций начинает функционировать новый направляющий компонент в виде эмоционального предвосхищения состояния наркотического опьянения (героин, частично алкоголь и др.).

Становление и стабилизация аддиктивных видов поведения и стабилизация их в качестве самостоятельных может иметь временно адаптивное значение, поскольку расширяет спектр мотивационно-обусловленной деятельности субъекта и одновременно обогащает потенциал его индивидуально приобретенных возможностей. Однако постоянная реализация этих видов поведения с целью компенсации напряжения и конфликтов устраняет субъекта активной деятельности, предопределяя лишь его зависимое от вновь приобретенной потребности существование.

Список литературы

1. *Анохин, П. К.* Биология и нейрофизиология условного рефлекса / П. К. Анохин. – М., 1968.
2. *Версмер Л.* // Психол. и лечение зависимого поведения. – М., 2000. – С. 28–55.
3. *Гурин, В. Н.* Терморегуляция и биологически активные вещества крови / В. Н. Гурин, А. В. Гурин. – Минск, 2004.
4. *Котов А. В.* // Психол. журн. – 1999. – Т. 20. – № 6. – С. 62–71.
5. *Котов А. В., Зылов В. Г.* // Вестн. АМН СССР. – 1992. – № 2. – С. 17–21.
6. *Леонтьев, А. Н.* Проблемы развития психики / А. Н. Леонтьев. – М., 1981.
7. *Меннинг, О.* Поведение животных / О. Меннинг. – М., 1982.
8. *Полежаев Е. Ф.* // Психологические механизмы целеобразования. – М., 1977. – С. 233–249.
9. *Симонов, П. В.* Эмоциональный мозг / П. В. Симонов. – М., 1981.
10. *Судаков, К. В.* Биологические мотивации / К. В. Судаков. – М., 1971.
11. *Ухтомский, А. А.* Доминанта / А. А. Ухтомский. – СПб., 2002.
12. *Шабанов П. Д.* Нейробиология подкрепляющих систем мозга / Актовая речь на VIII Научной конференции ИМО Нов-ГУ. – Великий Новгород, 2001.

МЕДИАТОРЫ ИММУННОГО ОТВЕТА В НЕЙРОНАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМАХ СТРЕССОРНОЙ РЕАКЦИИ

А. Н. Кравцов

НИИ нормальной физиологии им. П. К. Анохина РАМН,
Москва, Россия

В мировом научном физиологическом сообществе широко известны работы Валерия Николаевича Гурина в области терморегуляции. В последние годы он интенсивно изучал роль цитокинов в центральных механизмах термогенеза. Эти исследования, имеющие важное фундаментальное и практическое значение, проводились и в рамках Международного российско-белорусского проекта «Изучение роли цитокинов в механизмах эмоциональных состояний», поддержанного Фондами фундаментальных исследований обеих стран.

Среди гетерогенного класса цитокинов важная роль в регуляции различных физиологических функций отводится интерлейкинам – полипептидным медиаторам, которые обеспечивают взаимодействие между клетками ЦНС, эндокринной и иммунной системами [2].

Изучение механизмов взаимодействия нервной и иммунной систем и выяснение путей участия сигнальных молекул в центральных механизмах различных биологических мотиваций и эмоций является одной из актуальных задач современной физиологической науки. [3]. Этой проблеме были посвящены и исследования В. Н. Гурина [1].

Известна важная роль интерлейкинов в развитии иммунных процессов. В то же время показано их участие в центральных механизмах различных эмоциональных состояний, включая эмоциональный стресс. Обнаружено, что интерлейкины различными способами действуют на клетки ЦНС. Они могут поступать в ЦНС путем активного или пассивного транспорта из крови, секретироваться глиальными элементами в ответ на антигенное воздействие и, наконец, нейротрансмиттеры могут активировать секрецию в ЦНС как отдельных цитокинов, так и целый их каскад.

Рецепторы к интерлейкину-1 (ИЛ-1), интерлейкину-2 (ИЛ-2), интерлейкину-6 (ИЛ-6) и других находятся в различных структурах головного мозга животных и человека: гипоталамусе, гип-

покампе, коре мозга, мозжечке, таламусе, стриатуме. Наличие на мембране нейрона рецепторов к интерлейкинам свидетельствует о прямом участии цитокинов в интегративной функции нервных клеток.

Особое внимание заслуживают данные о влиянии интерлейкинов на нейромедиаторные механизмы мозга. В экспериментах на животных показано, что внутрижелудочковое введение ИЛ-1 вызывало выраженное увеличение содержания норадреналина, серотонина, триптофана, допамина особенно в стволе мозга и гипоталамусе. Периферическое применение ИЛ-2 инициировало нарастание норадренергического метаболизма в гиппокампе и дофаминергического метаболизма в префронтальной коре, но не сказывалось на обмене серотонина. Кроме того, ИЛ-2 тормозил выброс ацетилхолина в гиппокампе и фронтальной коре, но не в других структурах мозга.

Следует отметить, что в ряде исследований показана однопавленность действия интерлейкинов и стрессорного воздействия на нейрогормональные и поведенческие реакции. Подобно стрессу, влияние ИЛ-1 на мозг выражалось в увеличении выброса моноаминов (особенно в гипоталамусе), кортикотропин-релизин гормона и активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси.

В связи с вышеизложенным целью данной работы являлось изучение эффектов острого эмоционального стрессорного воздействия на характер взаимодействия на нейронах дорсального гиппокампа ИЛ-1 β с СЕМАКСом (синтетический аналог АКТГ₄₋₁₀.)

Материалы и методы. На крысах-самцах линии Вистар (масса 180–250 г) в условиях острого эксперимента (нембуталовый наркоз) проводили регистрацию электрической активности нейронов дорсального гиппокампа и микроионофоретическое (30–90 с током 30 А⁻⁹) подведение 0,1М растворов ИЛ-1 β и СЕМАКСа.

В первой серии изучался характер реакций нейронов на микроионофоретическое (МИФ) подведение ИЛ-1 β или СЕМАКСа в исходном состоянии. Во второй серии исследовали изменение реакций нейронов на эти вещества у крыс, подвергшихся острому стрессорному воздействию путем их помещения на 1 ч в иммобилизационные индивидуальные боксы в положении лежа на спине.

Результаты и обсуждение. При МИФ подведении ИЛ-1 β изменение частоты разрядов наблюдалось у 53,3 % нейронов дорсального гиппокампа из 45-ти изученных. В 9-ти из них происходило

увеличение частоты импульсов, в 15 нейронах – ее торможение. Остальные 46,7 % нервных клеток оказались индифферентными. Как активирующие, так и тормозные реакции на аппликацию развивались с латентным периодом от 25 до 40 с и завершались через 35–60 с после прекращения подачи препарата.

В случае применения СЕМАКСа в той же серии экспериментов, из 45 идентифицированных нейронов дорсального гиппокампа изменения частоты спонтанных разрядов были выявлены в 46,7 % их. Причем в 12-ти имело место нарастание активности, а в 9 – ее угнетение. В остальных 53,3 % нервных клетках частота фиксируемых потенциалов действия сохранялась прежней. Эффект СЕМАКСа в той и другой формах его выражения развертывался со скрытым периодом 20–30 с и прекращался по завершении МИФ препарата (через 25–40 с).

Во второй серии при последовательном приложении ИЛ-1β и СЕМАКСа к дорсальному гиппокампу животных, находившихся вне стрессовой ситуации, отреагировало 60 % нейронов. Из них в 15 – частота разрядов нарастала, а в 12-ти – редуцировалась. В 40,0 % нервных клеток такая комбинация осталась безответной.

Из 12-ти клеток, исходно отреагировавших на СЕМАКС активацией, на фоне предварительной обработки ИЛ-1β в 9-ти эта реакция сохранялась, а в 3-х – исчезала. В то же время у всех 9-ти нейронов, исходно отвечавших на СЕМАКС торможением, эта реакция сохранилась. Из 24-х клеток, изначально не отвечавших на СЕМАКС, в присутствии ИЛ-1β у 9-ти появилась реакция в форме активации (4 клетки) и торможения (5 клеток). 15 нейронов по-прежнему не отвечали на подведение СЕМАКСа. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что ИЛ-1β изменяет исходный тип реакции на СЕМАКС у 12-ти (26,7 %) изученных нейронов дорсального гиппокампа.

В третьей серии опытов на крысах, подвергшихся острому эмоциональному воздействию, было изучено 42 нейрона дорсального гиппокампа. При подведении к ним только ИЛ-1β изменение частоты разрядов наблюдалось в 64,3 % клеток из 42-х изученных, причем в 9-ти происходило увеличение частоты импульсации, а в 18-ти – торможение. Остальные 35,7 % оказались индифферентными.

Из тех же 42-х нейронов, ответивших на приложение СЕМАКСа, изменения частоты импульсации наблюдалось у 50,0 %. Из

их числа в 15-ти регистрировалось повышение импульсации, а в 6-ти – ее подавление.

При подведении СЕМАКСа на фоне предшествующего при-
менения ИЛ-1 β альтерацией своей биоэлектрической активности
ответили 27 (64,3 %). Из них 21 – повышением частоты потенциа-
лов действия, а 6 – ее торможением. Остальные 15 клеток (35,7 %)
продемонстрировали свою индифферентность.

Из 15-ти нейронов, исходно отвечавших на СЕМАКС актива-
цией, на фоне подведения ИЛ-1 β в 12-ти эта реакция сохранилась,
и только 3 нейрона перестали отвечать на это вещество. В той же
ситуации во всех 6 нейронах, исходно отвечавших на СЕМАКС
торможением, эта реакция сохранялась. Из 21 клетки, исходно не
отгвечавших на СЕМАКС, на фоне действия ИЛ-1 β в 9-х появилась
реакция активации, но 15 нейронов по-прежнему не отвечали на
СЕМАКС. Таким образом, ИЛ-1 β изменил исходный тип реакции
на СЕМАКС у 15-ти (35,7 %) изученных нейронов дорсального
гиппокампа.

Представленные результаты показали, что микроионофорети-
ческое подведение как ИЛ-1 β , так и СЕМАКСа оказывает влияние
на фоновую импульсную активность отдельных нейронов дорсаль-
ного гиппокампа у крыс линии Вистар. При этом как в исходном
состоянии животных, так и при остром эмоциональном воздей-
ствии на них ИЛ-1 β выступает в роли модулятора характера отве-
тов нейронов дорсального гиппокампа на микроионофоретическое
подведение СЕМАКСа. Обращает на себя внимание тот факт, что
такое его действие преимущественно сказывается на нейронах, из-
начально не реагирующих на СЕМАКС.

Однако полученные нами факты не позволяют утверждать,
что описанный модулирующий эффект ИЛ-1 β на чувствитель-
ность нейронов к СЕМАКСу связан только с его прямым влиянием
на нейроны дорсального гиппокампа мозга крыс. Не исключено
включение в него и глиальных элементов, расположенных в зоне
действия микроионофоретически подводимых веществ.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ №
06-04-81041-Бел_а.

Список литературы

1. *Гурин, В. Н.* Терморегуляция и биологически активные вещества крови /
В. Н. Гурин, А. В. Гурин. – Минск, 2004.

2. Пальцев, М. А. Межклеточные взаимодействия / М. А. Пальцев, А. А. Иванов. – М., 1995.

3. Судаков К. В. // Иммунология. – 2003. – Т. 24. – № 6. – С. 372–381.

НЕКОТОРЫЕ АКТУАЛЬНЫЕ ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБОБЩЕНИЯ И РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОЦЕНКЕ ВЛИЯНИЯ РАДИАЦИОННОГО ФАКТОРА НА ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА

В.А. Матюхин, А.Н. Разумов

Российский научный Центр восстановительной медицины
и курортологии, Москва, Россия

В исследованиях жизнедеятельности современного человека в измененной среде обитания и разработке способов минимизации отрицательного влияния экстремальных и техногенных экологических факторов на организм приоритеты следует отдавать изучению эколого-физиологических механизмов адаптации к природным и техногенным факторам, включая и радиационное неблагоприятное окружение. При этом основные задачи фундаментальных и научно-практических исследований можно сформулировать следующим образом:

Разработка способов нормирования и оценки действующих природных и антропогенных факторов для нужд восстановительной медицины и курортологии, а также для создания систем жизнеобеспечения (СЖО) в районах с неблагоприятным радиационным окружением, включая и аномальные по радиационному фактору курортные зоны.

Оценка содержания радионуклидов естественного и техногенного происхождения в организме человека.

Разработка представленной об организменной региональной радиационной эндоэкологической «норме». При этом целесообразно постоянно проследивать связь радионуклидного состава и миграционных свойств отдельных радионуклидов по трем главным направлениям:

Среда (космос, биосфера и ее составные звенья – атмосфера, почва, растения, животный мир).

Организм (его функциональный статус, эндоэкологический радионуклидный «портрет»), т. е. наличие в организме различных

радионуклидов естественного и антропогенного происхождения).

Радионуклидные и радиационные контакты (кратковременные и хронические) и ответные реакции организма, а также некоторые моменты медико-биологического мониторинга и оценки состояния здоровья возможных контрмер в интересах профилактической (восстановительной) медицины.

Следует напомнить, что территория России, Беларуси и других стран северного полушария еще до Чернобыльской катастрофы была значительно загрязнена многочисленными радионуклидами от глобальных выпадений осадков при взрывах ядерных бомб, различных авариях, нарушениях регламентов обращения с радиоактивными веществами.

По данным Научного комитета по действию радиации (НКДАР) ООН в период с 1945 г. по 1963 г. в атмосфере Земли взорвано 360 ядерных устройств различного типа суммарной мощностью 513 Мт. И в наши дни на территории Российской Федерации и стран СНГ отмечаются три важнейшие зоны радиоактивного загрязнения среды: вокруг Челябинска, Чернобыльской АЭС и островов архипелага Новая Земля.

Отсутствие «радиационно-благополучных» территорий в странах северного полушария и странах СНГ выдвинуло перед наукой глобальную задачу – создание Кодекса основополагающих правил и положений, которые следует соблюдать, чтобы выжить в среде, которую так «сильно испортили» и которая, даже если мы введем мораторий на все формы возможного загрязнения радионуклидами, еще многие годы будет требовать нашего пристального внимания. Некоторые территории РФ и стран СНГ, подвергшиеся значительному радиоактивному загрязнению, остаются неблагоприятными для жизнедеятельности людей. По прогнозам Росгидромета территории с плотностью загрязнения свыше 40 Ки/кв.км будут отмечаться до 2049 г., свыше 15 Ки/кв.км – до 2092 г., свыше 5Ки/кв.км – до 2139 г.

Применительно к пострadiационным ситуациям предлагается на определенных территориях создавать автономные (оазисного типа) системы жизнеобеспечения (СЖО) и специальные системы восстановительной медицины и курортологии. Под СЖО в данном случае подразумевается комплекс научных, научно-прикладных и практических мероприятий, которые позволят минимизировать радиационные воздействия на население и будет обеспечивать его

жизнедеятельность в оптимальном режиме радиационной безопасности. Здесь в первую очередь подразумевается выполнение следующих основных направлений работ.

– регламенты жизнедеятельности человека («маршруты здоровья», эндо-экологический радионуклидный контроль, радиационные «портреты» семей и т. п.);

– регламенты дополнительных мероприятий по защите, включая определение зон радиационной разгрузки для определенных категорий населения;

– оценка и уточнение региональной нормы радиационной нагрузки и прогноза предела годовой дозы на человека в конкретном пункте с целью определения «радионуклидного экологического резерва организма человека»;

– мероприятия по активному изъятию радионуклидов из объектов внешней среды и живых организмов;

– осуществление других мероприятий, рекомендуемых нормами радиационной безопасности НРБ-96 и Федерального закона РФ «О радиационной безопасности населения».

В связи с этим на первый план в наши дни выходит *проблема разработки и внедрения принципиально новой системы мер профилактики и восстановительных реабилитационных мероприятий для широких кругов населения, проживающих в условиях неблагоприятного радиационного окружения и длительных радиационных контактов.*

Особое внимание уделяется группам «радиационного риска» (дети и др.) и подготовке предложений по профилактике и коррекции нарушений здоровья в условиях техногенно-измененной окружающей радиационной среды. При этом основными задачами на ближайшие годы следует считать:

1. Изучение динамики радионуклидного состава организма жителей различных регионов РБ и РФ до и после Чернобыля. Возрастные, сезонные и суточные колебания содержания радионуклидов в организме человека, их закономерности, нормативы и научные принципы оценки проявления гормезиса и радиационных десинхронозов для нужд восстановительной медицины (проблемы радона и других естественных радионуклидов).

2. Выяснение особенностей действия современных экосистем, реабилитация и оздоровление людей, проживающих на экологически неблагоприятных территориях.

3. Оценку содержания радионуклидов естественного происхождения в организме человека (проблема радиационной экоэкологической нормы).

4. Изучение проявлений радиационного гормезиса с целью оценки радиационного экологического резерва организма (радиационной экологической «нормы») для лиц, проживающих в аномальных по радиационному фактору природных (типа Белокураха) и техногенных (типа Кыштыма, Чернобыля) зонах. Разработка научных рекомендаций по созданию щадящих систем жизнеобеспечения (СЖО) и регламентов реабилитации для населения указанных территорий.

Здесь уместно напомнить, что внутренние дозовые нагрузки и «насыщение» организма радионуклидами складывается из составляющих: естественные (природные) и искусственные (техногенные) радионуклиды. Сегодня учитывается и нормируется в основном только техногенное радионуклидное загрязнение живых организмов (^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{131}I и др.) В то же время считается, что все естественные радионуклиды, насыщающие повседневно живые организмы (например, Rn, Th, ^{40}K , ^{14}C , тритий и т. п.) могут характеризовать природную «норму» и не учитываться при оценке функционального радиационного статуса организма. Это в принципе неверное утверждение, дозовый эффект и, следовательно, состояние организма зависит от комплексного воздействия как естественных, так и техногенных радионуклидов.

Анализ до- и после чернобыльской ситуации, многолетние собственные исследования этой проблемы, изучение доступной мировой и отечественной литературы позволяют утверждать, что экологическое загрязнение внешней среды техногенными радионуклидами отражается на состоянии экоэкологического «портрета» организма и может приводить к изменению физиологических и радионуклидных констант в организме. Это касается как техногенных, так и естественных радионуклидов.

Разработка этой проблемы взаимоотношения естественных и искусственных радионуклидов в организме на материалах до- и после чернобыльских наблюдений и выработка некоторых физиологических констант (нормативов) радионуклидного статуса организма по естественным и искусственным радионуклидам в различных условиях жизнедеятельности и составляет важную задачу при оценке здоровья населения. Это имеет также фундаментальное и

прикладное значение (разработка проблемы радиационного резерва организма при диспансеризации населения) и практическую значимость (регламенты жизнедеятельности человека на загрязненных территориях).

В наши дни облучение от естественного радиационного фона (Е.Р.Ф.) начинает рассматриваться как составная часть общей лучевой нагрузки. В некоторых государствах, в том числе и в РФ, принят ряд нормативов, лимитирующих содержание тяжелых естественных радионуклидов (уран-238, радий-226 и др.). Это касается в основном строительных материалов и минеральных удобрений. Однако в настоящее время еще отсутствуют официально признанные принципы радиационно-гигиенического и эколого-физиологического нормирования техногенно-измененного Е.Р.Ф.

По современным регламентам предлагается включать величины Е.Р.Ф., техногенно-усиленного (аварийного) фона, а также медицинской радиационной «надбавки» за счет рентгенодиагностических и изотопных обследований в величину основного (1 мЗв) и вспомогательного (1 мЗв) предела годовой дозовой нагрузки, т.е. 2 мЗв на человека. Однако есть доказательные материалы о том, что только за счет природных источников средняя мощность дозы на каждого жителя Земли составляет 2,4 мЗв/год. К примеру, по данным Национальной комиссии по радиационной защите Великобритании в 17 странах Европейского сообщества эффективная эквивалентная доза от Е.Р.Ф. колеблется в интервале 2–7 мЗв/год (в Финляндии – 7 мЗв, Франции – 5 мЗв, Великобритании – 2 мЗв/год и т. д.) Различен Е.Р.Ф. и в разных регионах России, в частности, в Сибири, на Дальнем Востоке, Алтае (аномальный Е.Р.Ф. в Белокурихе) и других местах. Кроме того, существуют техногенно-загрязненные территории в результате радиационных аварий и катастроф (Кыштым, Чернобыль и др.).

Следовательно, встает вопрос о том, что для каждой территории должны создаваться свои адекватные региональные системы жизнеобеспечения (СЖО), которые в основе должны иметь следующие базовые компоненты: уточнение региональной нормы Е.Р.Ф., расчет предела годовой дозы облучения для критических групп населения (дети, беременные женщины и др.), разработку конкретных дополнительных мероприятий для населения и выработку научно-обоснованных регламентов жизнедеятельности человека в данной экологической ситуации. Все это должно лечь в основу структур

восстановительной медицины, эколого-физиологического обоснования необходимых действий по минимизации дозовых нагрузок и проведения комплексных реабилитационных мероприятий.

Без знания этих «региональных норм», специфики определенной экологической территории, многолетних, сезонных и суточных колебаний составных частей Е.Р.Ф. и прогнозных оценок указанной динамики, невозможно правильно оценивать дозовые нагрузки населения, а также осуществлять научно-обоснованные регламенты и организационные мероприятия восстановительной медицины.

Список литературы

1. Матюхин В. А. [и др.] // Вестник РАМН. – 1997. – № 4. – С. 49–52.
2. Матюхин, В. А. Экологическая физиология человека и восстановительная медицина / В. А. Матюхин, А. Н. Разумов. – М., 1999.
3. Матюхин, В. А. Экологическая физиология и радиационный фактор / В. А. Матюхин, А. Н. Разумов. – М., 2003.
4. Матюхин В. А., Разумов А. Н. // Научные основы восстановительной медицины. Здоровье здорового человека. – М., 2007. – С. 215–224.
5. Матюхин В. А., Разумов А. Н. // Научные основы восстановительной медицины. Здоровье здорового человека. – М., 2007. – С. 225–234.

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ ПРОТЕАЗ НА СИСТЕМНЫЕ ФУНКЦИИ ОРГАНИЗМА

Г. П. Миронова¹, В. П. Голубович², Л. М. Чемитова²

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Системные функции организма многообразны, но среди них можно выделить те, которые связаны с процессами запоминания, выработки условных рефлексов и организации поведения [1]. Множество факторов способны оказать влияние на эти процессы. Среди них слабо изучено влияние протеаз и их ингибиторов на выработку условных рефлексов. Вместе с тем содержание протеаз и их ингибиторов в пищевых продуктах, биодобавках, лекарственных препаратах поднимает вопрос об их воздействии на процессы запоминания, условные рефлексы у людей и животных [2; 3].

В связи с этим цель работы – изучение влияния ингибитора эластазы и овомина на выработку, воспроизведение и сохранность рефлекса избегания у крыс в челночной камере.

Материалы и методы. Объектом исследования были белые крысы-самцы ($n = 30$) массой 250–270 г. Всего проведено две серии экспериментов по 15 особей в каждой. В качестве модели обучения с отрицательным подкреплением использовали тест выработки условного рефлекса избегания по методике Буреша и Бурешовой [1], которая широко используется в физиологии для анализа процессов запоминания у животных. Рефлекс вырабатывали в челночной камере, состоящей из двух разных по площади отсеков (большого и малого). Перед началом экспериментов всех животных в течение 4–5 дней приучали к экспериментальным условиям: крысы в течение 10–15 минут свободно бегали по камере, обнюхивая пол, стенки (ориентировочный рефлекс «что такое?») по И. П. Павлову).

В первой серии экспериментов после угасания ориентировочного рефлекса проводили обучение животных в течение 3–5 дней в процессе сочетаний по 5–6 раз условного сигнала (включение света в большом отсеке и открытие дверцы в малый отсек) с безусловным раздражителем (подача в течение 1 с электрического стимула 0,02–0,08 мА на пол большой камеры). Максимальное время нахождения крыс в челночной камере составляло 1,5–2 ч в день.

В этой серии опытов исследовали поведение животных после интраназального введения ингибитора эластазы с активным центром (Thr-Arg-Val-Val). Опытный образец был предоставлен в рамках договора с ИБОХ НАНБ профессором В. П. Голубовичем [4]. 1 мг вещества (мелкокристаллический порошок) растворяли в 5 мл смеси, состоящей из 0,5 мл бензилового спирта и 4,5 мл цереброспинальной жидкости. Полученный композит вводили экспериментальным животным интраназально (по 20 мкл) в оба носовых прохода с помощью пипетки, а контрольным животным – эквивалентное количество растворителя.

В день опыта крыс помещали в челночную камеру по одной. У них регистрировали время нахождения в отсеках, уровень двигательной активности и груминга, количество «выглядываний» (из малого отсека в большой) и выходов в большой отсек. После попадания животного в большой отсек, дверцу, ведущую в малый закрывали на 5–6 мин. После этого включался свет и фактически мгновенно открывались дверцы, затем следовал удар электрическим током лапок крысы и после ее перемещения из большого в малый отсек фиксировали латентный период реакции (ЛП). Ин-

гибитор эластазы вводили животным, у которых с трудом вырабатывался условный рефлекс избегания на ноцицептивный стимул. Таким крысам (4 крысы) за 20 мин до высадки в челночную камеру интраназально (20 мкл в оба носовых прохода) вводили ингибитор эластазы, после чего проводили наблюдение за поведением животных и их реакцией на ноцицептивный стимул.

Во второй серии опытов по изучению влияния овомина (раствор для инъекций 12 000 АТЕ/мл, РУП «Белмедпрепараты») на условную реакцию избегания методика несколько отличалась от предыдущей серии опытов. В день выработки условного рефлекса вначале крысу помещали в челночную камеру на 5 мин, где она свободно бегала из одного отсека в другой при выключенном свете. После захода ее в один из отсеков дверцу закрывали на 2 мин. Затем включался свет с последующим открыванием дверцы в соседний отсек. Если животное не убежало сразу, то через 10 с следовал удар электрическим током (0,08-0,1 мА, 1–2 с) через пол камеры на лапки крысы, и после ее перехода в соседний темный отсек фиксировался ЛП реакции. За один сеанс крыса переходила из одного отсека в другой 10–12 раз. Общее время нахождения ее в челночной камере составляло 5–40 мин. Животных, у которых отмечалось 80 % воспроизведение реакции избегания на предлагаемый стимул (включение света и открывание дверцы), т. е. вырабатывался условный рефлекс, отбирали для введения препарата.

В день основного эксперимента у животного измеряли ЛП реакции избегания, затем его высаживали из челночной камеры, вводили: овомин (интраназально 15–20 мкл, раствора, содержащего 1,0 АТЕ) и через 20 мин снова помещали в челночную камеру и устанавливали ЛП реакции. Контролем служили животные, которым инъецировали эквивалентное количество растворителя. Определение ЛП реакции избегания у крыс контрольной и опытной групп проводили на следующий день после введения препарата, а затем за 3, 7, 14, 20 и 30 сутки, чтобы проследить сохранность условного рефлекса во времени без отрицательного подкрепления.

Статистические отличия показателей до и после введения препаратов у контрольной и опытной групп оценивали с помощью программы ANOVA с применением *t*-критерия Стьюдента. Для построения графиков использовали программу «*Origin-6,1*».

Результаты и обсуждение. В первой серии экспериментов по изучению влияния ингибитора эластазы в процессе обучения

животных выделены три группы. В 1-й группе (2 крысы) быстро обучающихся животных четко воспроизводился безусловный рефлекс убегания на электрический стимул, а после второго предъявления они уже реагировали только на условный сигнал (свет), т. е. быстро сформировался условный рефлекс с коротким латентным периодом (2–3 с) перехода из большого отсека (опасного) в малый (безопасный) отсек. Во второй группе животных, которых было большинство (10–11 крыс), образование условного рефлекса осуществлялось медленнее и сложнее, необходимо было неоднократно (4–5 раз) повторять высадку в челночную камеру для обучения. Третью группу составляли крысы ($n = 2$), которые после первого удара током теряли ориентацию, пытались выпрыгнуть из камеры, хотя при этом была открыта дверца в малый темный отсек. Их исключили из эксперимента.

Интраназальное введение ингибитора эластазы крысам второй группы (4 особи), которые до этого поддавались обучению с трудом, привело к увеличению примерно в три раза количества самостоятельных выходов в большой отсек (за 1,5–2 часа – 15 побегов), числу «выглядываний» из малого отсека в большой и груминга, а также снижению уровня тревожности. Животные быстро реагировали на включение света (ЛП = $2,0 \pm 0,1$ с) и быстро убегали на электрический стимул в малый отсек. До введения препарата у них за 3 дня наблюдения было всего 5–6 выходов в большой отсек (ЛП = $5,0 \pm 0,1$ с), а после получения электрического стимула крыса убегала в малый отсек и сидела там подолгу (60–65 мин), не выходя в большой отсек даже при предъявлении пищи. Таким образом, обработка крыс ингибитором эластазы сопровождалось увеличением их двигательной активности. Это выразалось в увеличении почти в три раза количества самостоятельных выходов в большой отсек, снижении уровня тревожности и уменьшении (с 5 до 2 с) времени перемещения из большого отсека в малый на ноцицептивный стимул.

Анализ влияния овомина на воспроизведение и сохранность условной реакции избегания показал, что у крыс ЛП реакции избегания на ноцицептивное раздражение при переходе из малого отсека челночной камеры в большой колебался от $2,1 \pm 0,18$ до $4,7 \pm 0,3$ с, а в обратном направлении от $3,6 \pm 0,3$ до $4,5 \pm 0,3$ с. Итак, различий в величинах ЛП у крыс при переходе из малого отсека в большой и наоборот не обнаружено. В день опыта по-

сле интраназального введения овомина у контрольных и у опытных животных (через 20-25 мин) ЛП реакций избегания на ноцицептивный стимул увеличивался по отношению к исходному фону (на 64,7–76,4 % соответственно), что могло быть результатом действия раствора, из-за которого и происходила некоторая «сбивка» рефлекса. Через 2–3 дня наблюдения после введения овомина наблюдалась тенденция к снижению ЛП реакции по отношению к фону, а к 20–30-му дню этот показатель был достоверно ниже (30,5–44,5 %, $P < 0,05$), чем до применения препарата. У контрольных животных, напротив, отмечена противоположная реакция, выражающаяся в удлинении ЛП реакции избегания (особенно при переходе из малого отсека челночной камеры в большой) на 3, 7, 14, 20 и 30-е сутки исследования.

Следовательно, у контрольных животных, начиная с 20-го дня, наблюдалось торможение выработанного условного рефлекса.

Представленные результаты свидетельствуют о том, что однократное введение овомина способствует ускорению ответной реакции крыс на условный сигнал (включение света и открывание дверцы) и более длительной (по сравнению с контрольными особями) сохранности выработанного условного рефлекса. Учитывая, что препарат применяют в клинике для лечения многих заболеваний у человека и улучшения состояния после операций [5], полученные в опытах данные дополнительно расширяют представления о свойствах овомина. В частности, это касается возможного его использования в качестве нового средства, улучшающего процессы запоминания, поскольку овомин относят к классу ингибиторов сериновых протеаз, которые входят в состав лекарственных препаратов, улучшающих память, например таких, как церебролизин [3].

Список литературы

1. Буреш, Я. Методы и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. Р. Хьюстон. – М., 1991.
2. Гурин В. Н., Сандаков Д. Б., Гурин А. В. // Физиология человека. – 1999. – Т. 25. – № 1. – С. 71–77.
3. Кудрин А. В., Громова О. А. // Межд. мед. журн. – 2001. – № 4. – С. 327–331.
4. Голубович В. М. // Протеолиз, механизмы его регуляции и роль в физиологии патологии клетки: тез. докл. – Минск, 2007. – С. 44–45.
5. Гапанович В. Н., Расюк Е. Д., Бычко Г. Н. // Бел. мед. журн. – 2004. – № 4. – С. 41–44.

ИЗМЕНЕНИЕ АФФЕРЕНТНОЙ ИМПУЛЬСАЦИИ СОМАТИЧЕСКОГО НЕРВА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ УЛЬТРАЗВУКА

И. Л. Морозова, А. Ю. Нежута, В. С. Улащик

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Ультразвуковая терапия – это применение с лечебно-профилактической целью механических колебаний ультравысокой частоты, преимущественно в диапазоне от 0,8 до 3 МГц. Ультразвук (УЗ) поглощается тканями неравномерно: чем выше акустическая плотность, тем меньше поглощение. На величину поглощения энергии ультразвуковых волн оказывает влияние и функциональное состояние органов или тканей.

Действие УЗ в зависимости от его интенсивности может быть повреждающим, угнетающим или стимулирующим. Многочисленные экспериментальные и клинические данные показывают, что УЗ в малых дозах (0,1–0,2 Вт/см²), особенно при импульсном режиме, активирует репаративные процессы в тканях. Получены также данные об иммунокорректирующих эффектах УЗ, которые дополняют противовоспалительное и репарирующее его действие [1–4,6]. УЗ, особенно низкочастотный, вызывает выраженный бактериостатический и бактерицидный эффект, усиливает влияние многих антибиотиков и антисептиков [1; 5]. Известно, что при поглощении УЗ-энергии тканями происходит ее преобразование в тепловую, что предопределяет дополнительный фактор воздействия при фонотерапии.

Формирующиеся под влиянием УЗ сложные изменения на тканевом и эндокринном уровнях, в свою очередь, координируются высшими отделами центральной нервной системы. Нервная система отличается высокой чувствительностью к УЗ. УЗ-волны низкой интенсивности (0,2–0,4 Вт/см²) способствуют регенерации поврежденного нерва, а УЗ более высокой интенсивности по-разному действует на скорость проведения нервных импульсов. Изменение функционального состояния периферического нерва играет важную роль в формировании рефлекторного механизма действия фактора.

Целью представленной работы – выявление особенностей изменений афферентной импульсации в подкожном нерве бедра кры-

сы при действии УЗ различных параметров в норме и при локальном воспалении.

Материалы и методы. Для проведения УЗ-воздействия использовали аппарат «Megasonic MS-100» (Польша), предусматривающий работу в непрерывном и импульсном режимах. Применяемая нами частота следования импульсов составляла 25, 50 и 100 Гц. Частота ультразвука равнялась 1 МГц, интенсивность озвучивания составляла 0,5 Вт/см², а длительность процедуры – 5 мин. Использовалась стабильная методика воздействия: излучатель устанавливали неподвижно над тыльной поверхностью стопы задней конечности или зоны локального воспаления, вызываемого подкожным введением 10 мкг липополисахарида (ЛПС, эндотоксин) *Escherichia coli* в объеме 0,1 мл. После удаления волосяного покрова для обеспечения безвоздушного контакта между вибратором и кожей использовали вазелин. Афферентную импульсацию регистрировали с помощью компьютеризированной электрофизиологической установки, созданной в Институте физиологии НАН Беларуси.

Результаты и обсуждение. Озвучивание ультразвуком с частотой модуляции 25 Гц, интенсивностью 0,5 Вт/см² в течение 5 мин кожной поверхности стопы задней конечности крысы приводило сразу после прекращения воздействия к достоверно выраженному (на $23,0 \pm 4,2$ % в среднем по отношению к фоновому уровню, $P < 0,05$) понижению частоты афферентной импульсации в волокнах *n.saphenus* (как показано на рис., А).

Увеличение частоты модуляции до 50 Гц при неизменных других параметрах озвучивания сопровождалось более глубоким и пролонгированным угнетением активности афферентных волокон указанного нерва. Реакция достигала максимума через 55–60 мин после прекращения озвучивания, когда частота разрядов в афферентных волокнах снижалась в среднем на $35,2 \pm 4,3$ % по сравнению с уровнем фона (рис., А).

Дальнейшее увеличение частоты модуляции (до 100 Гц) вызывало в ряде опытов инверсию направленности наблюдаемых эффектов в сторону увеличения частоты центростремительной импульсации (1, А). Изменение направленности реакции афферентных волокон исследуемого нерва с тормозной на активирующую, вероятно, может быть обусловлено сенсibilизацией рецепторных структур кожи.

Известно, что выраженность эффектов действия ультразвука на электрическую активность нервов зависит от функционального состояния ткани в зоне озвучивания [1]. Любое воздействие именно на рецепторные структуры кожи должно сопровождаться соответствующими изменениями, определяющими формирование паттерна ответа афферентных волокон. Исходя из этого нами в дальнейших экспериментах воздействие УЗ проводилось на фоне асептического воспаления, предварительно вызванного подкожным введением ЛПС. Озвучивание проводили в течение 5 мин, используя следующие параметры: частота модуляции 50 Гц, 0,5 Вт/см².

На рис. видно, что введение указанного эндотоксина в дозе 10 мкг под кожу стопы задней конечности крысы существенно (в среднем на $75,1 \pm 5,4\%$) повышало частоту афферентной импульсации, эффект сохранялся более часа. Воздействие УЗ на этом фоне сопровождалось постепенным понижением активности афферентных волокон в течение последующих 60-ти минут (в среднем на $21,0 \pm 2,9\%$) (рис. Б).

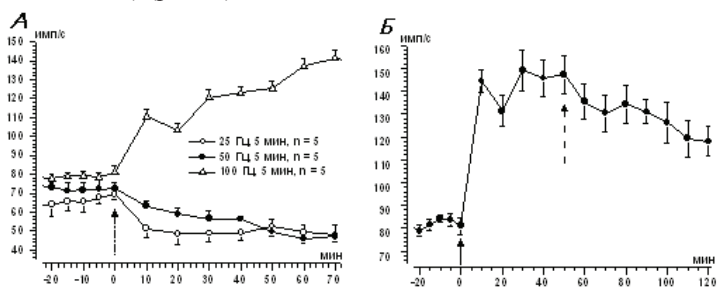


Рис. Изменения частоты афферентной импульсации в n.saphenus: (А) – до и после воздействия ультразвуком с различной частотой модуляции в течение 5-ти мин; (Б) – до и после воздействия ультразвука с частотой модуляции 50 Гц в течение 5-ти минут на фоне предварительной (за 50 мин) подкожной инъекции ЛПС в область озвучивания (n = 5, P < 0,05). Стрелкой указан момент введения эндотоксина, а пунктирной стрелкой – период работы УЗ-аппарата

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что под влиянием ультразвука частотой модуляции 25 и 50 Гц происходит угнетение афферентной импульсации в нервных волокнах, идущих от рецептивного поля, подвергающегося УЗ-воздействию. При озвучивании тканей как в условиях отсутствия патологического процесса, так и при имеющейся патологии снижение частоты афферентной импульсации нерва, связанное, вероятно, с измене-

нием чувствительности кожных рецепторов, позволяет предположить, что УЗ участвует в модуляции ноцицептивных сигналов.

Список литературы

1. Улащик, В. С. Общая физиотерапия / В. С. Улащик, И. В. Лукомский. – Минск, 2003.
2. Руководство по физиотерапии и физиопрофилактике детских заболеваний / под ред. А. Н. Обросова, Т. В. Карачевцевой. – М., 1987.
3. Зубкова С. М. // Физиотер., бальнеол. и реабил. – 2005. – № 3. С. 3–7.
4. Сперанский, А. П. Биофизические и клинические основы применения ультразвука / А. П. Сперанский. – М., 1976.
5. Улащик В. С. // Вопр. курортол. – 2000. – № 6. – С. 3–8.
6. Зубкова С.М. [и др.] // Вопр. курортол. – 1998. – № 6. – С. 11–16.

БЛОКАДА ФУНКЦИИ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-АДРЕНОКОРТИКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ УСУГУБЛЯЕТ ЯЗВООБРАЗОВАНИЕ В ЖЕЛУДКЕ У КРЫС

О. Ю. Морозова, Т. Р. Багаева, Л. П. Филаретова

Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

Традиционной считается точка зрения, согласно которой выделяющиеся при стрессе глюкокортикоиды способствуют повреждению слизистой оболочки желудка, т. е. являются язвобразующими гормонами. В ее основе лежат главным образом данные об язвобразующем действии экзогенных глюкокортикоидных гормонов, которые используются в фармакологических дозах. В противоположность общепринятым представлениям в нашей лаборатории отстаивается позиция, по которой глюкокортикоиды, продуцирующиеся при активации гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы (ГПАКС), напротив, обеспечивают поддержание целостности слизистой оболочки желудка, т. е. являются гастропротективными [1–5]. Такое их влияние было продемонстрировано при многих язвобразующих влияниях с помощью различных манипуляций с ГПАКС, приводящих к недостаточной продукции глюкокортикоидов или блокаде глюкокортикоидных рецепторов. Кроме того, в лаборатории было показано, что одной из причин язвобразующего действия экзогенных глюкокортикоидов, используемых в фармакологических дозах, может также являться их ослабленное

производство, возникающее в результате выключения функции ГГАКС в этих условиях. В наших предыдущих работах это было документировано лишь в условиях образования эрозий, возникающих при стрессе.

Известно, что нестероидные противовоспалительные препараты обладают побочным ulcerогенным действием на слизистую оболочку желудка, и что одновременная терапия глюкокортикоидами, используемыми в фармакологических дозах, может усугублять это действие. В настоящей работе мы проверяли предположение о том, что одной из причин усугубляющего действия глюкокортикоидной терапии на образование эрозий, вызванных индометацином (нестероидным противовоспалительным препаратом), может являться недостаточная продукция глюкокортикоидных гормонов, возникающая в результате блокады функции ГГАКС в этих условиях.

Материалы и методы. Эксперименты проводили на крысах-самцах линии Спрейг-Доули массой около 250 г, содержащихся в стандартных условиях: (при 19–21 °С, включение света в 8 ч, выключение – в 20 ч, свободный доступ к воде и пище). В ходе экспериментов животных лишали пищи за 24 ч до приложения ulcerогенного стимула.

В работе решали две задачи: 1) изучить влияние недостаточной продукции глюкокортикоидов, вызванной блокадой функции ГГАКС после введения гидрокортизона в фармакологической дозе (300 мг/кг), на чувствительность слизистой оболочки желудка к ulcerогенному действию индометацина; 2) исследовать естественное восстановление активности ГГАКС после ее фармакологической блокады дозой гидрокортизона (300 мг/кг) и влияние такого восстановления на чувствительность слизистой оболочки желудка к действию ulcerогенного стимула: индометацина, введенного в ulcerогенной дозе (25 мг/кг).

Индометацин инъецировали подкожно в виде суспензии, которую готовили на основе физиологического раствора с добавлением капли Твина 60 (5 мл/кг). Контрольные животные получали растворитель индометацина в том же объеме. Гидрокортизон вводили внутривентрально в фармакологической дозе (300 мг/кг, 2,5 % суспензия, 12 мл/кг) за одну неделю до введения индометацина. Контролем служили крысы, обработанные вместо гормона физиологическим раствором (12 мл/кг).

Пробы крови брали у бодрствующих особей через канюлю, вживленную в яремную вену накануне опыта. Собранные образцы центрифугировали при 4 °С, плазму хранили замороженной до гормонального анализа. Уровень кортикостерона в плазме крови определяли спектрофлуориметрическим микрометодом. Общую площадь всех геморрагических эрозий в слизистой оболочке каждого желудка оценивали после его удаления. Статистический анализ значимости различий уровней глюкокортикоидов проводили на основании t – критерия Стьюдента или его модификации, предложенной Уелшем для случая различающихся дисперсий. Анализ различий в величинах площади эрозий производили по критерию Манна-Уитни, используя программу StatGrathics Plus.

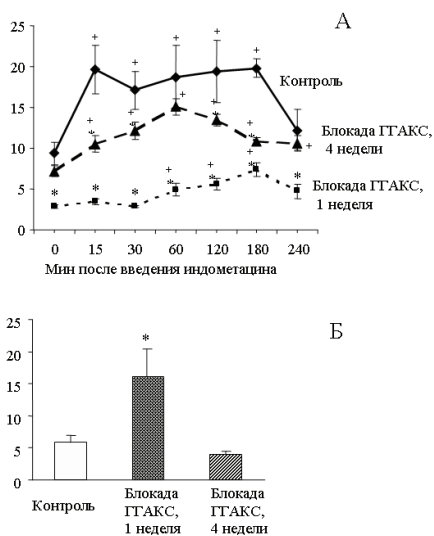


Рис. Влияние восстановления активности гипоталамо-гипофизарной-адренокортикальной системы (Блокада ГТАКС, 4 неделя) после ее фармакологической блокады гидрокортизоном (Блокада ГТАКС, 1 неделя) на язвообразование в желудке, вызванное индометацином.

А – кортикостерон, 100 мкг/100 мл, Б – площадь эрозий, мм².

Для каждой серии n = 6, * – различия достоверны (P < 0.05) по сравнению с контролем, + – различия достоверны (P < 0.05) от базального уровня «0 мин»

Результаты и обсуждение. Введение контрольным крысам индометацина в язвоборной дозе через 4 ч приводило к образованию эрозий в слизистой оболочке желудка со средней площадью

повреждений от 1,5 до 5 мм². Одновременно происходило повышение концентрации кортикостерона в плазме крови по сравнению с его базальным уровнем (рис. А).

Через неделю после инъекции гидрокортизона наблюдалась блокада функции всех звеньев ГТАКС [4] и, как следствие ее, дефицит продукции глюкокортикоидов. Их недостаточность усугубляла ulcerогенное действие индометацина (рис. Б). Средняя площадь эрозий слизистой оболочки желудка в этой ситуации значительно превосходила таковую у контрольных животных (рис. Б).

Результаты экспериментов, проведенных на каниюлированных животных, представленные на рис. А, демонстрируют естественное восстановление активности ГТАКС и позволяют в динамике оценить уровень глюкокортикоидов на ulcerогенный стимул – индометацин в течение четырех часов у особей с различными функциональными состояниями ГТАКС. Контрольные животные отвечали повышенной продукцией кортикостерона в ответ на применение индометацина в течение трех часов, после чего содержание гормона не отличалось от базального ($p > 0.05$), (рис. А). Иная картина наблюдалась у крыс с блокадой ГТАКС. У этих животных фоновый уровень кортикостерона в крови достоверно снижался по сравнению с контрольными крысами ($p > 0.05$), а нормальный ответ ГТАКС на индометацин устранялся (рис. А). Это сопровождалось усугублением образования эрозий (рис. Б). По прошествии 4 недель после выключения ГТАКС наблюдалось восстановление ее деятельности, что выражалось в статистически значимом превышении уровня кортикостерона в крови после введения индометацина над базальным уровнем (рис. А). Реставрации функциональной активности ГТАКС сопутствовало ослабление ulcerации слизистой оболочки желудка. Средняя площадь эрозий у таких животных была достоверно меньше, чем у крыс через неделю после введения гидрокортизона и не отличалась от той, которая наблюдалась у контрольных особей (рис. Б).

Приведенные данные подтверждают наши прежние результаты, полученные в условиях стрессорной модели, и свидетельствуют о том, что выключение деятельности ГТАКС повышает чувствительность слизистой оболочки желудка к ulcerогенным воздействиям. Таким образом, одной из причин усугубляющего действия глюкокортикоидной терапии на образование индуцированных индометацином эрозий может служить недостаточная продукция

глюкокортикоидных гормонов, возникающая вследствие блокады функции ГТАКС в этих условиях.

Работа поддержана грантами РФФИ (07-04-00622), ФНМ–2008; ОБН РАН – 2008. Ведущие научные школы (НШ-1434.2008.4).

Список литературы

1. *Филаретова Л. П.* [и др.] // Рос. физиол. журн. им И. М. Сеченова. – 2002. – Т. 88. – № 5. – С. 602–611.
2. *Filaretova L. P., Bagaeva T. R., Makara G. B.* // Life Sci. – 2002. – Vol. 71. – P. 2457–2468.
3. *Filaretova L. P., Filaretov A. A., Makara G. B.* // Am. J. Physiol. – 1998. – Vol. 274. – № 6. – P. G1024–G1030.
4. *Filaretova L., Podvigina T., Bagaeva T. et al.* // J. Pharmacol. Sci. – 2007. – Vol. 104. – № 3. – P. 195–201.
5. *Filaretova L., Tanaka A., Miyazawa T. et al.* // Am. J. Physiol. – 2002. – Vol. 283. – № 5. – P. G1082–G1089.

ФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

*Н. И. Нечипуренко, А. И. Верес, Т. В. Грибоедова,
Л. А. Тишина, Л. И. Матусевич*

РНПЦ неврологии и нейрохирургии, Минск, Беларусь

В настоящее время в патогенезе многих заболеваний большое значение придается функциональному состоянию эндотелия и связанному с ним синтезу монооксида азота (NO) [1–3]. Базальная продукция NO в эндотелиоцитах в норме играет важную роль в регуляции сосудистого тонуса и артериального давления. Биологически активные вещества, синтезируемые эндотелиальной клеткой, обладают антиадгезивными и антиагрегантными свойствами, препятствуют проникновению в сосудистую стенку холестерина, триглицеридов и липопротеидов низкой плотности, тормозят пролиферацию гладкомышечных клеток сосудистой стенки, а также регулируют гемостатический баланс.

Цель работы – изучить функциональное состояние эндотелия у больных атеросклеротической энцефалопатией посредством проведения теста реактивной гиперемии с помощью ультразвуковой доплерографии (УЗДГ), исследования продуктов метаболизма

оксида азота в крови и уровня циркулирующих эндотелиальных клеток.

Материалы и методы. Обследовано 29 больных с атеросклеротической энцефалопатией I-II стадии в возрасте от 50 до 76 лет, из них УЗДГ и определение содержания продуктов метаболизма NO проведено у 14, изучение уровня эндотелиоцитов – у 15. Из 22 здоровых добровольцев контролем для исследования УЗДГ и содержания NO были 10 и количества эндотелиальных клеток – 12 человек.

Проведено комплексное ультразвуковое обследование: дуплексное сканирование экстракраниальных отделов брахиоцефальных сосудов для определения морфологических изменений артерий и скоростных параметров кровотока. Изучение вазодилатационной функции эндотелия выполнено по реакции плечевой артерии на реактивную гиперемии с помощью линейного датчика 12–3 МГц. Плечевая артерия лоцировалась в продольном сечении на 10–15 см выше локтевого сгиба. Исследование проводилось в триплексном режиме (В-режим, цветное доплеровское картирование потока, спектральный анализ доплеровского сдвига частот) [4]. Образование NO оценивали количественно по суммарному содержанию в плазме крови конечных метаболитов NO – нитритов и нитратов с помощью реактива Грисса [5]. Количество циркулирующих эндотелиальных клеток в плазме крови определяли микроскопически после окраски метиленовым синим во всем объеме камеры Горяева. Суммировали данные, полученные при подсчете 10 проб, и выражали в единицах на 100 мкл плазмы. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 6.0 с определением достоверности по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Установлено, что средний диаметр плечевой артерии у больных с атеросклеротической энцефалопатией был на 24% больше, по сравнению с данными контрольной группы и составил $4,45 \pm 0,22$ мм ($p < 0,05$). Выявлено, что исходная линейная скорость артериального кровотока при энцефалопатии имела тенденцию к повышению сравнительно со здоровыми лицами. Полученные данные свидетельствуют об атеросклеротических изменениях артериальной стенки, ее уплотнении, в результате чего меняется эластичность, податливость к пульсации, что сопровождается увеличением линейной скорости кровотока. У большинства больных при реактивной гиперемии эндотелийзависимая

дилатация составила 4–6%, а у здоровых лиц – 9–15 %. Снижение эндотелийзависимой вазодилатации подтверждается изменением скорости кровотока при проведении функциональных нагрузок. При реактивной гиперемии у здоровых лиц повышение скорости кровотока было на 26,5 % больше, чем у пациентов с атеросклеротической энцефалопатией.

В контрольной группе количество циркулирующих эндотелиоцитов в плазме крови составило $40,6 \pm 11,5 / 100$ мкл. Десквамированные эндотелиальные клетки выглядели следующим образом: целые клетки с ясно различимыми ядерными структурами, безъядерные эндотелиоциты, клетки, подвергающиеся фрагментации и отдельные фрагменты. Иногда наблюдались скопления эндотелиоцитов в виде конгломератов. При атеросклеротической энцефалопатии уровень десквамированных эндотелиоцитов увеличивался до $72,6 \pm 11,3 / 100$ мкл ($P < 0,05$).

Показано, что общее содержание нитритов и нитратов в плазме крови у больных сосудистой энцефалопатией превышало показатели в контрольной группе на 60% ($P = 0,001$).

Известно, что наряду с выполнением вазорелаксирующей функции NO является активным гасителем продуктов свободнорадикального окисления, т. е. он является эффективным антиоксидантом. NO также принимает участие во многих антиатеросклеротических процессах. У больных с атеросклеротической энцефалопатией развивается хроническая ишемия головного мозга, при которой вероятна активация различных изоформ NO-синтаз, что подтверждается данными по повышению суммарного количества нитритов и нитратов в плазме крови. Возрастание содержания нитратов в крови может быть обусловлено и тем, что функцию пострадавшего эндотелия берут на себя интактные эндотелиоциты в других участках сосудистой системы. Однако увеличенный уровень NO не обеспечивает адекватную сосудистую вазодилатацию. Следовательно, даже при достаточном синтезе NO в эндотелии, но при наличии ряда негативных факторов снижается его биодоступность как регулятора сосудистого тонуса и артериального давления.

Установлено, что эндотелиальные клетки мало чувствительны к гипоксии и повреждаются при ишемии значительно меньше других клеток, например, нейронов и кардиомиоцитов. Но при этом происходит нарушение функциональных свойств эндотелиоцитов,

изменение синтеза продуцируемых ими веществ, что расценивается как механизм компенсации. Защитная реакция эндотелия наблюдается также при гипертензивных кризах. Высокое внутриартериальное давление при дилатации сосудистой стенки создает угрозу ее разрыва. В связи с этим интенсифицируется синтез эндотелина, который способствует спазму гладкомышечных сосудистых клеток, функциональному уплотнению стенки сосуда и тем самым – защите его от разрыва. Это подтверждено исследованиями, установившими повышенную концентрацию эндотелина в первые сутки субарахноидального кровоизлияния [6]. Однако интенсивный синтез эндотелина в таких случаях может вызывать выраженный спазм сосудов и вторичную ишемию мозговой ткани. Авторами показано, что пока концентрация NO повышена, артериальный спазм не возникает и, наоборот, там, где недостаточен синтез NO преобладает вазоконстрикция с последующим развитием локальной ишемии.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о развитии дисфункции эндотелия у больных атеросклеротической энцефалопатией, проявляющейся нарушением дилатационных характеристик, повышенной десквамацией эндотелиоцитов и недостаточностью компенсаторных реакций по синтезу эндотелиального NO, несмотря на повышение общего содержания нитратов и нитритов в крови. Последнее может быть обусловлено активацией нейрональной и макрофагальной изоформ NOS при хронической ишемии головного мозга.

Список литературы

1. Марков Х. М. // Кардиология. – 2005. – № 12. – С. 62–71.
2. Ferdinandy P., Schulz R. // Br. J. Pharmacol. – 2003. – Vol. 138. – P. 532–542.
3. Грицай Н. Н., Миценко В. П., Миценко Е. В. // Эксперим. і клініч. мед. – 2003. – № 1. – С. 47–49.
4. Celermajer D. S., Sorensen K. E., Gooch V. M. et al. // Lancet. – 1992. – Vol. 340. – P. 1111–1115.
5. Веремей И. С., Солодков А. П. // Сборник научных трудов. – Витебск, 1999. – С. 274–277.
6. Карпюк В. Б., Черняк Ю. С., Шубич М. Г. // Вопр. нейрохирургии им. Бурденко. – 2000. – № 1. – С. 30–33.

ЛИМФАТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА В РЕГУЛЯЦИИ ГИДРАТАЦИИ ТКАНЕЙ ОРГАНИЗМА (ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОБЩЕНИЕ)

Р. С. Орлов¹, Н. П. Ерофеев²

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии
им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

Организация микроциркуляции и место в ней лимфатических сосудов. Конечный участок системы кровообращения человека – микроциркуляторное ложе представляет собой идеальный по архитектуре и функции трансмуральный обменник. Рассмотрим только один из многочисленных механизмов обмена в этом участке организма – транспорт жидкости и макромолекул в межклеточном пространстве. E. Starling [1] впервые определил силы транскапиллярного переноса веществ.

Транспорт жидкости лимфатическими сосудами является существенным вкладом в общую циркуляцию водных сред тела человека и важным условием адекватной гидратации тканей (рис.).

Лимфатические капилляры включены в контроль жидкостно-макромолекулярного равновесия интерстициального пространства. Лимфатическое сосудистое ложе рассматривали в качестве вспомогательного дренажного канала, т. е. дополнением к венозной системе [2].



Рис. Место лимфатических сосудов в транспорте жидкостно-дисперсных сред

На самом деле дренажная функция определяется не столько сбросом определенного количества жидкости, сколько «очищением» жидких сред от естественных и патологических макромолекул. Лимфатическая система всегда вовлечена в этот процесс [3; 4]. Лимфа осуществляет вынос из очагов поражения токсинов, макромолекул распада тканей, метаболитов, патогенных микроорганизмов. Только лимфатическая система разгружает интерстициальное пространство от накапливающихся при заболеваниях токсических продуктов с большой молекулярной массой. Стенки артериальных капилляров обладают низкой проницаемостью для белков, и тем не менее протеиновые молекулы проникают в интерстициальное пространство. В среднем концентрация их в лимфе для большинства тканей составляет 2 г/дл, в кишечнике – 3–4 г/дл, в лимфе грудного протока – 3–5 г/дл, в печени – 6 г/дл. В этом случае накопление молекул белка и других крупногабаритных частиц (например, хиломикроны и бактерии) могло бы вызвать превышение сил фильтрации против сил реабсорбции и способствовать развитию отека в тканях. Лимфатические капилляры создают нормальный путь [5], по которому крупные молекулы (белки), вода и электролиты из интерстициальной среды возвращаются в циркулирующую кровь и тем самым предотвращают повышение интерстициального давления, а значит и отек.

Лимфатический аппарат не только регулирует гидратационный гомеостаз, но и создает вектор однонаправленной адекватной дегидратации, «указывает» направление движения жидкости и крупномолекулярных частиц в локальном межклеточном пространстве.

Довольно часто анатомы, клиницисты и физиологи употребляют в этом отношении термин «лимфатическая система удаляет избыток жидкости из интерстиция»: это не совсем верно. По определению в норме избытка не может быть, абсорбция жидкости адекватна фильтрации. При гипергидратации интерстициального пространства компенсаторные резервы лимфатического русла (интерстициального пространства тоже) достаточно ограничены функциональными и структурными возможностями.

Венозная система, несмотря на большой объем сброса жидкости в кровяное русло, скорее выполняет емкостную (а не дренажную) функцию. Гипергидратация интерстиция может достаточно быстро увеличить общую емкость венозного русла в десятки раз.

Однако вещества с большим молекулярным весом из очагов поражения не проникают в венозные капилляры.

Лимфатические сосуды – каскад оригинальных насосов. Резорбтивная функция лимфатического аппарата определяется работой собственных лимфатических насосов. Первая система насосов конструктивно представлена совокупностью откидных (захлопывающихся) клапанов начальных лимфатических капилляров, вторая – клапанами, встроенными в просвет лимфангионов сосудов и лимфатических узлов. Свободные края эндотелиоцитов стенок инициальных капилляров образуют первую микронасосную линию. Кромки (края) эндотелиальных клеток свободны и перекрывают друг друга так, что один край заходит внутрь лимфатического капилляра. Другой (наружный) край эндотелиоцита прикрепляется к окружающим тканям с помощью якорных филаментов.

Деятельность капиллярного микронасоса в естественных условиях определяется физико-химическими параметрами локального окружающего пространства. При изменении местных показателей свободный край эндотелиоцита сгибается в просвет капилляра и пропускает внутрь интерстициальную жидкость вместе с макромолекулами. Лимфа уже не может вернуться в интерстиций, так как ее обратный ток прижимает свободный край к кромке другого эндотелиоцита, закрывает клапан и завершает цикл работы микронасоса.

Ответственной частью локального насосного механизма, а значит и лимфообразования в целом является процесс ультрафильтрации из лимфатических капилляров в интерстициальную жидкость. Стенка лимфатического капилляра мало растяжима, что вызывает быстрый подъем гидростатического давления в его просвете. Однако она имеет полупроницаемые свойства, поэтому часть жидкости выходит в интерстиций по градиенту давления путем ультрафильтрации. В результате происходит повышение концентрации белков в лимфе примерно в три раза. Ток лимфы, создаваемый капиллярными микронасосами, увеличивается при повышении капиллярного давления, возрастании проницаемости капилляров, при повышении концентрации белков в интерстициальной жидкости.

В дальнейшем перемещение лимфы происходит в просвете коллекторных лимфатических сосудов против сил гравитации, так как давление в грудном протоке значительно превышает внутрисосудистое давление в периферических коллекторах. Адекватный

транспорт лимфы на этом уровне лимфатической системы обеспечивает система собственных лимфатических насосов – так называемых лимфангионов (второй каскад). Лимфангионы – это сегменты лимфатических сосудов, ограниченные клапанами и содержащие в стенке гладкомышечные клетки, способные спонтанно сокращаться. Каждый лимфангион функционирует как отдельный автоматический насос. Наполнение лимфангиона лимфой, поступившей из ниже лежащих сосудов, вызывает его сокращение, и лимфа перекачивается через клапаны в следующий сегмент и так далее, вплоть до поступления лимфы в венозный кровоток. Система лимфатических насосов крупных лимфатических сосудов создает давление от 50 до 100 мм рт. ст. Так, в грудном протоке лимфоток достигает 400 мл/час, а в периферических коллекторах – до 20 мл/час. На путях лимфотока от каждого органа лимфа проходит через несколько лимфатических узлов.

Универсальным свойством лимфоузлов, подобно лимфангионам, является спонтанная сократительная активность. Так, в частности, ритм спонтанных сокращений брыжеечных узлов колеблется у разных животных и человека: у белой крысы – 27 сокращений в минуту, у барана, крупного рогатого скота – 3 сокращения в минуту, у человека – 6–8 сокращений в минуту.

Посредством изменения активности миоцитов лимфатические узлы приобретают возможность регулировать поступление или задержку образования лимфоцитов, задержку поступления в кровь инородных частиц, бактерий, токсинов. Они обладают высокой чувствительностью к изменению физико-химического состава интерстициальной жидкости и активно перестраивают моторику фазных и тонических сокращений.

Насосная функция лимфатической системы контролируется внешними перемежающимися сдавлениями лимфатических каналов. К ним относятся: движения отдельных частей тела, артериальная пульсация, которая оказывает не только массирующее влияние на лимфатические сосуды, но и путем увеличения артериального давления может усилить капиллярную фильтрацию, а значит и лимфоток. Сокращения окружающей мускулатуры могут повысить лимфоток до 30 раз.

Третий насос – это внемлимфатические физические силы, которые выполняют одинаковую с другими насосами функцию адекватной дегидратации межтканевой среды путем пассивного воз-

действия на стенки лимфатических сосудов, например, пульсация артерий или увеличение двигательной активности скелетной мускулатуры.

Таким образом, лимфатическая система представляется частью единой циркуляторной системы организма человека, в которой лимфоток контролирует гомеостаз важнейших показателей жидких компартментов внутренней среды. Физические стимулы (изменение объема и давления в интерстиции) вызывают адекватную дегидратацию тканей, интенсифицируя деятельность автоматических биомеханических насосов.

Гемолимфомикроциркуляторное ложе контролирует уровень гидратации тканей и упруго-вязкие свойства окружающей клеточной среды.

Список литературы

1. Starling E. H. // J. Physiology. – 1896. – Vol. 19. – P. 312–326.
2. Casley-Smith J. R., Foldi M., Casley-Smith Y. Lymphangiology. – Stuttgart, 1983.
3. Olszewski W. L. Lymph stasis. Pathophysiology, diagnosis and treatment. – Boca Raton, 1991.
4. Орлов, Р. С. Лимфатические сосуды. Структура и механизм сократительной активности / Р. С. Орлов, А. В. Борисов, Р. П. Борисова. – Л., 1983.
5. Бородин, Ю. И. Общая анатомия лимфатической системы / Ю. И. Бородин [и др.]. – Новосибирск, 1990.

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМЕ РЕАКЦИЙ СИСТЕМНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ПАПАВЕРИНОМ

Л. И. Осадчий, Т. В. Балужева, И. В. Сергеев

Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

Секреция эндотелием оксида азота (NO) является важным механизмом регуляции тонуса сосудов [1]. Показано участие NO-зависимого механизма в формировании реакций системной гемодинамики на увеличение объема циркулирующей крови [4] и ортостазе [5] у крыс, а также в альфа- и бета-рецепторных реакциях системного кровообращения [6; 7].

Однако отсутствуют доказательства роли эндогенного NO, секретируемого в эндотелии резистивных сосудов при системных сосудистых реакциях, вызываемых прямым влиянием сосудорасширяющих агентов на гладкую мускулатуру сосудов.

Задача данного исследования – выявление роли NO в механизме формирования реакций системной гемодинамики при вазодилатации, вызванной папаверином.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 10 самцах крыс Вистар массой 220–340 г, находившихся под уретановым наркозом (1,2–1,5 г/кг) и после введения гепарина (500 ЕД/кг). Искусственная вентиляция легких осуществлялась аппаратом «Вита». Артериальное давление (АД) регистрировали в бедренной артерии с помощью датчика ПДП-400. Одновременно значения АД оцифровывались компьютерной системой сбора данных. В ходе опыта вычислялось систолическое, диастолическое и среднее АД. Сердечный выброс определяли электромагнитным расходомером РКЭ-2 по объемной скорости кровотока в восходящей аорте с помощью датчика диаметром 2 мм и записывали на чернильном самописце Н-3021. Общее периферическое сосудистое сопротивление (ОПС) рассчитывали путем деления величины среднего АД на величину сердечного выброса в одном и том же интервале времени.

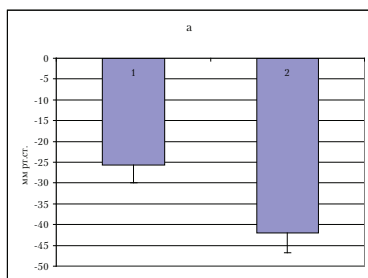
Блокаду NO-синтазы производили путем введения в бедренную вену метилового эфира N^o –нитро-L-аргинина (L-NAME) в дозе 1 мг / 100 г массы тела. Туда же на 10-й мин после его применения инъецировали 0,1 мл папаверина в концентрациях $2 \cdot 10^{-2}$ и $4 \cdot 10^{-2}$ мг/мл на 100 г веса.

При статистической обработке средних результатов использовали t-критерий Стьюдента. Данные обрабатывали с помощью стандартных компьютерных программ.

Результаты и обсуждение. При введении папаверина на фоне блокады синтеза NO наблюдалось углубление реакции АД и возрастание степени снижения ОПС при сохранении практически неизменной величины сердечного выброса. Такие эффекты со стороны АД и ОПС проявлялись в 8 (из 10) опытов при каждой из $2 \cdot 10^{-2}$ мг/мл и $4 \cdot 10^{-2}$ мг/мл использованных доз папаверина. Цифровые данные приведены на рис. (части А, Б).

Углубление реакций АД при концентрации $2 \cdot 10^{-2}$ мг/мл составляло 8% и при концентрации $4 \cdot 10^{-2}$ мг/мл на 100 г – 16 % от ис-

А



Б

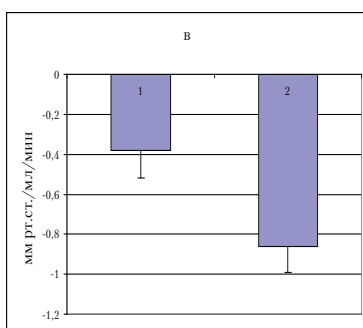
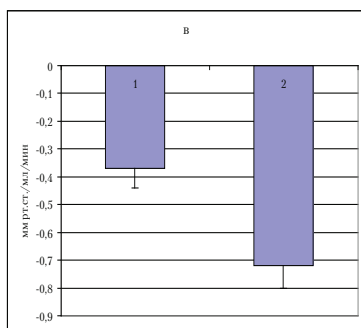
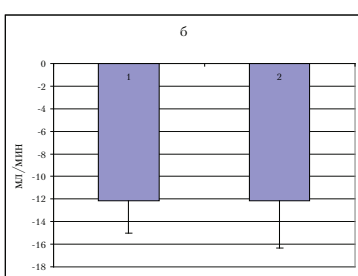
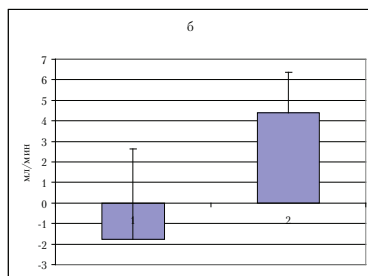
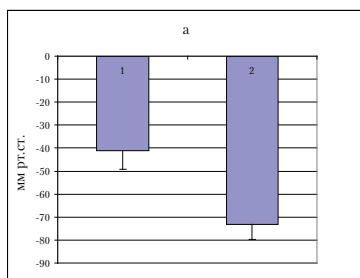


Рис. Изменение показателей системной гемодинамики на введение папаверина до (1) и на фоне блокады (2) синтеза NO.

На А и Б – концентрации папаверина 2×10^{-2} и 4×10^{-2} мг/мл на 100 г массы тела соответственно; а – среднее АД; б – сердечный выброс; в – ОПС

ходной их величины. Причем увеличение депрессорного ответа АД на приложение папаверина в условиях выключения синтеза NO происходило на фоне повышенного (на 30 %) его исходного уровня как результат действия L-NAME.

Сведения о роли эндотелиального NO в механизме системной вазодилатации, обусловленной папаверином, в доступной литературе отсутствуют.

Так как работа выполнялась в условиях целостной сердечно-сосудистой системы, главенствующую роль в поведении ее показателей играют, по-видимому, факторы, связанные с изменением системной гемодинамики, главным образом сосудистого сопротивления. В наших опытах наблюдалось уменьшение ОПС сосудов, что эквивалентно увеличению их диаметра. Такая реакция сосудов является одним из важных стимулов, провоцирующих освобождения NO [8].

Устранение данного механизма при блокаде синтеза NO неизбежно приводило к усилению вазодилатации и, соответственно, к более выраженной артериальной гипотензии по сравнению с таковой до выключения образования монооксида азота.

Сходный механизм был продемонстрирован нами при исследовании роли NO в β_2 – адренергических реакциях [7].

Введение блокатора синтеза NO (L-NAME) всегда приводило к выраженной прессорной реакции, обусловленной выключением, связанных с фоновой секрецией NO в эндотелии тонических вазодилаторных влияний на артериальные сосуды.

Ранее [2; 3] мы показали прямую зависимость, т. е. увеличение вазодилаторных реакций параллельно росту исходного (фоновому) давления. С учетом изложенных моментов можно говорить о прямой корреляции усиления вазодилатации при введении папаверина на фоне блокады синтеза NO с увеличением исходного уровня АД.

Итак, материалы работы позволяют сделать заключение об участии эндотелиального NO наряду с другими механизмами в формировании системной вазодилатации, обусловленной миотропными гипотензивными агентами.

Список литературы

1. Марков Х. М. // Успехи физиол. наук. – 2001. – Т. 32. – № 3. – С. 49–65.
2. Осадчий Л. И., Балуева Т. В., Сергеев И. В. // Рос. физиол. журн. 1998. – Т. 84. – № 11. – С. 1231–1241.
3. Осадчий Л. И., Балуева Т. В., Сергеев И. В. // Рос. физиол. журн. – 1999. – Т. 85. – № 8. – С. 1060–1069.
4. Осадчий Л. И., Балуева Т. В., Сергеев И. В. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2003. – № 11. – С. 487–489.
5. Осадчий Л. И., Балуева Т. В., Сергеев И. В. // Изв. РАН. Сер. биол. – 2004. – № 3. – С. 335–339.
6. Осадчий Л. И., Балуева Т. В., Сергеев И. В. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2005. – Т. 140. – № 8. – С. 124–126.
7. Осадчий Л. И., Балуева Т. В., Сергеев И. В. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2006. – Т. 142. – № 8. – С. 128–131.
8. Sun D., Huang A., Recchia F. A. // Am. J. Physiol. – 2001. – Vol. 280. – № 2. – P. H714–H721.

ИЗМЕНЕНИЕ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У БОЛЬНЫХ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ ПОД ВЛИЯНИЕМ ОБЩЕЙ МАГНИТОТЕРАПИИ

В. М. Подобед¹, В. С. Улащик²

¹Белорусская медицинская академия

последипломного образования, Минск, Беларусь

²Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

За последние десятилетия были выявлены параллели между активностью вегетативной нервной системы и смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний [2]. Экспериментальные подтверждения связи между предрасположенностью к летальным аритмиям и признаками дисбаланса вегетативной нервной системы (ВНС) стимулировали развитие исследований количественных показателей для оценки вегетативной активности. Одним из таких показателей, широко изучаемым в последние годы, и является вариабельность сердечного ритма (ВСР).

Этот термин стал общепринятым в описании изменений как частоты сердечбиений, так и интервалов RR. Изучение ВСР основано на распознавании и измерении временных интервалов RR, построении динамических рядов кардиоинтервалов и последующего

их анализа различными математическими методами. Клиническая значимость ВСР была установлена в конце 1980-х гг., когда было доказано, что данный показатель представляет собой устойчивый и независимый предиктор смерти у больных, перенесших острый инфаркт миокарда [4].

ВСР является отражением вегетативной регуляции сердечной функции. Парасимпатическая система считается высокочастотной системой регуляции. При непрерывной стимуляции блуждающего нерва период реакции составляет около 200 мс. Колебания активности парасимпатической нервной системы порождают изменения сердечного ритма с частотой 0,15–0,4 Гц и более, формируя так называемые быстрые, высокочастотные волны (HF – High Frequency).

При стимуляции экстракардиальных симпатических нервов частота сердечных сокращений начинает повышаться после латентного периода в 1–3 с. Следовательно, симпатическая система является медленной системой регуляции. Соответственно и волны, обусловленные колебаниями ее тонуса, именуются медленными, низкочастотными (LF – Low Frequency) [2].

На основании выше изложенного выявление дисфункции ВНС посредством анализа ВСР с целью своевременной ее коррекции представляется актуальной задачей.

Материалы и методы. Объектом изучения служили лица (147 человек: 90 женщин и 57 мужчин) с метаболическим синдромом (МС). В современном представлении он определяется как комплекс обменных, гормональных и клинических нарушений, в основе которых лежит инсулинорезистентность. МС характеризуется наличием у одного больного помимо инсулинорезистентности артериальной гипертензии, дислипидемии и абдоминального ожирения. Им страдает около 25 % трудоспособного населения в мире. Доказано, что МС ассоциируется с резким ростом числа сердечно-сосудистых катастроф [1], что делает выбор пациентов вполне оправданным.

В качестве средства воздействия в комплексном лечении больных с МС использовалась общая магнитотерапия (ОМТ). При ней влиянию магнитного поля малой интенсивности подвергается весь организм или большая его часть, позволяя добиваться синхронной работы многих систем организма на энергетически выгодных условиях и формировать при этом защитные реакции достаточно высокой степени эффективности.

Известно, что соотношение специфического и неспецифического в действии физических факторов, в том числе и магнитных полей, существенно зависит от дозировки. С увеличением интенсивности влияния возрастает вероятность неспецифических, вплоть до стрессовых эффектов, на фоне ослабления специфических [5]. Стремление сохранить и усилить последние применительно к магнитным полям легло в основу метода ОМТ. Очень чувствительна к действию низкоинтенсивной ОМТ нервная система: изменяется ее условно-рефлекторная деятельность, восстанавливается функциональный баланс между отделами ВНС, претерпевает альтерации синтез белка в различных нейронах. Таким образом, исходя из перечисленного, позволительно ожидать, что ОМТ способно оказать нормализующее влияние на показатели ВСР у больных с МС.

ОМТ проводилась на аппарате «УниСПОК» (Беларусь – Германия) с индуктором «мат стимулирующий», выполненным в виде матраса. Для изучения его влияния на показатели ВСР у больных с МС было выделено три группы. В основной группе (31 человек) проведено три курса (многокурсовая ОМТ) с промежутками в 6–8 недель. В промежуточной группе (22 человека) выполнено два курса (повторное физиотерапевтическое воздействие) с таким же интервалом. В контрольной группе «процедура» осуществлялась при выключенном аппарате (плацебо-воздействие). Курс лечения состоял из 8–11 ежедневных процедур. До и после их выполнения регистрировалось артериальное (систолическое и диастолическое) давление (АД). Частота модуляции магнитного поля в основной и промежуточной группах равнялась 50 Гц.

Продолжительность одной процедуры составила от 15 до 30 мин. Длительность первой процедуры определялась уровнем исходного АД. Если оно было менее 140/90 мм рт. ст., то время процедуры составляло 15 мин, если выше указанных цифр – 20 мин. Процедура продолжительностью в 30 мин назначалась только с 5–6-й процедуры или позже, если АД не снижалось до 120/80 мм рт. ст. Индукция магнитного поля подбиралась индивидуально в зависимости от уровня АД, регистрируемого до проведения процедуры (чем выше были его значения, тем больше индукция магнитного поля). При АД 140/90 мм рт. ст. и более индукция составляла 3,0–3,1 мТл, при АД 139/89–130/85 мм рт. ст. – 2,1–2,7 мТл, при АД 129/84 мм рт. ст. и менее – 1,4–2,0 мТл. Ука-

занные параметры взяты на основании предшествующих курсовому применению исследований.

Изучение показателей ВСП проведено методом анализа 24-часового холтеровского мониторирования ЭКГ. Учитывались нормализованные спектральные параметры ВСП LFn и HFn, рассчитанные по стандартным формулам [3]. Сравнение величин до и после проведения ОМТ осуществлялось по отношению к нормализованным значениям, а также внутри групп и между ними по окончании лечения. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы медико-биологической статистики BIOSTAT с использованием коэффициента Манна-Уитни. За критерий достоверности принят уровень 95% ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение. При анализе показателей ВСП в группах после каждого курса лечения сравнительно с исходными достоверных изменений не выявлено. Поскольку группы не имели статистически значимых различий в параметрах ВСП до проведения лечения, целесообразно было провести межгрупповую оценку после его окончания. Достоверные отличия были выявлены при сравнении показателей в основной группе (3 курса ОМТ) и в группе плацебо-воздействия. Полученные результаты представлены в таблице. Анализ проводился как по данным за сутки, так и отдельно за период бодрствования и сна.

Итак, средние суточные нормализованные значения активности симпатической нервной системы (СНС) LFn в основной и контрольной группах составили соответственно $65,0 \pm 2,26$ и $72,48 \pm 1,22$ п.у. Расхождения между группами после проведения физиотерапевтического воздействия имели достоверный характер ($p < 0,05$): в основной группе тонус СНС оказался меньше, чем в контрольной. О столь же значимых отличиях ($p < 0,05$) в группах после проведения ОМТ свидетельствует также индекс вагосимпатического взаимодействия LF/HF: в основной группе в течение суток он равнялся $2,05 \pm 0,19$, в контрольной – $2,92 \pm 0,17$.

В период бодрствования у получивших курс ОМТ больных зафиксирована повышенная активность СНС. LFn в контрольной группе составила $74,54 \pm 1,42$ п.у., тогда как в основной $65,38 \pm 2,11$ п.у. Индекс вагосимпатического взаимодействия LF/HF также достоверно ($p < 0,05$) отличался в указанных группах, будучи равным соответственно $2,19 \pm 0,2$ в основной группе и $3,43 \pm 0,18$ в контрольной. Отличий в активности СНС и индексах вагосимпа-

тического взаимодействия в течение сна у больных с МС после процедуры ОМТ не отмечено.

Таблица

Показатели вариабельности сердечного ритма в группах после проведения общей магнитотерапии ($\bar{X} \pm s_x$)

Показатель	Основная группа, n=28	Контрольная группа, n=27
LFn, п.у. за сутки	65,0±2,26*	72,48±1,22
HFn, п.у. за сутки	33±2,26*	25,52±1,22
LF/HF за сутки	2,05±0,19*	2,92±0,17
LFn, п.у. бодрствование	65,38±2,11*	74,54±1,42
HFn, п.у. бодрствование	31,59±2,24*	22,35±0,97
LF/HF бодрствование	2,19±0,2*	3,43±0,18
LFn, п.у. период сна	61,94±3,52	68,19±1,79
HFn, п.у. период сна	36,09±3,52	28,9±1,58
LF/HF период сна	2,08±0,36	2,45±0,17

Примечание * – достоверность ($p < 0,05$) различий между группами

Обращает на себя внимание, что уровень показателя LFn был значительно выше нормативного значения (54±4 п.у.) в любом из изучаемых периодов, что указывает на нарастание симпатического тонуса в регуляции сердечной деятельности у больных с МС. Индекс вагосимпатического взаимодействия LF/HF в норме не превышал 2,0 и также был повышен до начала лечения в любой период суток. В течение суток при проведении многокурсовой ОМТ его значения вплотную приближались к нормативным, составив 2,05.

После проведения ОМТ уровень парасимпатической регуляторной активности, выраженный в нормализованных единицах HFn, в течение суток в основной и контрольной группах был равен 33,0±2,26 и 25,52±1,22 п.у. соответственно, что входит в ранг статистически значимых ($p < 0,05$) отличий. Активность парасимпатической нервной системы HFn в основной группе в течение дня (31,59±2,24 п.у.) также достоверно превосходила таковую в группе плацебо-воздействия (22,35±0,97 п.у.). Отличий в активности парасимпатической нервной системы в течение сна у больных с МС после проведения ОМТ не выявлено.

Активность высокочастотного нормализованного компонента HFn в основной группе после лечения стала выше нормативного уровня 29±3 п.у. как по данным за сутки, так и в период бодрствования, что составило 33 и 31,59 п.у. соответственно. Полученный

клинический эффект согласуется с данными о том, что магнитные поля обладают ваготропным действием. Изменение же симпатического влияния (ослабление) после проведения ОМТ носило скорее рефлекторный характер по принципу обратной связи, поэтому оказалось менее выраженным и не достигало нормы.

Таким образом, можно заключить, что показатели ВСР у больных метаболическим синдромом являются высокоинформативными в анализе развития заболевания и в оценке его коррекции. Пациенты с метаболическим синдромом характеризуются повышенным тонусом симпатической и сниженным тонусом парасимпатической нервной системы. Многокурсовая (минимум три курса) общая магнитотерапия оказывает достоверное ваготропное действие у больных с МС синдромом. В их лечении целесообразно использовать общую магнитотерапию, длительность которой должна составлять не менее трех курсов с интервалом в 6–8 недель, включающими 8–11 ежедневных процедур при следующих параметрах: индукция магнитного поля 1,4–3,1 мТл, частота модуляции 50 Гц, длительность каждой процедуры 15–30 мин.

Список литературы

1. Алмазов, В. А. Метаболический сердечно-сосудистый синдром / В. А. Алмазов. – СПб., 1999.
2. Баевский Р. М., Иванов Г. Г. // Ультразв. и функцион. диагност. – 2001. – № 23. – С. 106–127.
3. Вариабельность сердечного ритма, стандарты измерения, физиологической интерпретации и клинического использования / Рабочая группа Европейского Кардиологического Общества и Северо-Американского общества стимуляции и электрофизиологии. – СПб., 2000.
4. Михайлов, В. М. Вариабельность ритма сердца. Опыт практического применения метода / В. М. Михайлов. – Иваново, 2000.
5. Улащик В. С., Золотухина Е. И. // Здоровоохранение. – 2001. – № 8. – С. 44–46.

ВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРА D₂ РЕЦЕПТОРОВ ДОФАМИНА В АМИГДАЛЕ НА УГАШЕНИЕ ВЗДРАГИВАНИЯ ВО ВРЕМЯ ДЕЙСТВИЯ УСЛОВНОГО СИГНАЛА

*А. Т. Прошин¹, З. И. Сторожева¹,
В. В. Шерстнев¹, Ю. И. Александров²*

¹НИИ нормальной физиологии им. П. К. Анохина РАМН,
Москва, Россия

²Институт психологии РАН, Москва, Россия

Изучение вовлечения различных структур мозга в организацию целенаправленного поведения имеет важное теоретическое и практическое значение. С позиций системного подхода любой поведенческий акт на уровне мозга представляет собой реализацию функциональной системы, которая была сформирована на определенной стадии развития индивида. Функциональная система поведенческого акта реализуется за счет синхронизации активности нейронов различных мозговых структур для достижения полезного результата [4].

Ранее нами было показано, что актуализация предварительно выработанного навыка условным раздражителем (свет), связанным с положительным подкреплением, в условиях реализации поведения вздрагивания на предъявление звуковых сигналов может приводить к модификации последнего. На начальной стадии предъявления условного сигнала амплитуда вздрагивания не изменялась, а к концу сеанса угашения возрастала [3]. Этот двухкомпонентный эффект связан с ассоциацией света с положительным подкреплением (влияние изменения освещения на первый стимул) и с рассогласованием, возникающим в результате продолжения аверсивной стимуляции на фоне действия стимула, ассоциированного с положительным подкреплением. Было также показано вовлечение дофаминергической системы префронтальной коры в реализацию влияния предыдущего опыта положительного подкрепления на модификацию текущего оборонительного поведения (вздрагивание) [2]. Можно предположить, что в исследуемую модификацию могут быть вовлечены другие отделы мозга, в частности амигдала – структуры, связанной с процессом подкрепления [5]. Вероятно, что в процесс модификации поведения вовлечена дофаминергическая система амигдалы, в которую поступают проекции нейронов из вентрально-теgmentальной области мозга [1].

Задача данного исследования – изучение участия дофаминергической системы амигдалы в процессах реализации оборонительного поведения (вздрагивания) в момент действия условного стимула, ассоциированного с положительным подкреплением.

Материалы и методы. Эксперименты были проведены на крысах-самцах линии Вистар ($n=23$) массой 250–300 г. Всем животным под нембуталовым наркозом стереотаксически был введен направляющий зонд в базолатеральную амигдалу ($B+3,8; L\pm 0,8; H-4,2$), который крепился к черепу животного зубным цементом. Через 12 ч после операции животные в течение 48 ч содержались без питья при свободном доступе к пище в клетках. По истечении данного срока крыс распределяли по четыре особи в клетках в специально оборудованном помещении и в течение 30 мин адаптировали к экспериментальной обстановке при освещенности 15 люкс. Затем изменяли интенсивность света до 130 люкс и на 10 мин обеспечивали свободный доступ к поилкам с водой, после чего одновременно со снижением интенсивности света до 15 люкс питье убирали на 10 мин. Процедуру сочетания света с питьем повторяли 6 раз. Через 24 часа проводили повторную процедуру обусловливания в аналогичном режиме. После двух дней обучения животные 48 часов содержались в условиях свободного доступа к пище и воде. Затем крыс помещали в установку для регистрации вздрагивания на акустический стимул и после 5 мин адаптации к камере предъявляли 20 звуковых стимулов интенсивностью в 110 Дб с интервалом 20 с при освещенности 15 люкс. Подача звука осуществлялась усилителем мощности 100Y-101 (Россия) через динамик 1ГД-400Р (Россия). Во время проведения экспериментов при помощи самописца фиксировали показания амплитуды вздрагивания в течение 100 мс после предъявления звука (оценку проводили по изменению давления животного на платформу; одна условная единица соответствовала 16 г). Через 24 часа во время повторной процедуры угашения вздрагивания после 10-го звукового стимула освещенность изменяли до 130 люкс и одновременно в амигдалу мозга крысы через иглы, соединенные тубингом со шприцем и помещенные в направляющие зонды, билатерально вводили блокатор D_2 рецепторов дофамина – сульпирид (группа №1; $n=11$) и натрия хлорид (группа № 2; $n=12$). Сульпирид (в дозе 3 мкг объемом 1 мкл) и хлорид натрия вводили шприцем однократно, используя автоматический насос фирмы TSE System в течение

15 с после включения света. Полученные данные анализировались при помощи математической статистики (t-критерий Стьюдента для зависимых выборок) в программе «STATISTICA».

Результаты и обсуждение. При сравнении эффектов сульпирида и хлорида натрия, введенных в амигдалу, не было обнаружено существенного влияния блокатора D2 дофаминовых рецепторов на динамику вздрагивания. Так, у животных актуализация поведенческого навыка условным раздражителем (свет), связанным с положительным подкреплением, во время предъявления звуковых стимулов не приводила к увеличению вздрагивания в начале экспозиции условного сигнала, однако к концу сеанса угашения амплитуда вздрагивания значимо возрастала как при введении сульпирида, так и натрия хлорида (рис.).

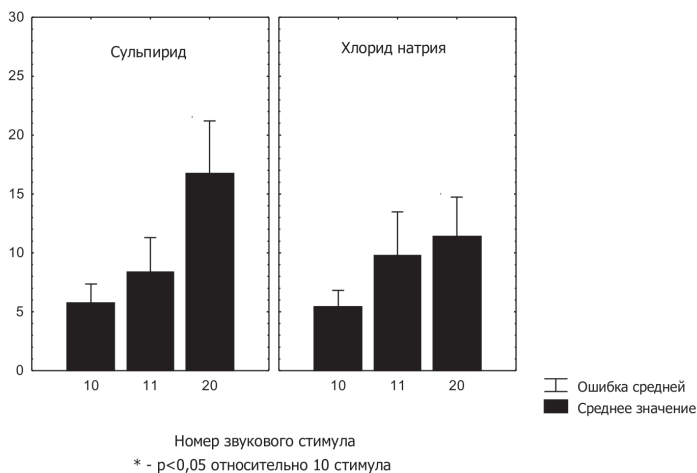


Рис. Динамика амплитуды вздрагивания после предъявления светового сигнала, ассоциированного с положительным подкреплением, во время действия последовательных звуковых стимулов на фоне введенных в амигдалу сульпирида и хлорида натрия

В предыдущих экспериментах, проведенных без введения блокирующего вещества, мы получили аналогичный результат, обусловленный, с одной стороны, ассоциацией света с положительным подкреплением, а с другой – рассогласованием, вызванным несоответствием ключевого стимула и ситуации (свет как условный сигнал, подкрепляемый пищей, и свет как условный сигнал,

при котором происходит воздействие звуковым стимулом). Результаты настоящего исследования позволяют заключить, что блокада D_2 рецепторов дофамина в амигдале не оказывает влияния ни на модификацию оборонительного поведения стимулом, ассоциированным с положительным подкреплением, ни на последующее рассогласование, которое выражается в возрастании амплитуды вздрагивания к концу сеанса. Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что участие дофаминергической системы амигдалы в модификации оборонительного поведения стимулом, ассоциированным с положительным подкреплением, незначительно в отличие от выявленного ранее отчетливого вовлечения дофаминергической системы префронтальной коры в исследуемые формы взаимодействия функциональных систем.

Возможно, что участие дофаминергической системы необходимо лишь на стадии формирования функциональной системы поведенческого акта, основанного на ассоциативном обучении, но не при актуализации навыка во время предъявления звуковых стимулов.

Выводы:

1. Блокада D_2 рецепторов дофамина в амигдале не оказывает влияния на угашение вздрагивания при звуковой стимуляции на фоне предъявления условного сигнала, связанного с положительным подкреплением.

2. Блокада D_2 рецепторов дофамина в амигдале не влияет на процесс рассогласования, имеющий место при предъявлении условного стимула, ассоциированного с положительным подкреплением в условиях реализации оборонительного поведения (вздрагивания).

Работа поддержана Советом по грантам Президента Российской Федерации ведущим научным школам Российской Федерации (№ НШ – 602.2008.6).

Список литературы

1. От нейрона к мозгу / Николс Д. Г. [и др.]. – М., 2003. – С. 306–307.
2. Прошин А. Т. // XX съезд Физиологического общества им. И. П. Павлова: тезисы докл. – М., 2007. – С. 385.
3. Прошин А. Т., Александров Ю. И., Шерстнев В. В. // Тенденции развития современной психологической науки. – Ч. 2. – М., 2007. – С. 337–339.
4. Швырков, В. Б. Нейрофизиологическое изучение системных механизмов поведения / В. Б. Швырков. – М., 1978. – С. 22–33, 41–47.
5. Murray E. A. // TRENDS in Cognitive Sciences. – 2007. – Vol.11. – № 11. – P. 489–497.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КОНТРОЛЯ СТАТИЧЕСКОГО И ДИНАМИЧЕСКОГО РАВНОВЕСИЯ У БОЛЬНЫХ С ДВИГАТЕЛЬНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ

*В. М. Рубахова¹, В. В. Евстигнеев³, В. А. Дубовский²,
О. В. Кистень³, Р. Г. Лемеш¹, В. А. Кульчицкий¹*

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь
²Институт машиностроения и надежности машин НАН Беларуси,
Минск, Беларусь

³Белорусская медицинская академия
последипломного образования, Минск, Беларусь

Знание физиологических механизмов перераспределения тонуса скелетных мышц, обеспечивающих сохранение равновесия и координацию движений [1; 2], актуально для выполнения всех видов человеческой деятельности. В процессе онтогенеза на основе врожденных статических и статокинетических рефлексов в результате процесса обучения вырабатываются сложные условные рефлексы, обеспечивающие виртуозную игру музыканта, прецизионную деятельность мастера на производстве, доведенные до автоматизма движения спортсмена, отточенные манипуляции хирурга. Все это осуществляется в норме в естественных условиях. При развитии патологических процессов, затрагивающих звенья двигательных рефлексов, контроль статических и статокинетических рефлексов нарушается, что сопровождается снижением работоспособности вплоть до полной ее потери, а при расстройстве, например, регуляции дыхательной мускулатуры развиваются несовместимые с жизнью состояния. В последнее время особое внимание в развитии двигательных нарушений уделяется сосудистому фактору, так как отмечается значительный рост числа цереброваскулярных заболеваний [3], в том числе и в вертебрально-базиллярном бассейне, кровеносные сосуды которого являются основным источником кровоснабжения внутреннего уха, вестибулярных ядер и мозжечка. Кроме констатации факта нарушения моторной функции, определения степени ее нарушения и уровня локализации патологического процесса, наиболее важным аспектом является оценка эффективности проводимого лечения и адекватные поставленным задачам методы мониторинга произвольных и непроизвольных движений человека при поддержании позы и реализации статических и статокинетических рефлексов.

Существует целый ряд координационных способностей, нарушение которых оказывает существенное влияние на успешность выполнения разнообразных движений, связанных с механизмами поддержания позы и равновесия тела, но они оставлены вне поля зрения существующих методик и устройств. Применяемые в настоящее время клинические тесты позволяют определить выраженные нарушения равновесия и координации движений, но не дают возможности выявить начальные проявления этих нарушений, дать им количественную оценку. Главное, применяемые тесты не позволяют осуществлять обучение пациента при выявлении нарушения двигательных функций. В связи с этим остается актуальным вопрос использования неинвазивной, современной и высокоточной аппаратуры, приспособленной не только для диагностики, но и для активного обучения и восстановления нарушенных двигательных функций у больных. Активация естественных функциональных резервов организма (в первую очередь головного мозга) является одним из наиболее перспективных подходов в реабилитации больных с двигательными нарушениями [4]. К таким относится метод биологической обратной связи, возможности которого в последнее время существенно расширились благодаря интенсивному развитию компьютерных технологий.

Разработка методов и аппаратно-программных средств диагностики и реабилитации координационных способностей человека, связанных с механизмами поддержания позы и равновесия тела на основе методологии биологической обратной связи, и определила цель исследования. В работе использованы следующие методы: аппаратно-программные, компьютерного моделирования, технические с целью конструирования компьютеризированного устройства для реабилитации больных с двигательными нарушениями, неврологические.

В процессе совместных исследований коллектива сотрудников Объединенного института машиностроения НАН Беларуси, Института физиологии НАН Беларуси и БелМАПО Министерства здравоохранения Республики Беларусь создан опытный образец стабильнографической платформы и апробирована методика коррекции статических рефлексов при их нарушении. Оригинальная методика и устройство совместного коллектива авторов защищены патентом Республики Беларусь № 3679 «Устройство для самобалансировки».

Устройство включает опорную платформу, установленную на основании посредством сферической опоры и подпружиненную относительно основания корпуса. Помимо этого устройство содержит чувствительный элемент, отличающийся от известных прототипов тем, что выполнен в виде двухкоординатного акселерометра, установленного в центральной части опорной платформы, аналоговые сигналы от которого накапливаются в цифровой форме в компьютере. Указанное отличие позволяет снизить инерционность устройства и повысить эффективность его применения в клинической практике. Это позволяет врачу количественно оценить характер нарушения рефлексов позы и положения, а пациенту визуализировать изменение центра тяжести на экране монитора и оперативно осуществить коррекцию нарушенного равновесия.

Устройство для самобалансировки функционирует следующим образом. Испытуемый располагается в вертикальном положении на опорной платформе так, чтобы центр его тела находился в центральной части платформы. При этом платформа вместе с акселерометром совершает угловые перемещения относительно сферической опоры в ту или иную стороны в зависимости от отклонения центра тяжести тела испытуемого от состояния равновесия. Испытуемый после краткого инструктажа на первом этапе наблюдений в течение одной минуты старается удерживать равновесие, руководствуясь сигналами от акселерометра об угловых перемещениях платформы относительно силовых линий гравитационного поля Земли, отображаемых в виде четкой схемы на экране компьютера. Помимо визуального предусмотрен и используется вербальный контроль, когда пациент после краткого инструктажа реагирует на звуковые сигналы при нарушении положения тела в пространстве. Это позволяет использовать стабилографическую платформу у людей с ослабленным зрением.

По суммарной величине отклонения платформы относительно плоскости, перпендикулярной силовым линиям гравитационного поля, осуществляется прецизионный контроль эффективности функции равновесия испытуемого в течение нескольких дней и недель наблюдения. В этом отношении разработанное устройство выгодно отличается от аналогов, в которых функция равновесия оценивается по отклонениям опорной платформы относительно основания. Таким образом, разработанное техническое решение позволяет повысить точность оценки функции равновесия челове-

ка путем непосредственного измерения отклонений опорной платформы относительно силовых линий гравитационного поля.

В процессе отработки методики анализа рефлексов положения в клинической лаборатории кафедры неврологии БелМАПО МЗ Республики Беларусь на базе 5-й клинической больницы г. Минска принимали во внимание ряд аспектов. Во-первых, этический аспект, осуществляя все наблюдения только с разрешения испытуемых. Во-вторых, учитывали, что даже здоровые добровольцы при расположении на платформе испытывают в первый момент (или на протяжении нескольких тестов) закономерный дискомфорт. Для предотвращения неожиданной потери равновесия и возможного падения обследуемого рядом с ним постоянно находился врач и ученый, которые обучали на протяжении первых двух-трех сеансов пациента фиксировать события на экране монитора и реагировать на звуковые раздражения. Обычно после двух-трех обучающих попыток испытуемые быстро восстанавливали равновесие после его нарушения в результате выполнения тестов.

При обследовании больных цереброваскулярными заболеваниями обращено внимание на два дополнительных аспекта, соблюдение которых позволяло зафиксировать динамику восстановления рефлексов положения. Во-первых, постоянно осуществляли количественную оценку характера нарушений системы контроля статических рефлексов (частоту отклонений от вертикальной оси, сторону отклонения, латентный период двигательных реакций). Эти данные фиксировали в цифровом виде в памяти компьютера. Во-вторых, в процессе проведения систематических обучающих сеансов (не менее двух раз в неделю) контролировали характер реализации статических и статокINETических рефлексов. Этот аспект важен с точки зрения оценки эффективности проводимой терапии, направленной на восстановление контроля нарушенных функций у конкретного больного. При длительном сохранении дисфункциональных проявлений, несмотря на проводимый «тренинг» и активную патогенетическую терапию, формировали два наиболее частых суждения – рекомендовать изменить схему проводимого лечения или дополнительно обследовать больного с целью уточнения причин стойкой «ригидности» его нервной системы и, в частности, системы контроля статических и статокINETических рефлексов к осуществляемым патогенетическим мероприятиям.

Таким образом, разработанное устройство и метод для количественной оценки степени нарушения рефлексов положения оказались весьма эффективными в практическом отношении. С помощью стабиллографической платформы возможно не только оперативное определение особенностей нарушения в системе контроля статических и статокINETических рефлексов, но их коррекция. Метод апробирован и внедрен в неврологическом отделении 5-й клинической больницы г. Минска благодаря инициативе одного из соавторов работы – профессора В. В. Евстигнеева. В перспективе указанное устройство и метод могут стать основой для реально расширения возможностей восстановительной медицины.

Список литературы

1. Zehr E. P., Carroll T.J., Chua R. et al. // Can. J. Physiol. Pharmacol. – 2004. – Vol. 82. № 8–9. – P. 556–568.
2. Zhang L. Q., Rymer W. Z. // J. Neurophysiol. – 2001. – Vol. 86. – № 3. – P. 1086–1094.
3. Бабияк В. И., Базаров В. Г., Ланцов А. А. // Новости оториноларингол. и логопатол. – 2000. – № 2 (22). – С. 67–73.
4. Schouten A.C., de Vlugt E., van der Helm F.C., Brouwn G.G. // Biol. Cybern. – 2001. – Vol. 84. – № 2. – P. 143–152.

МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЙ МОТОРИКИ КИШЕЧНИКА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КОЛИТА

В. А. Сергеев, Л. М. Комаровская

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Транзит, т. е. перемещение содержимого кишечника в естественном направлении, является результатом сложного взаимодействия перемешивающих и перистальтических сокращений в норме и патологии. Однако в литературе нет единого мнения о характере и механизмах нарушения моторики и продвижения химуса как в клинике болезней, обусловленных воспалением слизистой оболочки кишки, так и на разнообразных моделях, предложенных для изучения патогенеза и разработки принципов адекватного лечения колита [3; 4]. Кроме того, экспериментальные исследования в этом направлении проводились исключительно на бодрствующих крысах, которым через хронически имплантированные катетеры вводили маркер пропульсии – радиоактивный препарат или неабсорбируемую краску.

Цель настоящей работы – определить особенности перемещения маркера по толстой кишке у здоровых и пораженных экспериментальным колитом наркотизированных крыс. Учитывая возможность участия нервных (рефлекторных) механизмов в нарушении пассажа химуса, обусловленном воспалением, параллельно изучали особенности электрической активности гладких мышц ободочной кишки до и после раздражения механорецепторов, расположенных проксимальнее зоны воспаления, путем растяжения баллоном мышечной оболочки слепой кишки.

Материал и методы. Предварительно под легким эфирным наркозом самцам белых крыс массой 200–300 г в нисходящую ободочную кишку ректально вводили 4% уксусную кислоту [4]. Через 2–3 суток этих животных подвергали анестезии уретаном (1,5 г/кг) и лапаротомии в условиях тепловой камеры при 30 °С. В полость слепой кишки вблизи слепоободочного соединения инъецировали 0,2 мл 5 %-ную (50 мг в 1 мл 0,9 % NaCl) раствора пигмента Evans blue (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ, U.S.A). Для стимуляции перистальтики на поверхность слепой кишки накладывали тонкий слой ваты, пропитанной раствором ацетилхолина (2×10^{-5} г/мл) в 0,9% NaCl. Далее, через 2 или 4 ч после введения красителя, удаляли толстую кишку от основания слепой кишки до конца прямой. Транзит оценивали, измеряя расстояние, пройденное раствором пигмента, от основания слепой кишки до самой дистальной точки его миграции. Кроме того, в настоящей работе в аналогичных описанным выше условиях острых опытов под тиопенталовым наркозом (0,07 г на кг массы) регистрировали потенциалы гладких мышц толстой (проксимальной ободочной) кишки крыс. Маркер в этих опытах в кишку не вводили. Использовали хлорсеребряные биполярные электроды, располагаемые на поверхности кишки. Подробное описание электрофизиологических опытов дано в предыдущей работе [1].

Результаты и обсуждение. Используемые для регистрации скорости транзита современные методики основаны на измерении перемещения маркеров пропульсии в аборальном направлении по кишечнику (угля, сульфата бария, болюса физиологического раствора, меченого радионуклидом, красителей карминового или фенолового красного) фактически или за определенное время после тех или иных воздействий. Эванс синий является общепринятым и доступным маркером [3]. Наши установочные наблюдения не

выявили статистически значимых отличий между длиной препаратов толстой кишки, измеряемой в разных сериях опытов (график А). Кроме того, отмечено, что продвижение краски ограничивается наличием в полости нисходящей ободочной кишки фекальных пеллет, о чем свидетельствовало их окрашивание с краниальной стороны. На графике Б 2 видно, что тотальный пассаж при наличии фекальных пеллет в полости кишки достоверно ниже, чем в их отсутствии (Б 1).

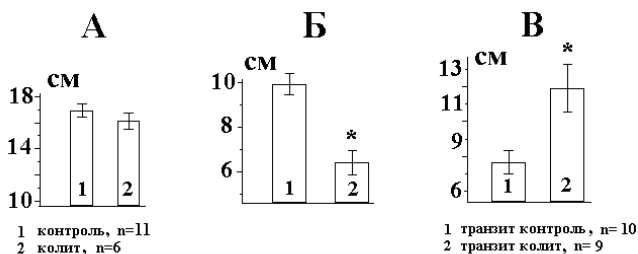
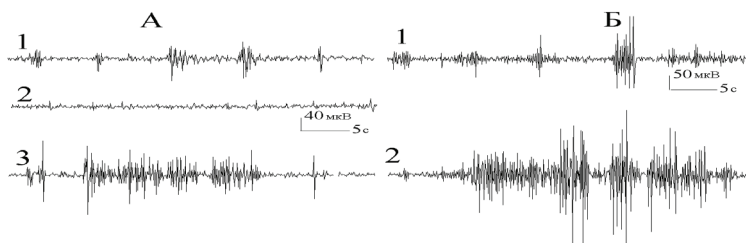


Рис. На графиках: А – соотношение усредненных измерений (в см) длины препаратов толстой кишки здоровых и пораженных колитом крыс (1,2); Б – среднее расстояние, на которое переместилась краска в отсутствии (1) и при наличии в кишке пеллет (2); В – расстояние, пройденное маркером по толстой кишке в течение 4-х ч в контроле, либо за то же время на 2–3 сутки после введения в полость ободочной кишки 4%-ного раствора уксусной кислоты (1 – контрольные опыты, 2 – в разгар воспалительного процесса. * – различия достоверны, $P < 0,05$).

Внизу – быстрые, высоковольтные потенциалы гладких мышц краниального участка ободочной кишки до (А, контроль) и на 4-е сутки формирования экспериментального колита (Б). Приведены отдельные фрагменты электроэнтеромиограммы соответствующего опыта, где 1 – активность в фоне, 2, 3 – после растяжения слепой кишки баллоном с воздухом

График В, демонстрирующий сравнение суммарных контрольных измерений (с пеллетами и без них) с результатами измерений в разгар колита, отчетливо и достоверно выявляет повышение скорости продвижения метки, свидетельствующее о диарее, проявление которой на 2–3 сутки развития экспериментального колита отмечено у всех подопытных животных. В процентном выражении транзит маркера по толстой кишке после аппликации ацетилхолина на поверхность слепой кишки в области ее основания у контрольных животных составил $42 \pm 4,4\%$ от средней полной длины толстой кишки, тогда как в условиях экспериментального колита – $67,4 \pm 5,3\%$.

Механические воздействия на рецепторы слепой кишки путем растяжения введенным в ее полость тонкостенным резиновым баллоном сопровождаются разнонаправленными, неоднозначными реакциями потенциалов гладких мышц изучаемого отдела кишечника. В данной серии опытов проведен специальный анализ с целью изучения характера изменений пиковых, быстрых разрядов, отражающих процесс сокращений кишки.

Записанные на жестком диске компьютера потенциалы подвергались с помощью стандартной программы фильтрации, а именно выделению из суммарной активности быстрых потенциалов. Как следует из графиков отдельных опытов и иллюстрирующих электроэнтеромиограмм, в проксимальном участке ободочной кишки наступает тормозной ответ, сменяемый повышением амплитуды в залпах быстрых потенциалов. В условиях колита регистрируется увеличение амплитуды залповых электрических разрядов до воздействий. Растяжение слепой кишки баллоном вызывает более высокие по амплитуде всплески пиковой активности, увеличивается их количество. Результаты свидетельствуют, что пиковая активность гладких мышц изучаемого сегмента кишки (отражающая его сокращения) увеличивается в сравнении с контролем как до воздействий на рецепторы, так и под влиянием растяжения слепой кишки. Однако при раздражении механорецепторов возбуждающая реакция наступает приблизительно в 55% опытов, а в остальных экспериментах эффекты отсутствуют, либо наблюдается угнетение потенциалов.

Результаты настоящей работы позволяют заключить, что в условиях колита ускорение транзита маркера, введенного в слепую кишку, первоначально связано с местным раздражением оконча-

ний афферентных волокон. При возбуждении механорецепторов по механизму рефлекса, замыкающегося в интрамуральных сплетениях, активизируется моторика слепой кишки, и, одновременно, при участии экстрамуральных рефлексов, реализуемых на уровне сегментарных и надсегментарных нервных структур, изменяется моторика толстой кишки. Ускорение транзита по указанному рефлекторному механизму наступает вероятно при различном соотношении возбужденных и заторможенных участков толстой кишки.

По данным литературы на продвижение маркера влияют не только пропульсивные, гигантские перистальтические сокращения дистальной части толстой кишки, но также непропульсивные, перемешивающие, фазические сокращения, присущие проксимальной толстой кишке [2; 3]. Усиленный пассаж уместно связать с увеличением пропульсивной перистальтики и ослаблением непропульсивных сокращений. По другим сведениям у анестезированных крыс в средней области толстой кишки частота гигантских сокращений составляет 0,3–0,4 цикла в минуту, причем 25–30% этих сокращений мигрируют в дистальную часть толстой кишки [5]. Можно предположить, что эта часть мигрирующего комплекса ответственна за быстрый транзит в дистальной, поврежденной колитом кишке.

Подводя итог, можно констатировать, что интенсификация транзита по толстой кишке в значительной мере может определяться раздражением механорецепторов слепой кишки и рефлекторным изменением моторики толстой кишки.

Список литературы

1. Солтанов В. В., Сергеев В. А., Комаровская Л. М. // Весті НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2007. – № 3. – С. 12–19.
2. Malagelada J. R., Azpiroz F. // Handbook of Physiology. The Gastrointestinal system. Section 6. – Vol. 1. – Bethesda, 1989. – P. 909–937.
3. Myers B. S., Dempsey D. T., Saban Yasar et al. // J. Surgical Research. – 1997. – Vol. 69. – P. 107–112.
4. Myers S. B., Martin J. S., Dempsey D. T. et al. // Am. J. Physiol. – 1997. – Vol. 273. – № 4. – P. G928–G936.
5. Tomaru A., Ishii A., Kishibayashi N., Karasawa A. // Jpn. J. Pharmacol. – 1993. – Vol. 63. – № 4. – P. 525–528.

АКТИВНОСТЬ ЭФФЕРЕНТНЫХ ВОЛОКОН КРАНИАЛЬНЫХ БРЫЖЕЕЧНЫХ НЕРВОВ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КОЛИТА

В. В. Солтанов, Л. М. Комаровская

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Нарушения висцеральных функций, сопряженные с возникновением воспалительных процессов во внутренних органах, предопределены в значительной мере отклонениями в работе нервно-рефлекторных механизмов. Согласно данным литературы плотность симпатических эфферентных волокон в слизистой оболочке прямой кишки у пациентов с ulcerативным колитом значительно увеличена [1]. В то же время в слизистой и подслизистой оболочке кишки у лиц с болезнью Крона отмечено ослабление адренергической иннервации. Соответственно этим материалам приводится ряд наблюдений о снижении уровня катехоламинов в воспаленной кишке и торможении выделения норадреналина [2]. Приведенные наблюдения касаются местных структурно-функциональных изменений в иннервации воспаленных участков кишки. В предыдущих наших исследованиях установлено, что после формирования в экспериментах на крысах воспаления в ободочной кишке раздражение рецепторов воспаленного и соседних участков толстой кишки сопровождается увеличением амплитуды потенциалов гладких мышц тощей кишки и желудка, т. е. стимулирующими реакциями вместо обычно регистрируемых в норме тормозных ответов [2]. Можно допустить на основании этих данных, что при колите происходит ослабление адренергических рефлекторных влияний с рецепторов дистальных отделов кишечника на проксимальные. Настоящая работа проведена с целью экспериментальной проверки указанного предположения.

Материалы и методы. Опыты проведены на 32 разнополых белых крысах массой 200–250 г, наркотизированных внутривенно тиопенталом натрия (70 мг/кг). Животных располагали на термостабильном столике при $t +27-28$ °С. После лапоротомии препарировали и перерезали одну из ветвей краниальных брыжеечных нервов вблизи стенки тощей кишки. Эфферентную импульсацию отводили с помощью подвесных хлорсеребряных электродов от центрального конца этого нерва. При длительной регистрации эфферентной активности нерв вместе с электродами

покрывали смесью парафина с вазелиновым маслом. В других сериях опытов записывали интегрированную эфферентную импульсацию брыжеечного нерва одновременно с потенциалами гладких мышц с помощью хлорсеребряных электродов, располагаемых на поверхности различных отделов кишки. Импульсация записывалась после интегрирования с помощью интегратора, сигнал на выходе которого по эффективному значению напряжения соответствовал площади входной импульсации – то есть был пропорционален амплитуде, длительности и частоте нервных импульсов. Использовали усилитель биопотенциалов УБФ-4-01 (постоянная времени 2,2 с) компьютеризированной электрофизиологической установки. После усиления потенциалов сигналы поступали на 12-разрядный аналого-цифровой преобразователь АЦП (производство АО «Спецприбор», г. Минск) с шагом дискретизации 20 мкс и больше и фиксировались на жестком диске компьютера на базе процессора Pentium II. Записи потенциалов анализировали в автономном режиме по разработанным программам [3].

Изучали изменения потенциалов гладких мышц и эфферентных волокон, вызываемые раздражением механорецепторов восходящей ободочной кишки путем ее растяжения баллоном, заполняемым воздухом под контролем манометра, либо рецепторов серозной оболочки, для чего на поверхность кишки наносили с помощью ватки адреналин, разведенный в изотоническом растворе NaCl (10^{-4} г/мл). Площадь раздражаемой поверхности кишки составляла 2–2,5 см².

Модель экспериментального колита создавали общепринятым методом – посредством введения в нисходящую ободочную кишку 1 мл 4%-ной уксусной кислоты. После этого животные содержались в виварии на обычном, в соответствии с установленными нормами, рационе питания. Крыс брали в острый опыт на 3–5 сутки после отмеченной выше манипуляции введения раздражителя. О наличии повреждений в ободочной кишке судили по макроморфологическим показателям, описанным ранее [4].

Результаты и обсуждение. Эфферентная активность центральных концов краниальных брыжеечных нервов, иннервирующих в данном случае краниальную часть тощей кишки, представлена, как и в нервах других отделов кишки, сравнительно интенсивной залповой импульсацией. Перерезка дорсального ствола блуждающего нерва под диафрагмой (где проходят парасимпатические эф-

ферентные волокна к тощей и подвздошной кишке) не влияла существенно на уровень тонической и стимулируемой раздражением рецепторов кишки активности. Поэтому есть фактические основания полагать, что регистрируемые в данных условиях реакции представлены импульсацией в основном симпатических эфферентных волокон. Активность парасимпатических эфферентных волокон вагуса не выявлялась в случае отведения интенсивной суммарной импульсации симпатических эфферентов. Растяжение восходящей ободочной кишки баллоном, введенным в ее просвет (давление 25–30 мм рт.ст.), сопровождалось четким увеличением частоты и амплитуды этой суммарной активности. После прекращения растяжения импульсация возвращается к исходному уровню (рис. А).

Иная картина отмечалась в аналогичных опытах, проведенных на 3–5 сутки развития колита. Обращает на себя внимание прежде всего тот факт, что исходная тоническая центробежная активность брыжеечных нервов того же отдела кишки была значительно менее выраженной. Растяжение ободочной кишки в части опытов (35%) приводило к угнетению регистрируемых потенциалов (рис. Б). В других случаях эффекты раздражения отсутствовали либо (37%) возникали возбуждающие реакции, которые оказывались намного слабее в сравнении с контролем. Согласно результатам количественной оценки двух серий экспериментов средняя амплитуда колебаний интегрированной фоновой эфферентной импульсации в контроле составляла $46,25 \pm 0,76$ мкВ ($n = 12$), а после формирования воспаления (на 3–5 сутки) в нисходящей ободочной кишке – $8,63 \pm 0,2$ мкВ ($n = 11$), $P = 0,001$.

Максимальная амплитуда интегрированной активности во время растяжения ободочной кишки составляла: в контроле – $222,3 \pm 25$ мкВ, в опытах на колитных животных при усилении импульсации – $30,6 \pm 5,5$ мкВ ($P < 0,001$).

Таким образом, в условиях экспериментального колита наступает значительное ослабление тонической эфферентной импульсации брыжеечных нервов тощей кишки и рефлекторных ответов ее усиления, появляются тормозные реакции, вызываемые раздражением рецепторов ободочной кишки. По предварительным данным, требующим дополнительных экспериментов, сохраняющаяся низковольтная активность брыжеечных нервов принадлежит эфферентным волокнам вагуса, поскольку перерезка его дорсального.

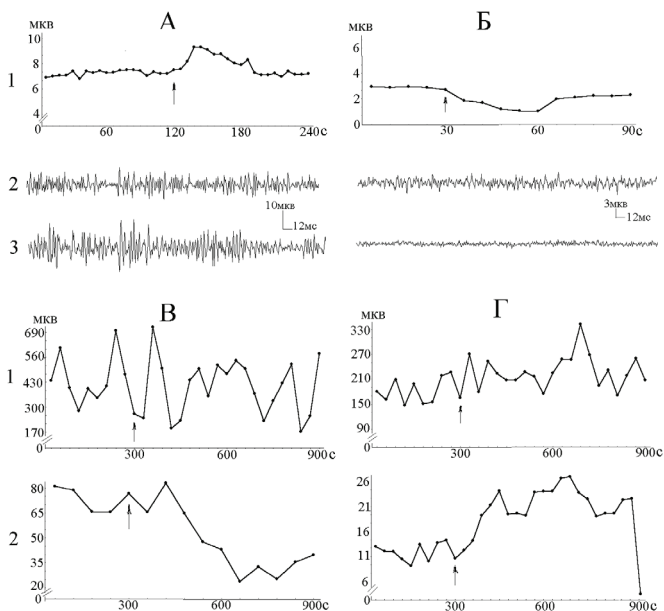


Рис. Изменение импульсации эфферентных волокон тощей кишки (А, Б) при растяжении в течение 1 мин восходящей ободочной кишки баллоном под давлением 25 мм рт.ст. в контрольных опытах (А) и на 4-е сутки формирования колита (Б). Потенциалы гладких мышц (В, Г) двенадцатиперстной (1), тощей (В, 2), восходящей ободочной (Г, 2) кишки в контроле (В) и на 4-е сутки развития колита (Г): А, 1 и Б, 1 – графики изменения амплитуды эфферентной импульсации в отдельных опытах; А, 2 и Б, 2 – фрагменты записи фоновой эфферентной импульсации; А, 3 и Б, 3 – соответственно на 40-й и 60-й секунде растяжения ободочной кишки.

Стрелки: момент начала растяжения ободочной кишки в течение 1 мин (А, Б), нанесения на серозную оболочку тощей (В) и ободочной (Г) кишки адреналина 10^{-4} г/мл. Потенциалы процессов 1 и 2 в каждой серии опытов (В или Г) регистрировали одновременно. Представлены типичные результаты отдельных опытов

ствола под диафрагмой во время опыта устраняет отмеченную импульсную активность.

Другие серии экспериментов были направлены на изучение эффектов химических раздражений тонкой и толстой кишки. В

более ранних наших работах было установлено, что норадреналин вызывает нетипичную – двигательную – реакцию воспаленной ободочной кишки после введения в ее просвет отмеченного препарата [5].

Представлялось необходимым выяснить реакции гладких мышц тонкой кишки на действие катехоламинов в условиях колита. Использовали раствор адреналина, наносимый на серозную оболочку тощей кишки вблизи отводящих потенциалы гладких мышц электродов.

При этом следили за исключением возможности попадания изотонического раствора NaCl (содержащего адреналин) в область расположения электродов. Как следует из опытов, действие адреналина проявлялось в обычных хорошо известных эффектах угнетения потенциалов тощей кишки на относительно длительное время. Одновременно, вероятно рефлекторно, реагировала и двенадцатиперстная кишка, но в последнем случае эффекты непостоянны: наряду с угнетением амплитуды медленных потенциалов отмечались (в других опытах) стимулирующие реакции (рис. В). Изменения потенциалов гладких мышц наступало иногда с большим латентным периодом, больше 5–10 мин. Угнетение амплитуды потенциалов гладких мышц на действие адреналина наблюдалось и в терминальной части подвздошной кишки после нанесения на ее поверхность адреналина. Следовательно, можно заключить, что при колите реакции гладких мышц тонкой кишки на действие катехоламинов не отличаются от тех, которые регистрируются в обычных условиях проведения эксперимента, т. е. в норме. Эти эффекты гладких мышц могут быть обусловлены не только нервно-рефлекторными, но и гуморальными механизмами, связанными с выделением в области нанесения адреналина физиологически активных веществ, действующих местно и проникающих в кровяное русло и оказывающих в итоге отдаленные влияния на органы.

Что касается ободочной кишки, то аппликация раствора адреналина на ее поверхность сопровождалась активирующей реакцией – увеличением амплитуды медленных волн. Другими словами, возникали противоположные в сопоставлении с обычными животными (без колита) стимулирующие реакции. Потенциалы двенадцатиперстной кишки в это время чаще также увеличивались (см. рис. Г). Как и в предыдущем случае, латентные периоды характеризуемых реакций оказались сравнительно большими.

Таким образом, в опытах установлено, что в условиях колита симпатическая эфферентная импульсация брыжеечных нервов тощей кишки значительно ослаблялась. В сравнении с контролем регистрировалось намного менее выраженная как тоническая, так и вызываемая раздражением механорецепторов ободочной кишки активность. Кроме того, в части опытов растяжение кишки сопровождалось не усилением, а, наоборот, угнетением импульсации эфферентных волокон. По механизму осуществления рефлекторные реакции обусловлены не только нервно-рефлекторными процессами, но и, как можно предположить, гуморальными факторами. Существенное подавление симпатического тормозного контроля гладких мышц тонкой кишки при колите должно проявляться в стимулирующих рефлекторных влияниях (возможно, за счет эфферентов вагуса) на моторику проксимальных отделов кишечника, что и было показано в предыдущих наших экспериментах [4].

Обращает на себя внимание тот факт, что у крыс с экспериментальным колитом адреналин, наносимый на серозную оболочку ободочной кишки, увеличивал амплитуду потенциалов гладких мышц в месте раздражения, т. е. оказывал возбуждающее влияние. В контроле, как известно, происходит угнетение амплитуды потенциалов и торможение моторики. Такого рода инвертированные ответы гладких мышц толстой кишки при колите, как и ослабление адренергического контроля тонкой кишки, являются согласно полученным данным важными звеньями в механизмах расстройств моторики кишечника, проявляющихся, в частности, в диарее.

Список литературы

1. Kyosola K., Pentilla O., Salaspuro M. // Scand. J. Gastroenterol. – 1977. – Vol. 12. – P. 363–367.
2. Straub R. H., Wiest R., Strauch U. G. et al. // Gut. – 2006. – Vol. 55. – P. 1640–1649.
3. Солтанов В. В., Бурко В. Е. // Новости мед.-биол. наук. – 2005. – № 2. С. 107–111.
4. Солтанов В. В. [и др.]. // Нейрогуморальные механизмы регуляции функций в норме и патологии. – Минск, 2007. – С. 224–232.
5. Сергеев В. А. // Новости мед.-биол. наук. – 2005. – № 1. – С. 31–34.

МЕЖНЕЙРОННЫЕ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ СИНЦИТИАЛЬНЫЕ СВЯЗИ В ГИППОКАМПЕ

О. С. Сотников¹, Н. М. Парамонова¹, Л. И. Арчакова²

¹Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

²Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

В 1988 г. в журнале «Acta anatomica» была опубликована статья Gonzalez Santander, Martinez Cuadrado и Rubio Sáez [11] – испанцев из Мадридского университета Alcalá de Henaris, явных сторонников нейронной теории Сантьяго Рамон и Кахаля. Однако называлась статья «Исключение в нейронной теории Кахаля: коммуникативные синапсы». В ней приводилась одна электроннограмма, демонстрирующая непрерывную цитоплазматическую связь между пре- и постсинапсом в виде трансмембранной поры. К сожалению, статья с таким названием так и была воспринята как исключение и не получила должной оценки. Однако, как показывают наши исследования, вопрос о возможности цитоплазматической синцитиальной связи в нервной системе заслуживает дополнительного обсуждения.

На материале зубчатой извилины гиппокамп предпринята проверка гипотезы о возможной синцитиальной связи между телами клеток-зерен. Показано плотное расположение нейронов и неполное их глиальное покрытие. В местах отсутствия глии отмечаются локальные сближения наружных клеточных мембран соседних нейронов. В ряде случаев в этих участках появляются перфорации мембран, обеспечивающие цитоплазматическую синцитиальную связь между нейронами, со всеми ультраструктурными признаками порации слившихся мембран. Такая связь может образовываться между телами нескольких контактирующих нейронов, формируя единый функциональный кластер. Исследования подтверждают нашу гипотезу о том, что не только в культуре ткани и в автономной нервной системе в раннем постнатальном онтогенезе, но и у взрослых животных в гиппокампе помимо синаптической и контактной электрической связи возможно наличие цитоплазматической синцитиальной межнейронной коммуникации.

Как известно, характерной особенностью нейроцитов, отличающей их от других клеток, помимо длинных отростков, синапсов

и тканевых рецепторов, является наличие глиальных сателлитов и миелиновых оболочек. Существование пограничных клеточных мембран в области синаптических межнейронных контактов и изоляции нейронов друг от друга глиальными клетками до недавнего времени считали естественным структурным основанием общепринятых представлений о дискретности нейронов и невозможности синцитиальной связи между ними.

В 2006 г. исполнилось 100 лет со времени публикации известного труда Ч. Шеррингтона «Интегративная деятельность нервной системы» [12]. Автор, оппонируя сторонникам ретикулярной (синцитиальной) формы строения нервной системы, детально обосновал свои представления о строении синапса как границы между двумя самостоятельными нервными клетками, разделяющей их анатомически и объединяющей их в единую функционирующую систему.

Современной науке, однако, стали известны и другие формы межнейронных мембранных контактов, которые играют существенную роль в интегративной функции нейронов. Получило широкое распространение представление о возможности электрической взаимосвязи контактирующих нейронов, о так называемом «электрическом синцитии» [9].

Со временем стало ясно, что и истинная цитоплазматическая межнейронная синцитиальная связь нередко отмечается у беспозвоночных [3] и в пре- и раннем постнатальном онтогенезе в автономной нервной системе позвоночных между безмиелиновыми нервными волокнами, а также между нейронами среднего мозга, в тех местах, где они еще не покрыты глией [4]. Удалось даже воспроизвести процесс слияния нервных отростков в модельных опытах в культуре ткани [13; 14]. Выявлено также реальное слияние нейронов мозга между собой при вирусных заболеваниях и со стволовыми клетками в опытах по трансплантации последних [6–8; 15].

Однако до настоящего времени остается неясным, возможны ли синцитиальная связь нейронов во взрослом состоянии и наличие синцития между телами клеток в центральной нервной системе, хотя в последнее время убедительно показаны предпосылки этого явления [1]. Исследование вопроса о возможности синцитиальной связи в ЦНС взрослого организма в области обедненной глиоцитамии и составило цель нашего исследования.

Материалы и методы. Объектом исследования служили нейроны гиппокампа. У кроликов породы Шиншилла, предварительно наркотизированных тиопенталом натрия, выделенный гиппокамп рассекали на фронтальные срезы и фиксировали в 2,5%-м растворе глутаральдегида на 0,1 М какодилатном буфере.

Затем вырезали кусочки, соответствующие дорсальному и вентральному плечу зубчатой извилины, и дофиксировали 1% OsO_4 . Далее материал обрабатывали по спиртам восходящей концентрации и заливали в смесь аралдитов по стандартной методике для трансмиссионной электронной микроскопии.

Результаты и обсуждение. Благодаря высокой плотности расположения нейронов и частому отсутствию глиальной прослойки между ними тела клеток-зерен зубчатой извилины чаще других клеток мозга контактируют друг с другом (рис. 1).

Значительная часть смежных мембран отделена друг от друга промежутками в 20 нм. Однако особенностью прилегающих мембран соседних клеток-зерен является нередкое локальное уменьшение ширины межклеточных щелей и появление в этих местах межмембранных перфораций.

Как видно на рис. 1, между одной парой нейронов может сформироваться несколько перфорированных участков.

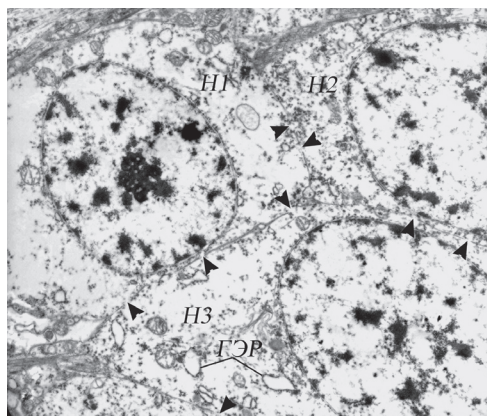


Рис. 1. Компактное расположение тел клеток-зерен гиппокампа с характерным отсутствием полной глиальной изоляции друг от друга.

Наконечники стрелок – множественные синцитиальные межмембранные перфорации; N1–N3 – тела нейронов; ГЭР – гранулярный эндоплазматический ретикулум.

Эл. микроскопия. Ув. 12500

Нередко вблизи перфорации отмечаются фрагменты разрушенных мембран в виде округлых или овальных остаточных элементов (рис. 2). Размеры перфораций могут варьировать от 20 до 360 нм. По краям перфорации мембраны соседних клеток всегда закономерно сливаются (рис.3), часто образуя в этих местах колбовидные закругления (рис. 2 А, Б). Такие закругления и остаточные мембранные фрагменты являются характерными ультраструктурными признаками порации слившихся мембран.

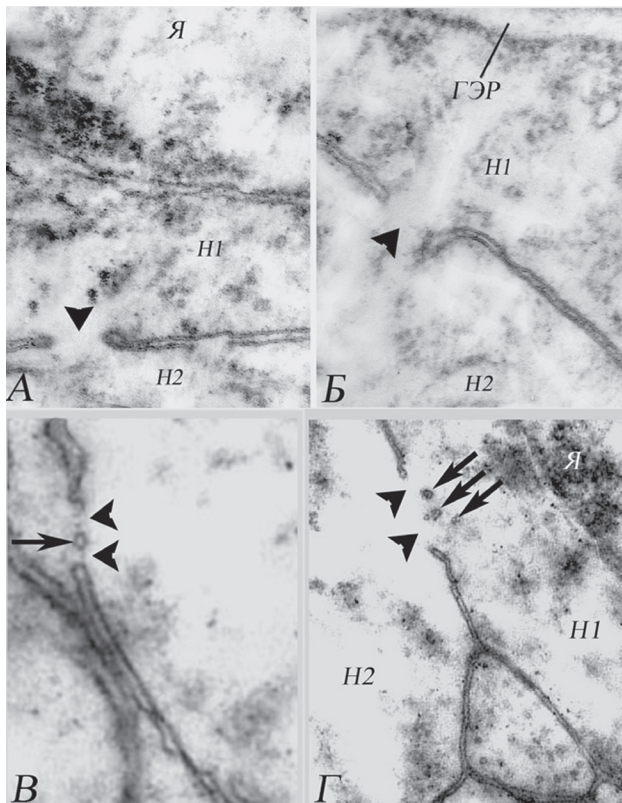


Рис. 2. Участки мембран контактирующих нейронов гиппокампа, сопровождающиеся сквозными перфорациями (наконечники стрелок) мембран. В перфорациях видны остаточные фрагменты смежных мембран (стрелки).

А–Г – варианты синцитиальных мембранных перфораций смежных нейронов гиппокампа; Н1, Н2 – тела нейронов; Я – ядра; ГЭР – гранулярный эндоплазматический ретикулум. Эл. микроскопия. Ув. А-В – 70000, Г – 50000

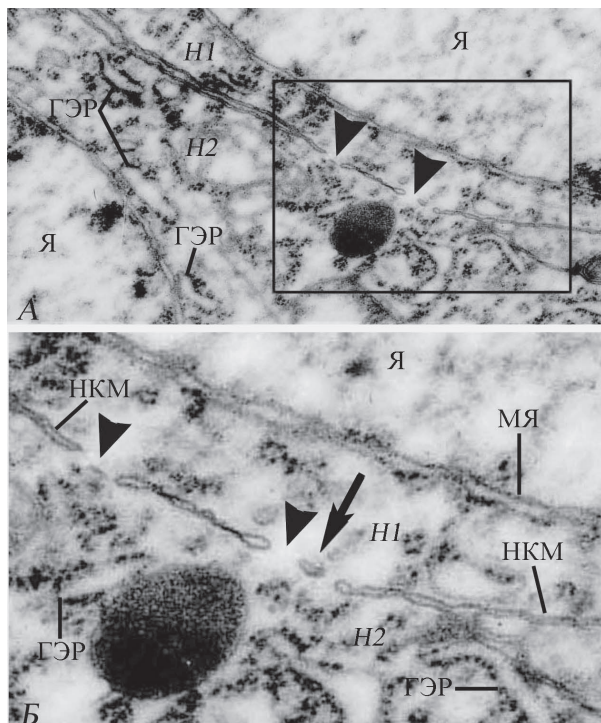


Рис. 3. Несколько перфорированных участков мембран (наконечник стрелки) одной и той же пары нейронов (Н1, Н2). Нередко вблизи перфорации отмечаются фрагменты мембран в виде округлых или овальных остаточных элементов (стрелка).

А – общий вид контактирующих тел двух нейронов гиппокампа, Б – увеличенный снимок перфорированных мембран смежных нейронов (деталь рис. 3А в рамке). Я – ядра нейронов, ГЭР – гранулярный эндоплазматический ретикул, НКМ – наружные клеточные мембраны смежных клеток. Эл. микроскопия. Ув. А – 40000, Б – 50000

В одном поле зрения обычно располагается группа контактирующих клеток, состоящая из 3-5 (иногда и более) тел нейронов, которые имеют мембранные перфорации между собой, образуя, таким образом, единое нейрональное цитоплазматическое объединение. Возможно, такая организация нейронов объясняет особенности нормального функционирования и эпилептического поведения гиппокампа при патологии.

Таким образом, проведенные исследования показывают, что синцитиальную связь в нервной системе можно наблюдать не

только у беспозвоночных, не только в искусственных условиях культивированных нейронов *in vitro* и на ранних стадиях постнатального развития *in vivo* [3; 4], но и у взрослых млекопитающих, в норме, между телами нервных клеток гиппокампа. Нельзя сказать, что межнейрональный цитоплазматический синцитий в мозгу ниже не был обнаружен ранее.

Разрушение мембран между контактирующими отростками нейронов с образованием синцития отмечены при гипоксии, морфинной интоксикации [2], в экспериментах с воздействием высоких концентраций L-глутамата [1]. Однако межмембранные перфорации контактирующих клеток-зерен гиппокампа у интактных взрослых животных, по-видимому, мы описываем впервые.

Учитывая представленные материалы, а также данные, доказывающие наличие синцитиальной связи между нейритами в интрамуральной автономной нервной системе млекопитающих на ранних этапах постнатального онтогенеза [4], и опыты по моделированию межнейронального цитоплазматического синцития в культуре ткани [13], мы считаем возможным высказать предположение о том, что в нервной системе позвоночных существует не две, а три принципиально различные формы межнейрональной связи: химическая синаптическая связь, связь через электрически проницаемые авезикулярные мембранные контакты и синцитиальная связь. Наибольшая распространенность и подавляющее функциональное значение у взрослых особей принадлежит синаптической связи.

На ранних досинаптических этапах онтогенеза и в филогенезе широкое распространение, видимо, имеют авезикулярные мембранные контакты [6; 10]. Некоторое их количество остается и у взрослых позвоночных в виде самостоятельных образований или смешанных синапсов [5]. В то же время в некоторых отделах нервной системы возможно наличие и синцитиальной формы связи. Морфологическим условием, при которых возможно формирование синцитиальной связи в нервной системе, является неполное покрытие глией смежных нервных структур.

Пролить свет на функциональные предпосылки, а также биологическую необходимость и целесообразность синцитиальной межнейрональной связи могут дальнейшие исследования.

Работа поддержана грантом РФФИ 08-04-90033-Бел_а.

Список литературы

1. Самосудова Н. В., Ларионова Н. П., Чайлахян Л. М. // ДАН. – 1994. – Т. 336. – № 3. – С. 406–409.
2. Семченко В. В., Боголепов Н. Н., Степанов С. С. Синаптоархитектоника коры большого мозга. – Омск, 1995.
3. Сотников О. С., Малашико В. В., Рыбакова Г. И. // ДАН. – 2006. – Т. 410. – № 1. – С. 130–133.
4. Сотников О. С., Малашико В. В., Рыбакова Г. И. // Морфология. – 2007. – Т. 131. – № 2. – С. 7–15.
5. Шаповалов А. В., Ширяев Б. И. Передача сигналов в межнейронных синапсах. – Л., 1987.
6. Amitai Y., Gibson J.R., Beierle S.L. et al. // J. Neurosci. – 2002. – Vol. 22. – № 10. – P. 4142–4152.
7. Bae J. S., Furuya S., Shinoda Y. et al. // Hum. Gene Ther. – 2005. – Vol. 16, № 8. – P. 1006–1011.
8. Crain B. J., Tran S. D., Mazey F. // J. Neurol. Sci. – 2005. – Vol. 233, № 1–2. – P. 121–123.
9. Foster A. M., Sengelaub D. R. // Brain Res. – 2004. – Vol. 1009, № 1–2. – P. 98–109.
10. Penn A. A., Wong R. O., Shatz C. J. // J. Neurosci. – 1994. – Vol. 14, № 6. – P. 3805–3815.
11. Santander R. G., Cuadrado G. M., Sáez M. R. // Acta anatomica. – 1988. – Vol. 132. – P. 74–76.
12. (Sherrington Ch. 1906) Шеррингтон Ч. С. Интегративная деятельность нервной системы. – Л., 1969.
13. Sotnikov O. S., Rybakova G. I. // Biolody Motility. Basic Research and Practice. – Pushchino. RAS, 2006. – P. 64–65.
14. Spooner B. S., Luduena M. A., Wessels N. K. // Tissue Cell. – 1974. – Vol. 6, № 3. – P. 399–409.
15. Terashima T., Kojima H., Fujimiya M. et al. // J. Soc. Biol. – 2005. – Vol. 199, № 1. – P. 35–44.

НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ В МОЗЖЕЧКЕ И ПРОЦЕССЫ КОНСОЛИДАЦИИ ОБОРОНИТЕЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ

З. И. Сторожева

НИИ нормальной физиологии им. П. К. Анохина РАМН,
Москва, Россия

Изучение участия мозжечка в механизмах памяти и обучения в последнее время привлекает внимание все большего количества нейрофизиологов. В лабораторных и клинических исследованиях выявлено вовлечение срединного мозжечка в формирование долговременного угашения акустической стартл-реакции, а также

в консолидацию поведения условного замирения [2; 4; 5]. Однако механизмы, обеспечивающие участие мозжечка в этих и других формах приспособительного поведения, еще только предстоит исследовать.

Стартл-реакция, комплексная генерализованная реакция организма на внезапный интенсивный стимул, включает ориентировочную и оборонительную компоненты. Как правило, в ответ на первые предъявления звукового сигнала в структуре ответа преобладает ориентировочный компонент, который в дальнейшем сменяется оборонительным [3].

Ранее нами было обнаружено, что аппликация ингибитора синтеза белка циклогексимида на кору червя мозжечка в различные сроки после сенаса угашения АСР избирательно нарушает консолидацию привыкания отдельных компонентов стартл-реакции [1]. Так, при введении через 2 часа после обучения циклогексимид вызывает нарушение консолидации привыкания стартл-реакции на стадии преобладания ориентировочно-исследовательской составляющей, а также подавляет консолидацию обстановочного условного замирения, вызванного интенсивной звуковой стимуляцией. В условиях введения циклогексимида через 5 минут после обучения имеет место нарушение консолидации долговременного угашения АСР на стадии преобладания оборонительной составляющей, при этом консолидация поведения замирения не нарушается.

Цель данного исследования — выявление нейрхимических коррелятов обнаруженной ранее избирательности влияния циклогексимида на различные компоненты оборонительного поведения, возникающего в условиях интенсивной акустической стимуляции.

В работе были поставлены следующие задачи:

1. Изучить изменения медиаторных аминокислот (аспартата, глутамата, глицина, ГАМК и таурина), а также биогенных аминов в черве мозжечка после формирования угашения акустической стартл-реакции и поведения замирения.

2. Исследовать изменения содержания исследуемых медиаторов в условиях введения циклогексимида в кору червя мозжечка через 5 минут и через 2 часа после сеанса формирования угашения АСР и поведения замирения.

Материалы и методы. Исследования проведены на крысах-самцах линии Вистар массой 250–300 г, содержавшихся в клетке

при свободном доступе к пище и воде. Время проведения опытов – с 11.00 до 17.00 часов.

Эксперименты по изучению угашения АСР и поведения замирания проводили в камере из плексигласа размером 15x10x17 см. Для регистрации амплитуды АСР камеру с животным устанавливали на платформу, оснащенную тензодатчиком, соединенным с компьютером. Подача звуковых стимулов осуществлялась усилителем мощности 100У-101 (Россия) через динамик 1ГД-400Р. Модуляция звукового сигнала контролировалась персональным компьютером. В качестве стимула использовали широкополосный шум длительностью 500 мсек. и громкостью 110 ДБ, а в качестве фонового сигнала применяли широкополосный шум громкостью 72 ДБ. Регистрацию поведения замирания – времени полного отсутствия движения животного, включая движение вибрисс, – осуществляли визуально.

Циклогексими́д в дозе 50 мкг апплицировали на кору червя мозжечка в 3 мкл физиологического раствора через 5 минут или через 2 часа после сеанса угашения. Контрольным животным вводили физиологический раствор в объеме 3 мкл.

Для определения содержания нейромедиаторов в мозжечке животных, их декапировали через 24 часа после обучения. После декапитации у животных на холоду выделяли червь мозжечка, гомогенизировали в 20 объемах 0,1 N HClO₄ и центрифугировали при 12000 g в центрифуге с охлаждением. В супернатанте проводили определение медиаторных аминокислот, и биогенных аминов.

Определение содержания тормозных (ГАМК, глицин, таурин) и возбуждающих (аспартат, глутамат) нейромедиаторных аминокислот проводили методом ВЭЖХ/ФД. К 25 мкл супернатанта добавляли 10 мкл о-фталальдегид-сульфитного реактива в 0,1 M боратном буфере (pH 9,5) для деривации аминокислот. ГАМК, аспартат, глутамат, таурин, глицин в концентрации 0,001 мг/мл в концентрации 0,1 n HClO₄ использовали в качестве стандартной смеси для калибровки прибора, через 15 мин после инкубации при комнатной температуре. 20 мкл раствора наносили на колонку Agilent Hypersil ODS 5 мкМ, 4,6*250 Регистрацию продуктов разделения проводили на флюоресцентном детекторе Agilent 1100, США, при волне возбуждения 230 нм волне эмиссии 392 нм. Мобильная фаза состояла из 0,05 M фосфатного буфера (pH 5,6) с 0,025 мМ ЭДТА и 5% метанола.

Содержание норадреналина, дофамина, серотонина, а также 5-оксииндолилуксусной кислоты, гомованилиновой и диоксифенилуксусной кислот определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией (ВЭЖХ/ЭД) на хроматографе LC – 304Т (BAS, WEST LAFAYETTE, США), снабженным инжектором REODYNE-7125 с петлей на 20 мкл для нанесения образцов. Изучаемые вещества разделяли на обращеннофазной колонке (3x150 мм, C18, 5 мкм, МНПП «Элсико», Москва) и определяли электрохимически, используя амперометрический детектор LC-4В с ячейкой TL-5. Маточные стандарты готовили в 0,1 Н HClO₄. Подвижную фазу приготавливали следующим образом: на 1 л деионизированной воды – 5,76 лимонной кислоты, 4,72 г KН₂РO₄, 100мг ЭДТА, 425 мг ионопарного реагента октилсульфата натрия и 9%-го органического модификатора ацетонитрила. Используя 10Н NaOH, устанавливали рН=3,9.

Результаты и обсуждение. Полученные данные об изменении содержания нейромедиаторных аминокислот, а также серотонина и его метаболита – 5-оксииндолилуксусной кислоты, представлены на рисунке. Как видно из представленных данных, через 24 ч после сеанса формирования угашения АСР и поведения замирания в черве мозжечка наблюдается достоверное возрастание содержания как возбуждающих, так и тормозных аминокислот: аспартата, глутамата, глицина, ГАМК и таурина.

В то же время обнаружено, что содержание серотонина и его метаболита 5-ОИУК значительно снижается. Достоверных изменений содержания норадреналина, а также дофамина и его метаболитов через 24 ч после обучения выявлено не было.

Аппликация циклогексида на кору червя мозжечка как через 5 мин, так и через 2 ч после обучения приводила к снижению содержания аспартата, глутамата ГАМК и таурина до уровня, наблюдающегося у контрольных необученных животных.

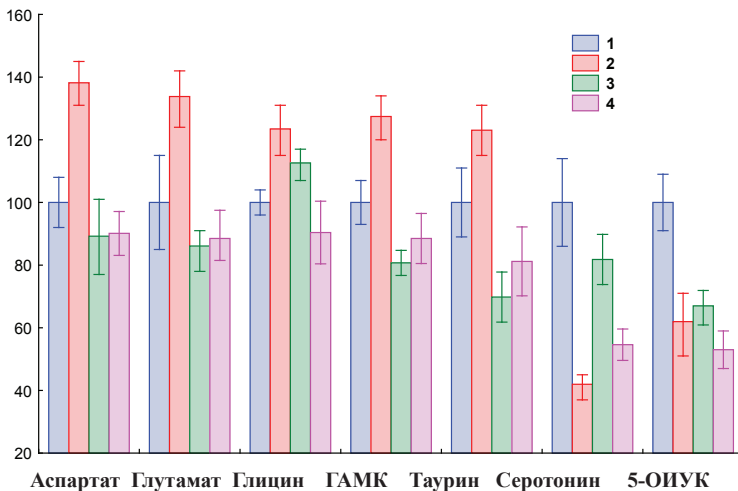


Рис. Содержание нейромедиаторов в черве мозжечка через 24 ч после обучения и при аппликации на кору червя мозжечка циклогексимида

По оси ординат – изменения (в %) относительно уровня контрольных необученных животных. 1 – контрольные необученные животные; 2 – контрольные обученные животные; 3 – обученные животные с введением циклогексимида через 5 мин после обучения; 4 – обученные животные с введением циклогексимида через 2 ч после обучения

Вместе с тем при введении через 5 мин после обучения циклогексимид избирательно нарушал процесс снижения активности серотонинергической системы таким образом, что уровень серотонина в этой группе животных не отличался от уровня, наблюдаемого в необученной контрольной группе. Избирательность влияния циклогексимида была обнаружена также в отношении уровня глицина. Его снижение по сравнению с контрольными обученными животными наблюдалось только при введении ингибитора синтеза белка через 2 ч, но не через 5 мин после обучения.

Сопоставление результатов данной работы с полученными ранее данными позволяет предположить, что снижение активности серотонинергических афферентов червя мозжечка зависит от синтеза белка в этой структуре и является частью нейрохимических процессов, обеспечивающих долговременное угашение оборонительной компоненты АСР. В то же время изменения активности глицинергической системы, опосредующей модуляцию информации,

поступающей по мшистым волокнам, со стороны лиановидных афферентов и серотонинергических афферентов (клетки Гольджи, клетки Люгаро) вовлечены в обеспечение консолидации условного страха (поведения замирания) и долговременного угашения ориентировочной составляющей акустической стартл-реакции.

Полученные результаты указывают на существование множественных механизмов пластичности в коре срединного мозжечка, обеспечивающих формирование и реализацию приспособительного поведения на основе принципов избирательности и гетерохронии.

Список литературы

1. *Сторожева З. И.* // Системные механизмы поведения: труды науч. совета по эксперим. и прикл. физиол. – 2006. – Т. 13. – С. 60–75.
2. *Leaton R. N., Supple W. F.* // *Behav. Neurosci.* – 1991. – Vol. 105, № 6. – P. 804–816.
3. *Richardson R., Wang P., Campbell B. A.* // *Psychophysiology.* – 1996. – Vol. 33, № 1. – P. 31–38.
4. *Sacchetti B., Scelfo B., Strata P.* // *Neuroscientist.* – 2005. Jun 11(3). – P. 217–227.
5. *Timmann D., Musso C., Kolb F. P. et al.* // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* – 1998. – Vol. 65, № 5. – P. 771–773.

ГОЛОГРАФИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЕДИНСТВА МИРОЗДАНИЯ

К. В. Судаков

НИИ нормальной физиологии им. П. К. Анохина РАМН,
Москва, Россия

Валерий Николаевич Гурин постоянно проявлял живой интерес к развитию теории функциональных систем в научной школе П. К. Анохина. Его особенно интересовали наши представления о голографическом принципе организации функциональных систем.

Голографический принцип, как известно, обнаружен в оптике Д. Габором. В построении голограммы обычно световая волна расщепляется специальной призмой на две волны. Одна – опорная волна, а другая – предметная, отражающаяся от объекта, который должен быть сфотографирован. Обе волны взаимодействуют на объекте в соответствии с частотами их колебаний. В основе голографии лежит эффект интерференции волн.

Основные постулаты голографии заключаются в следующем:

а) голографическое изображение возникает в результате интерфе-

ренции двух волн – опорной и предметной; б) отражение свойств целого образа в каждой элементарной единице голограммы; в) на одну фотографическую пластинку может быть наложено несколько изображений при использовании различных пространственно-частотных носителей информации. Каждое из этих изображений впоследствии может быть восстановлено в отдельности соответствующей частотой колебания опорного светового луча, не испытывая помех со стороны других изображений.

Представления о голографической организации мироздания активно развиваются Д. Бомом [9; 10].

Д. Бом считает, что вся вселенная составляет гигантскую неделимую голограмму, в которой любой ее участок отражает целостность всей голограммы. Вся осязаемая повседневная реальность, по Д. Бому, на самом деле всего лишь иллюзия, наподобие голографического изображения. Вне его находится более глубокий порядок бытия – беспредельный и изначальный уровень реальности, из которого рождаются все объекты, в том числе видимость физического мира аналогично тому, как из кусочка голографической пленки рождается голограмма. Д. Бом называет этот глубинный уровень реальности *имплицативным* (т. е. скрытым) порядком, в то время как собственный уровень существования предметов и живых существ он определяет как *эксплицативный* или раскрытый порядок. Д. Бом видит проявление всех форм вселенной как результат бесконечного процесса свертывания и развертывания между указанными двумя порядками, постулируя тем самым теорию «вложения».

Он утверждает, что так называемые «вещи» – всего лишь абстракция, способ, с помощью которого наше сознание выделяет данные аспекты. Каждая часть вселенной содержит в себе всю вселенную – Космос. Все физические объекты действительности состоят, по Д. Бому, из интерференционных паттернов, за которыми стоит голографический принцип.

Представления Д. Бома применительно к живым организмам развиты К. Прибрамом [11]. Последний, как и Д. Бом, полагает, что объективный мир не существует, по крайней мере в том виде, к которому мы привыкли. За пределами привычного мира находится огромный океан волн и частот. К. Прибрам считает, что действительность – это частотная область (имплицативный порядок), а мозг – своеобразный объектив, преобразующий частоты в объективный мир видимого.

Теория функциональных систем, предложенная П. К. Анохиным [2], позволила с новых позиций представить голографический принцип организации процессов жизнедеятельности.

Динамическая организация функциональных систем различного уровня, несмотря на их качественные особенности, всегда включает связанные саморегуляторным процессом универсальные изоморфные механизмы: результат, рецепторы результата, центр, исполнительные механизмы и обратную афферентацию о результате. Изоморфна и системная центральная архитектура функциональных систем различного уровня, включающая афферентный синтез, принятие решения, акцептор результатов действия и эфферентный синтез. Даже у одноклеточных существ при отсутствии сформированных органов имеются изоморфно организованные функциональные системы молекулярного уровня, обеспечивающие процессы приема пищи, выделения, размножения и оборонительные реакции.

Изоморфизм функциональных систем разного уровня уже в определенной степени отражает их голографические свойства.

Другое универсальное свойство функциональных систем – их иерархическое взаимодействие в целом организме. В каждый данный момент времени деятельность субъектов определяется ведущей доминирующей функциональной системой. Все другие функциональные системы либо вытормаживаются, либо своей результативной деятельностью обеспечивают деятельность доминирующей функциональной системы. По отношению к каждой доминирующей функциональной системе субдоминирующие функциональные системы в соответствии с их биологической значимостью и значимостью для социальной деятельности человека, начиная от молекулярного вплоть до организменного и социально общественного уровня, выстраиваются в определенном иерархическом порядке. Иерархические взаимоотношения функциональных систем в организме строятся на основе иерархии результатов их деятельности. Вследствие этого все субдоминирующие функциональные системы и результаты их деятельности в своей организации отражают свойства доминирующей системы и ее полезного приспособительного результата, в чем снова проявляются голографические свойства.

Ведущими компонентами функциональных систем разного уровня организации являются потребности и их удовлетворение.

Периодически возникающие метаболические потребности живых существ переводят континуум деятельности формирующихся на их основе функциональных систем в дискретную форму. Все многообразие жизнедеятельности в ее динамике разбивается на последовательный ряд результативных отрезков. Каждый результативный отрезок жизнедеятельности от потребности к ее удовлетворению, определяемый специальной функциональной системой, рассматривается нами как «системоквант» [15].

Системокванты обнаруживаются на разных уровнях, начиная от атомного до космического [7]. В живых организмах системокванты проявляются на гомеостатическом, поведенческом и психическом уровнях. Системное квантование процессов жизнедеятельности осуществляется по принципу саморегуляции за счет постоянной оценки субъектом с помощью обратной афферентации промежуточных (этапных) и конечного результатов, удовлетворяющих его ведущие потребности. В системоквантах заключены свойства волны и частицы. С одной стороны, системокванты выступают как дискретные частицы общего континуума процессов жизнедеятельности. С другой стороны, системокванты – волновой процесс периодического возникновения соответствующей потребности и ее удовлетворения [6; 7].

По аналогии с принципом голографии сигнализацию о потребности можно рассматривать – как опорную волну, а сигнализацию об удовлетворении потребности как предметную волну. Взаимодействие информационных волн о потребности и ее удовлетворении осуществляется на специальных информационных голографических экранах [8]. Голографические экраны различны у функциональных систем разного уровня организации. У одноклеточных организмов, функциональные системы которых представлены молекулярными процессами, роль голографического экрана играют плазматические мембраны и геном ядер клеток.

У многоклеточных живых организмов в процессе эволюции, особенно в связи с формированием нервной системы, сформировались специальные голографические экраны функциональных систем как в ганглиях вегетативной нервной системы, так и в различных отделах головного и спинного мозга. В зоопопуляциях стадных животных роль информационных голографических экранов играют лидирующие особи. В социальных популяциях человека в качестве информационных голографических экранов выступают

правительственные, законодательные, политические учреждения, музеи, книги, памятники культуры, компьютеры и т.д.

Информационные экраны представлены в функциональных системах акцепторами результатов деятельности, в которых на физико-химической и информационной основах формируются потребность и, опережающее средства ее удовлетворения и параметры результатов действия, удовлетворяющие исходную потребность [1].

Опережающее отражение действительности строится сигнализацией о доминирующей потребности на основе генетического и индивидуального опыта по удовлетворению этой потребности. Процессы опережающего отражения действительности, в свою очередь, позволяют живым организмам и их популяциям постоянно оценивать информацию об успешности удовлетворения различных потребностей.

Предшествует опережающему отражению запечатление на структурах акцепторов результатов действия параметров результатов, удовлетворяющих исходные потребности организма. При запечатлении параметров потребных результатов на структурах акцепторов результатов действия формируются своеобразные информационные голограммы – «образы» действительности.

Принцип системного квантования процессов жизнедеятельности позволил нам сформулировать общий закон голографического единства мироздания [4]. Согласно этому закону любые процессы косной и живой материи строятся дискретными саморегулирующимися системоквантами – единицами динамической деятельности функциональных систем – от потребности к ее удовлетворению.

При этом сигнализация о потребности выступает в форме опорной волны, а сигнализация об удовлетворении потребности – предметной, информационной волны. Взаимодействие опорной и предметной информационных волн, как указывалось ранее, осуществляется на интерференционной основе взаимодействия волновых и дискретных процессов на специальных информационных голографических экранах, которые посредством механизмов памяти определяют опережающее программирование деятельности любого системокванта. Системокванты различного уровня организации идентичны по своей архитектонике.

Взаимодействие системоквантов в мироздании осуществляется на иерархической основе. Системокванты взаимодействуют по принципу иерархии их результатов (рис.).

Системокванты более низкого уровня включаются в системокванты более высокого уровня. При этом каждый системоквант более низкого уровня в своей динамической, ритмической организации по голографическому принципу отражает свойства организации доминирующего над ним системокванта более высокого уровня.

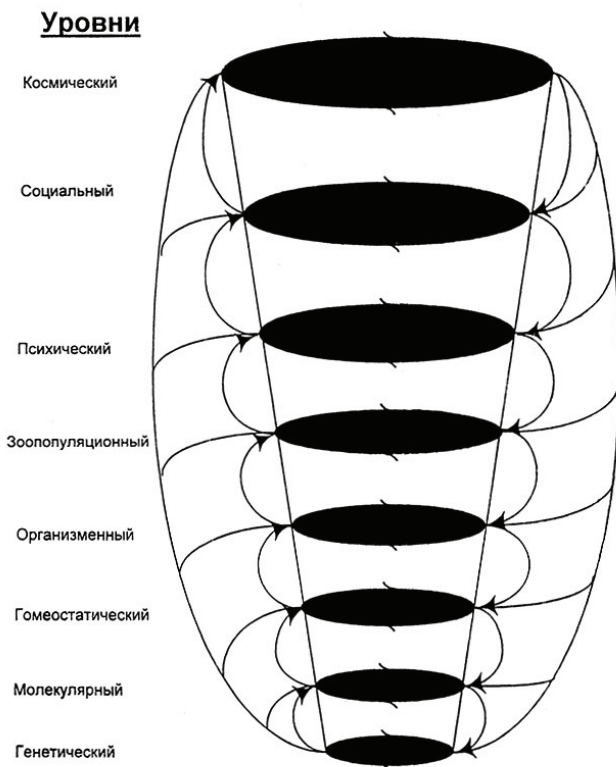


Рис. Схема иерархии системоквантов разного уровня организации

Так, системокванты атомного уровня организации отражают свойства системоквантов молекулярных химических реакций. Последние, в свою очередь, отражают свойства системоквантов организменного уровня, направленных на удовлетворение метаболических потребностей организма. Системокванты организменного

уровня – свойства системоквантов популяционного уровня. Свойства системоквантов популяционного уровня – свойства больших системоквантов космического уровня организации.

С другой стороны, системокванты каждого более высокого уровня организации на основе гармонических резонансных свойств программируют и оценивают деятельность системоквантов более низкого уровня, которые включаются в них в качестве исполнительных элементов.

Таким образом, все мироздание пронизано находящимися в тесных иерархических отношениях системоквантами различного уровня организации – от физического уровня через системокванты живых организмов до системоквантов космического уровня.

Закон голографического единства мироздания указывает на то, что все явления природы, живых организмов, зоопопуляций и человеческих сообществ тесно взаимосвязаны. Это, в свою очередь, свидетельствует о том, что природные явления и живые существа тесно зависят друг от друга.

Именно эту зависимость отражают представления В. И. Вернадского [3] о ноосфере.

Список литературы

1. Анохин, П. К. // *Вопр. философии.* – 1962. – № 7. – С. 97–111.
2. Анохин, П. К. *Биология и нейрофизиология условного рефлекса* / П. К. Анохин. – М., 1968.
3. Вернадский, В. И. *Размышления натуралиста. Научная мысль как планетное явление* / В. И. Вернадский. – М., 1977.
4. Судаков К. В. // *Вестн. новых мед. технологий.* – Тула, 2002. – Т. 9, № 1. – С. 6–11.
5. Судаков К. В. // *Вестн. Уральской мед. академ. науки.* – 2005. – № 1. – С. 48–59.
6. Судаков, К. В. *Системокванты физиологических процессов* / К. В. Судаков [и др.]. – М., 1997.
7. Судаков К. В., Боксер О. Я., Умрюхин Е. А. // *Вестн. Санкт-Петербургского отделения РАЕН.* – 1999. – № 3 (4). – С. 404–417.
8. Судаков К. В., Александров Е. А. // *Информационные модели функциональных систем.* – М., 2004. – С. 7–32.
9. Bohm? D. J. *Wholeness and the Implicate Order* / D. J. Bohm. – London, 1980.
10. Bohm, D. J. // *J. Am. Soc. for psychical research.* – 1986. – Vol. 80. – №. 2. – P. 128.
11. Pribram, K. H. *The implicate brain in quantum implications* / ed. Basis J. Hiley and F. David Peat. – London, 1987.
12. Sudakov K. V., Oumrioukhin E. A. // *Frontier Perspectives.* – 2005. – Vol. 14, № 2. – P. 19–29.

ДЕЙСТВИЕ СУБНАНОМОЛЯРНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ АНТИТЕЛ К БЕЛКУ S-100 НА СТРЕССИНДУЦИРОВАННУЮ ЭКСПРЕССИЮ РАННЕГО ГЕНА C-FOS В ПАРАВЕНТРИКУЛЯРНЫХ ЯДРАХ ГИПОТАЛАМУСА У КРЫС

*П. Е. Умрюхин¹, И. А. Хейфец², С. А. Сергеева²,
О. И. Эпштейн², К. В. Судаков¹*

¹НИИ нормальной физиологии им. П. К. Анохина РАМН,
Москва, Россия

²Научно-производственная фирма «Материя Медика Холдинг»,
Москва, Россия

В условиях эмоционального напряжения стрессиндуцированная экспрессия раннего гена c-Fos в эмоциогенных структурах головного мозга является первичным звеном, отражающим активацию симпатoadреналовой системы. Животные, предрасположенные к эмоциональному стрессу, характеризуются более выраженной экспрессией раннего гена c-Fos в головном мозге по сравнению с устойчивыми животными [1]. Известно, что субнанолярные дозы антител к белку S-100 обладают выраженным анксиолитическим и антидепрессивным действием [4]. В настоящем исследовании изучали действие субнанолярных концентраций антител к белку S-100 (смесь гомеопатических разведений C12+C30+C200) в форме раствора на стрессиндуцированную экспрессию раннего гена c-Fos в парвоцеллюлярной области паравентрикулярных ядер гипоталамуса у крыс. Эффекты антител к белку S-100 сравнивали с эффектами имипрамина, который подавляет экспрессию раннего гена c-Fos в условиях стресса [5; 6].

Материалы и методы. Изучены 130 крыс самцов линий Вистар, массой 250–280 г. При проведении экспериментов руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных.

Для определения прогностической устойчивости к эмоциональному стрессу поведение крыс в течение 3 минут тестировали в открытом поле. Крыс, характеризующихся высокой двигательной активностью и короткими латентными периодами первого движения и выхода в центр открытого поля, рассматривали как про-

гностически устойчивых к стрессорным нагрузкам. Крыс с низкой двигательной активностью и продолжительными латентными периодами первого движения и выхода в центр открытого поля – как предрасположенных [2; 3].

35 прогностически устойчивых и 35 предрасположенных к стрессорным нагрузкам крыс были разделены на 4 группы. Крысы 1-й контрольной группы (5 устойчивых и 5 предрасположенных) не получали растворов и не были подвергнуты стрессорной нагрузке.

Прогностически устойчивым и предрасположенным к стрессорным нагрузкам крысам 2-й группы (20 животных) интрагастрально вводили воду (2,5 мл на 1 кг массы тела). Растворы вводили через металлический зонд.

Прогностически устойчивым или предрасположенным к стрессорным нагрузкам крысам 3-й группы (20 особей) интрагастрально вводили раствор антител к белку S-100 (2.5 мл на 1 кг массы тела).

20 крысам 4-й группы (прогностически устойчивым и предрасположенным к стрессорным нагрузкам) интрагастрально вводили раствор имипрамина (12 мг на 1 кг массы тела в растворе с концентрацией 4,8 г/л).

Через 30 мин после последнего интрагастрального введения растворов крысы подвергались стрессорной нагрузке: иммобилизации в тесном «домике» в течение часа с одновременным электрокожным раздражением.

Сразу после окончания часовой иммобилизации животных декапитировали. Срезы головного мозга готовили после замораживания мозгов в парах жидкого азота на криостате-микротоме Microm HM505E в соответствии с стереотаксическими координатами. Экспрессию белка c-Fos в нейронах мозга крыс выявляли непрямым гистохимическим методом. Число ядер нейронов, экспрессирующих c-Fos, подсчитывали с помощью программы анализа изображений AnalySIS 3,1. Плотность экспрессии c-Fos в парвоцеллюлярной части паравентрикулярных ядер гипоталамуса на каждом анализируемом срезе определяли по числу Fos-позитивных ядер в $0,1\text{мм}^2$ ($N/0,1\text{мм}^2$). Индивидуальное значение уровня экспрессии c-Fos вычисляли как среднее для каждого мозга: сумму плотностей экспрессии c-Fos на каждом срезе делили на число проанализированных срезов. Статистическую оценку проводили с помощью программы Statistica 6,0.

Результаты и обсуждение. Проведенные опыты показали, что у пяти прогностически устойчивых к стрессорной нагрузке контрольных животных из первой группы (не подвергнутых каким-либо манипуляциям), среднее количество Fos-положительных клеток в парвоцеллюлярной части паравентрикулярных ядер гипоталамуса составило $0,697 \pm 0,146$ в 0.1 мм^2 . У пяти животных контрольной группы, предрасположенных к стрессорным нагрузкам, среднее количество Fos-положительных клеток составило $0,864 \pm 0,300$ (рис.).

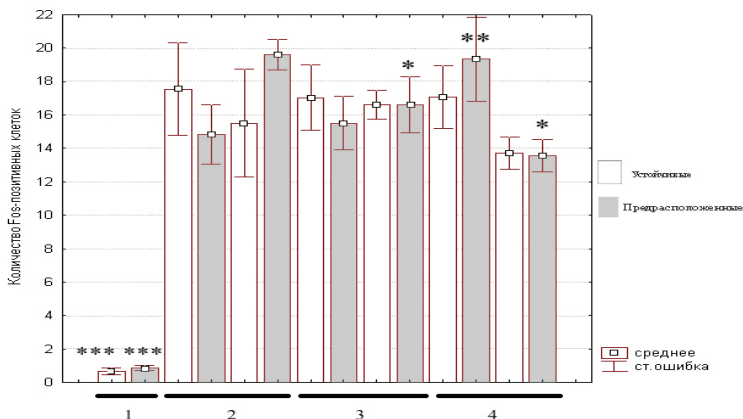


Рис. Экспрессия c-Fos- в парвоцеллюлярной части паравентрикулярных ядер гипоталамуса у групп крыс

- 1 – нестрессированные крысы; 2 – стрессированные крысы, получавшие воду;
 3 – стрессированные крысы, получавшие антитела к белку S-100;
 4 – стрессированные и получившие имипрамин. Первые два столбика в каждой группе характеризуют экспрессию c-Fos при однократном, вторые два – при курсовом введении.

Достоверности отличия экспрессии c-Fos в парвоцеллюлярной части паравентрикулярных ядер гипоталамуса по сравнению с группами крыс, которым до стрессирования однократно или в течение 20 дней вводили воду:

* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$, *** – $p < 0,0001$

У крыс второй группы, которые были подвергнуты однотипной часовой стрессорной нагрузке после предварительного однократного интрагастрального введения воды (2,5 мл на 1 кг массы тела животных) среднее количество Fos-положительных клеток в парвоцеллюлярной части паравентрикулярных ядер гипоталамуса достоверно возросло по сравнению с нестрессированными животными и составило: 19.092 ± 1.618 у пяти прогностически устойчивых

и 14.930 ± 1.571 у пяти предрасположенных к стрессорной нагрузке животных. У крыс, которым в течение 20 дней интрагастрально вводили воду (2,5 мл/кг массы тела животных), и затем подвергали аналогичной стрессорной нагрузке, среднее количество Fos-иммунореактивных клеток в парвоцеллюлярной части паравентрикулярных ядер гипоталамуса у пяти прогностически устойчивых животных составило: $15,646 \pm 1,821$ и у пяти предрасположенных к стрессорной нагрузке животных $19,800 \pm 0,818$.

Таким образом, стрессорная нагрузка у крыс которым интрагастрально вводили воду, вызвала высоко достоверное ($p < 0.0001$) повышение количества Fos-позитивных клеток в парвоцеллюлярной части паравентрикулярных ядер гипоталамуса по сравнению с контрольными животными. У прогностически предрасположенных к стрессорным нагрузкам крыс, которые были стрессированы после 20-дневного интрагастрального введения воды, количество Fos-позитивных клеток в парвоцеллюлярной части паравентрикулярных ядер гипоталамуса преобладало над их числом у устойчивых животных, что совпадает с результатами исследований П. Бабаи с соавторами [1].

Третьей группе крыс до стрессорной нагрузки интрагастрально вводили субнанолярные концентрации антител к белку S-100. После однократного введения крысам антител среднее количество Fos-позитивных клеток в парвоцеллюлярной части паравентрикулярных ядер гипоталамуса составило 17.463 ± 1.560 у пяти прогностически устойчивых и 15.310 ± 1.323 у пяти предрасположенных к однотипной стрессорной нагрузке крыс. У крыс, которым антитела к белку S-100 вводили до стрессорной нагрузки в течение 20 дней, среднее количество Fos-позитивных клеток после иммобилизации у пяти прогностически устойчивых крыс составило 16.767 ± 0.903 , а у пяти предрасположенных к стрессорной нагрузке животных 13.914 ± 1.056 .

Сравнение экспрессии гена c-Fos у группы крыс, получивших антитела к белку S-100 в субнанолярных концентрациях, с животными, которые получили воду, показало, что 20-дневное интрагастральное введение антител у предрасположенных к стрессорной нагрузке особей снизило в парвоцеллюлярной области паравентрикулярных ядер гипоталамуса количество Fos-позитивных клеток ($p < 0.05$).

Для сравнения влияния субнанолярных концентраций антител к белку S-100 и антидепрессанта имипрамина на экспрессию

гена c-Fos анализировали количество Fos-позитивных клеток в паравентрикулярных ядрах гипоталамуса у крыс четвертой группы, которым за полчаса до стрессирования интрагастрально вводили имипрамин. Проведенные эксперименты показали, что у животных, которым имипрамин вводили однократно, среднее количество Fos-позитивных клеток в паравентрикулярных отделах гипоталамуса составило: 17.498 ± 1.565 у пяти устойчивых и 18.628 ± 2.923 у пяти прогностически предрасположенных к однотипной стрессорной нагрузке животных. У крыс, которым имипрамин вводили до стрессорной нагрузки в течение 20 дней, среднее количество Fos-иммунореактивных клеток в парвоцеллюлярной области паравентрикулярных ядер гипоталамуса составило: 13.513 ± 1.059 у пяти устойчивых и 13.373 ± 1.509 у пяти прогностически предрасположенных животных.

Количество Fos-позитивных клеток в паравентрикулярных ядрах гипоталамуса у предрасположенных к стрессорной нагрузке крыс после однократного интрагастрального введения антител к белку S-100 оказалось достоверно ниже ($p < 0.005$), чем у предрасположенных животных, однократно получивших имипрамин. Обнаружено также сходное действие имипрамина и антител к белку S-100. У прогностически предрасположенных к стрессорным нагрузкам крыс, которым интрагастральное введение растворов как антител к белку S-100, так и имипрамина продолжали в течение 20 дней, количество Fos-позитивных клеток в паравентрикулярных ядрах гипоталамуса оказалось достоверно меньше ($p < 0.05$), чем у животных, которым осуществляли 20-дневное введение воды.

Таким образом, субнанолярные концентрации антител к белку S-100 снижают стрессиндуцированную экспрессию гена c-Fos в паравентрикулярных ядрах гипоталамуса у предрасположенных к стрессорным нагрузкам крыс. Подавление экспрессии гена c-Fos после хронического введения антител к белку S-100 в субнанолярных концентрациях сравнимо с действием имипрамина.

Список литературы

1. Бабаи П. [и др.]. // Журн. высш. нервн. деят. им. И. П. Павлова. – 2000. – Т. 50, № 6. – С. 966–973.
2. Коплик Е. В. [и др.]. // Докл. РАН. – 2001. – Т. 378, № 1. – С. 1–3.
3. Коплик Е. В., Салиева Р. М., Горбунова А. В. // Журн. высш. нервн. деят. им. И. П. Павлова. – 1995. – Т. 45. – С. 775–781.
4. Эпштейн О. И. // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2002. – Прил. № 4. – С. 8–14.

5. *Medeiros M. A., Carlos Reis L., Eugenio Mello L.* // *Neuropsychopharmacology*. – 2005. – Vol. 30, № 7. – P. 1246–1256.

6. *Duncan G. E., Knapp D. J., Johnson K. B., Breese G. R.* // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1996. – Vol. 277, № 2. – P. 1076–1089.

КОМПЕНСАТОРНОЕ ГАСТРОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ ГОРМОНОВ ПРИ ДЕСЕНСИТИЗАЦИИ КАПСАИЦИН- ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ АФФЕРЕНТНЫХ НЕЙРОНОВ

Л. П. Филаретова, П. Ю. Бобрышев, Т. Т. Подвигина, Т. Р. Багаева

Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

Целостность слизистой оболочки желудка поддерживается благодаря активности различных гастропротективных факторов. Простагландины, оксид азота и пептиды, высвобождающиеся при активации капсаицин-чувствительных афферентных нейронов, рассматриваются в настоящее время как наиболее важные из них. Они вносят вклад в гастропротекцию посредством благотворного действия на кровоток, продукцию слизи в желудке и регенерационные способности слизистой оболочки. Согласно результатам наших исследований глюкокортикоидные гормоны, продуцирующиеся при действии различных ulcerогенных стимулов, также вносят важный вклад в защиту слизистой оболочки желудка от повреждений [2; 4]. Для обеспечения гастропротективного влияния глюкокортикоидные гормоны могут действовать на те же мишени, что и простагландины, оксид азота и капсаицин-чувствительные афферентные нейроны [2; 4; 5]. Новый взгляд на глюкокортикоидные гормоны как на гастропротективные, а не ulcerогенные факторы и выявление общих мишеней гастропротективного действия глюкокортикоидов и других защитных факторов слизистой оболочки желудка привели нас к предположению о возможном их взаимодействии. Принимая во внимание адаптивную природу глюкокортикоидных гормонов, мы предположили компенсаторное гастропротективное действие глюкокортикоидов в условиях ингибирования синтеза простагландинов, оксида азота или исключения функции капсаицин-чувствительных афферентных нейронов. Полученные результаты подтверждают гипотезу и свидетельству-

ют об особой значимости компенсаторного гастропротективного действия глюкокортикоидов в условиях исключения функции капсаицин-чувствительных афферентных нейронов.

Цель настоящей работы – проанализировать данные о компенсаторном гастропротективном действии глюкокортикоидных гормонов в условиях десенситизации капсаицин-чувствительных афферентных нейронов.

Для выяснения способности глюкокортикоидных гормонов поддерживать целостность слизистой оболочки желудка при десенситизации капсаицин-чувствительных афферентных нейронов мы сравнивали эффекты десенситизации нейронов на слизистую оболочку у крыс с нормальным и недостаточным содержанием глюкокортикоидов в крови. Данные эффекты изучали в условиях действия ulcerогенного стимула: индометацин в дозе 35 мг/кг. Десенситизация капсаицин-чувствительных нейронов и адrenaлэктомия, которую использовали для создания недостаточной продукции глюкокортикоидов, предшествовали подкожному введению индометацина. Десенситизацию капсаицин-чувствительных нейронов производили за 2 недели до введения индометацина путем подкожной инъекции капсаицина в нейротоксических дозах 20, 30 и 50 мг/кг в течение трех последовательных дней [1]. Через неделю после введения третьей дозы капсаицина или введения его растворителя (ложная десенситизация) одна часть каждой группы подвергалась адrenaлэктомии, другая – ложной операции. Неделю спустя, в день эксперимента, за 15 мин до введения индометацина одной группе адrenaлэктомированных крыс в качестве заместительной гормональной терапии подкожно вводили кортикостерон в физиологической дозе 4 мг/кг [5], другой группе – растворитель кортикостерона.

Введение индометацина в ulcerогенной дозе помимо ингибирования продукции простагландинов приводит к развитию патогенетических событий, которые, в конечном счете, завершаются образованием эрозий в слизистой оболочке желудка [5]. Мы впервые показали, что введение крысам индометацина в дозе 35 мг/кг, подобно типичным стрессорам, стимулирует продукцию глюкокортикоидных гормонов, действие которых направлено на защиту слизистой оболочки желудка [2]. Действительно, адrenaлэктомия или фармакологическая блокада функции гипоталамо-гипофизарно-адrenокортикальной системы, создающие дефицит содержания

кортикостерона, усугубляли образование эрозий, индуцированных индометацином. Введение таким животным кортикостерона в дозе (4 мг/кг), имитирующей индуцированный индометацином повышенный уровень кортикостерона контрольных животных, предотвращало усугубление образования эрозий [2; 4; 5].

Ульцерогенный ответ, индуцированный индометацином, усугублялся не только после адреналэктомии, но также после десенситизации капсаицин-чувствительных афферентных нейронов. Степень потенцирующего эффекта десенситизации капсаицин-чувствительных афферентных нейронов на образование эрозий, индуцированных индометацином, зависела от уровня глюкокортикоидных гормонов в крови. Наибольшие потенцирующие эффекты наблюдались у адреналэктомированных крыс: средняя площадь эрозий, индуцированных у них индометацином, приблизительно в 10 раз превышала таковую как ложнооперированных крыс, так и адреналэктомированных животных с заместительной терапией кортикостероном [1; 3]. Полученные данные означают, что глюкокортикоидные гормоны способны оказывать компенсаторное гастропротективное влияние в условиях десенситизации капсаицин-чувствительных афферентных нейронов.

Одним из механизмов компенсаторного гастропротективного действия глюкокортикоидных гормонов при десенситизации капсаицин-чувствительных нейронов может быть их поддерживающее влияние на уровень глюкозы в крови. Мы предположили такую возможность на основе данных о вкладе глюкокортикоидных гормонов в гомеостаз глюкозы, а также о вовлечении капсаицин-чувствительных нейронов в поддержание уровня глюкозы в крови при гипогликемии [3]. Для проверки этого предположения измеряли уровни глюкозы в крови у крыс всех экспериментальных групп до и после введения индометацина. Введение индометацина в ульцерогенной дозе приводило к снижению уровня глюкозы в крови как у ложнооперированных, так и адреналэктомированных крыс, однако в последнем случае снижение было ярче выражено. Десенситизация капсаицин-чувствительных нейронов не влияла на уровень глюкозы в крови, зарегистрированный через 4 ч после введения индометацина у ложнооперированных крыс. Однако десенситизация усугубляла падение уровня глюкозы через 4 ч после введения индометацина у адреналэктомированных крыс. В этом случае наблюдались самые низкие уровни глюкозы (около

40 мг/дл) и самая большая площадь эрозий по сравнению с другими экспериментальными группами. Введение кортикостерона предотвратило падение уровня глюкозы в крови у адреналэктомированных крыс с десенситизацией капсаицин-чувствительных нейронов и улучшало состояние слизистой оболочки желудка [1]. Таким образом, полученные результаты подтверждают наше предположение о том, что компенсаторное гастропротективное действие глюкокортикоидных гормонов при десенситизации капсаицин-чувствительных афферентных нейронов может обеспечиваться за счет поддерживающего влияния гормонов на уровень глюкозы в крови [1; 3].

Другой механизм, обеспечивающий компенсаторное гастропротективное действие глюкокортикоидных гормонов при десенситизации капсаицин-чувствительных нейронов, может быть связан с благотворным действием гормонов на микроциркуляцию в желудке. Основой для такого предположения послужили наши результаты о положительном влиянии глюкокортикоидных гормонов на кровоток в микрососудах желудка [2], на микрососудистую проницаемость в желудке [5], а также данные литературы о положительном влиянии капсаицин-чувствительных афферентных нейронов на кровоток в слизистой оболочке желудка [3]. Чтобы проверить это предположение, мы исследовали параметры, характеризующие состояние микроциркуляции, у крыс всех экспериментальных групп до и после введения индометацина в ulcerогенной дозе. Поскольку снижение скорости кровотока в микрососудах стенки желудка, дилатация поверхностных микрососудов слизистой оболочки желудка и увеличенная микрососудистая проницаемость являются признаками ухудшения микроциркуляции в желудке, в качестве параметров микроциркуляции мы изучали кровоток в микрососудах серозно-мышечной оболочки и подслизистого слоя желудка, диаметры и проницаемость микрососудов слизистой оболочки [3]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что степень патологических изменений микроциркуляции желудка, наблюдающихся после введения индометацина (35 мг/кг) у крыс с десенситизацией капсаицин-чувствительных афферентных нейронов, зависит от уровня глюкокортикоидных гормонов в крови. Наибольшие нарушения микроциркуляции – падение скорости кровотока в микрососудах серозно-мышечной оболочки и подслизистого слоя желудка, дилатация капилляров, посткапиллярных

и собирательных венул слизистой оболочки и увеличение проницаемости микрососудов в слизистой оболочке – наблюдались у адреналэктомированных крыс с десенситизацией капсаицин-чувствительных нейронов. Заместительная терапия кортикостероном предотвращала эти нарушения [3]. Принимая во внимание важную роль нормального кровотока в защите слизистой оболочки желудка, можно предположить, что такое резкое ухудшение кровотока в микрососудах стенки желудка наряду с ярко выраженной гипогликемией вносило вклад в то мощное изъязвление в желудке, которое мы наблюдали в этих условиях. Компенсация дефицита гормонов однократным введением кортикостерона корректировала ситуацию в отношении кровотока, в отношении гипогликемии и посредством такого влияния могла приводить к предотвращению мощного повреждения слизистой оболочки желудка.

Компенсаторное гастропротективное действие глюкокортикоидных гормонов, выявленное в наших исследованиях, может рассматриваться как яркое проявление их адаптационной роли.

Работа поддержана грантами РФФИ (07-04-00622); Фундаментальные науки – медицине –2008; ОБН РАН – 2008; Ведущие научные школы (НШ-1434.2008.4).

Список литературы

1. Bobryshev P., Bagaeva T., Filaretova L. // *Inflammopharmacology*. –2005. – Vol. 13, № 1–3. – P. 217–228.
2. Filaretova L. // *Auton. Neurosci.* – 2006. – Vol. 125, № 1–2. – P. 86–93.
3. Filaretova L., Bobryshev P., Bagaeva T. et al. // *Inflammopharmacology*. – 2007. Vol. 5, № 4. – P. 146–153.
4. Filaretova L., Podvigina T., Bagaeva T. et al. // *J. Pharmacol. Sci.* 2007. Vol. 104, N 3. P. 195-201.
5. Filaretova L., Tanaka A., Miyazawa T. et al. // *Am. J. Physiol.* – 2002. – Vol. 83, № 5. – P. G1082–G1089.

ПЛАСТИЧНОСТЬ ПЕРВИЧНЫХ АФФЕРЕНТНЫХ НЕЙРОНОВ

Л. В. Филиппова, А. Д. Ноздрачев

Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

Известно, что оба типа первичных афферентных нейронов (вагусные и спинальные) отвечают на механические и химические стимулы. Рецепторы, передающие информацию по чувствительным волокнам блуждающего нерва, кодируют раздражители, интенсивность которых не выходит за пределы физиологического диапазона. Рецепторные окончания нейронов спинального происхождения, напротив, отвечают на широкий диапазон стимулов, простирающийся от физиологического до патофизиологического уровней. Вместе с тем использование патологических моделей типа экспериментального воспаления и ишемии открыло, что свойства большинства висцеральных рецепторов в подобных условиях резко меняются (по данным Gebhard, 2000). Был обнаружен новый тип рецепторов, не возбуждающихся даже значительным по силе механическим стимулом. Однако те же чувствительные структуры становятся активными во время повреждения или воспаления ткани [11]. Предполагается, что эти рецепторы, присутствующие в большинстве внутренних органов, в значительной степени ответственны за центростремительную активность при хронической висцеральной боли. Кроме того, импульсная активность от этих рецепторов может привести к долгосрочным изменениям в спинальных рефлекторных путях и, как следствие, вызвать необычную автономную активность висцеральных органов.

Таким образом, количество функционально активных рецепторов не является неизменной величиной, а в значительной степени зависит от состояния окружающих их тканей.

В настоящее время известно огромное число химических веществ, вовлекаемых в передачу сигналов от терминалей висцеральных афферентных волокон в центральную нервную систему [3; 9; 11]. Свои эффекты они могут осуществлять различными путями. Во-первых, с помощью прямой активации, приводящей, как правило, к открытию ионных каналов на терминалях афферентных нервных волокон. Во-вторых, разнообразные молекулы, прямо не

стимулируя рецепторы, могут повышать их чувствительность к стимулам разной модальности, т. е. сенситизировать.

Медиаторы типа серотонина (5-НТ) вызывают активацию [1; 2; 10; 12], в то время как простагландин [2; 3; 14] активирует и/или сенситизирует ответы сенсорных окончаний. Брадикинин оказывает свое сенситизирующее действие, стимулируя разряд через активацию фосфолипазы С и увеличивает возбудимость через простагландины (ПГ) после активации фосфолипазы А₂ [9].

Находящиеся вблизи афферентных нервных терминалей симпатические нервы, тучные клетки и кровеносные сосуды могут освобождать различные воспалительные медиаторы. Такие медиаторы, как 5-НТ, АТФ и капсаицин способны прямо активировать неселективные катионные каналы, тогда как аденозин, гистамин, простагландины и протеазы, по-видимому, действуют на G-протеины, ассоциированные с рецепторами. Последние являются объектом интенсивного изучения в связи с их вовлечением во многие важные физиологические процессы [7]. Будучи членами суперсемейства гуанинсвязывающих белков, G-протеины служат прецизионными регуляторами, включающими или выключающими активность других молекул. Взаимодействие химических веществ с ними приводит к Ca²⁺-зависимой модуляции активности ионных каналов.

Сенситизация может быть опосредована увеличенным внутриклеточным циклическим аденозин 3', 5'-монофосфатом (цАМФ). Аденозин и ПГЕ₂ способны генерировать цАМФ прямо через G-протеин связанную стимуляцию аденилатциклазы, а гистамин, напротив, может действовать косвенно через генерацию простагландинов. Путь через цАМФ вовлекает модуляцию ионных каналов, взаимодействие с другими вторичными мессенджерами (например Ca²⁺), или изменения экспрессии рецепторов (рис. 1). Наконец, разнообразные химические агенты могут действовать посредством трансформации фенотипа афферентного волокна, например изменяя экспрессию медиаторов, каналов, рецепторов или модулируя их активность, трансформируя, лиганд-связывающие характеристики.

В дополнение к роли в генерации или модификации сенсорных сигналов, рецепторы и экспрессируемые ими каналы могут инициировать или усиливать выброс предварительно образованных в афферентных нервных окончаниях посредников, типа субстанции Р и кальцийтонин ген родственного пептида (CGRP). Эти эффе-

рентные функции сенсорных волокон формируют основу аксон рефлексов, играющих, по-видимому, важную роль в «нейрогенном воспалении», которое, в свою очередь, вызывает или усиливает сенситизацию и/или изменяет фенотип находящихся вблизи афферентных окончаний.

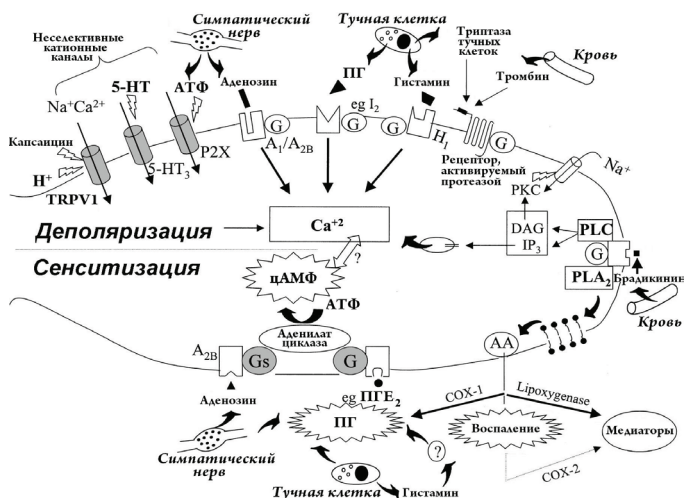


Рис. 1. Некоторые возможные рецепторные механизмы активации и сенситизации сенсорных окончаний афферентных волокон желудочно-кишечного тракта (по [9])
 COX-1, COX-2 – циклооксигеназа -1 и 2, AA – арахидоновая кислота, DAG – диацилглицерол, IP₃ – инизитол 1,4,5-трифосфат, ПГ – простагландины, PLC, PLA2 – фосфолипаза C и A2 соответственно, TRPV1 – ваниллоидный рецептор.

Любой конкретный медиатор может рекрутировать один или более из этих путей, чтобы оказывать свое действие на висцеральные ощущения.

Пластичность висцеральных рецепторов – это изменение их способности кодировать и передавать сенсорную информацию. Существует два основных вида пластичности первичного сенсорного нейрона: 1) быстрая периферическая сенситизация или десенситизация сенсорных терминалей, которая не вовлекает изменений в экспрессии генов; 2) более медленные фенотипичные альтерации свойств сенсорного нейрона вследствие измененной экспрессии генов.

Периферическая сенситизация или десенситизация появляется, когда повреждение ткани, воспаление и аллогенные химические вещества вызывают изменение порога ответа на раздражающий стимул. После предъявления адекватного стимула обычно в течение секунд возникает периферическая сенситизация, которая может сохраняться несколько минут. Однако в случае появления тканевого повреждения или воспаления она значительно пролонгируется.

Стимулы, вызывающие эти изменения, могут действовать через рецепторы, сопряженные с G-протеинами, которые присутствуют на нервных терминалах. Простаноиды активируют EP рецепторы, АТФ – P2Y рецепторы, брадикинин – V_2 рецепторы, некоторые агенты активируют хемокиновые рецепторы [13]. Одним из наиболее мощных аллогенных модуляторов, быстро образующимся при повреждении ткани, является брадикинин. Его прямой возбуждающий эффект на чувствительные нервные окончания опосредуется V_2 рецепторами и связан с активацией мембранной фосфолипазы C. Кроме того, он может оказывать возбуждающее действие и опосредованно, через различные клетки, продуцирующие медиаторы воспаления. Последние, взаимодействуя с соответствующими рецепторами на нервных окончаниях, активируют мембранную аденилатциклазу. В свою очередь аденилатциклаза и фосфолипаза C стимулируют образование ферментов, фосфорилирующих белки ионных каналов (по данным Решетняк, Кукушкин, 2004). Действуя через V_2 рецепторы, брадикинин стимулирует образование арахидоновой кислоты с последующим образованием простагландинов, простациклинов, тромбоксанов и лейкотриенов. Эти вещества, в свою очередь, повышают способность брадикинина сенситизировать нервные окончания. В результате из немиелинизированных афферентных волокон усиливается выброс субстанции P, нейрокина A и CGRP, которые, увеличивая сосудистую проницаемость, еще больше повышают локальную концентрацию медиаторов воспаления [6].

С другой стороны химические стимулы могут активировать лиганд зависимые рецепторы. Так, капсаицин, высокая температура (>42 °C) и низкий pH (<6.0) действуют через TRPV1. АТФ также может активировать P2X рецепторы [8; 12].

Таким образом, разнообразные стимулы рекрутируют разные внутриклеточные сигнальные каскады (рис. 2), включая PKA, PKC

или внеклеточно сигнал-регулируемую киназу (extracellular signal-regulated kinase, ERK1/2). Окончательный эффекторный механизм, лежащий в основе сенситизации рецепторов, также весьма разнообразен и может вовлекать модуляцию (часто путем фосфорилирования) потенциал-зависимых Na^+ , K^+ или Ca^{2+} каналов. Они регулируют пороги мембраны, что естественно будет приводить к изменениям возбудимости и способности нервных окончаний генерировать импульсы в ответ на все виды стимулов [4; 12].

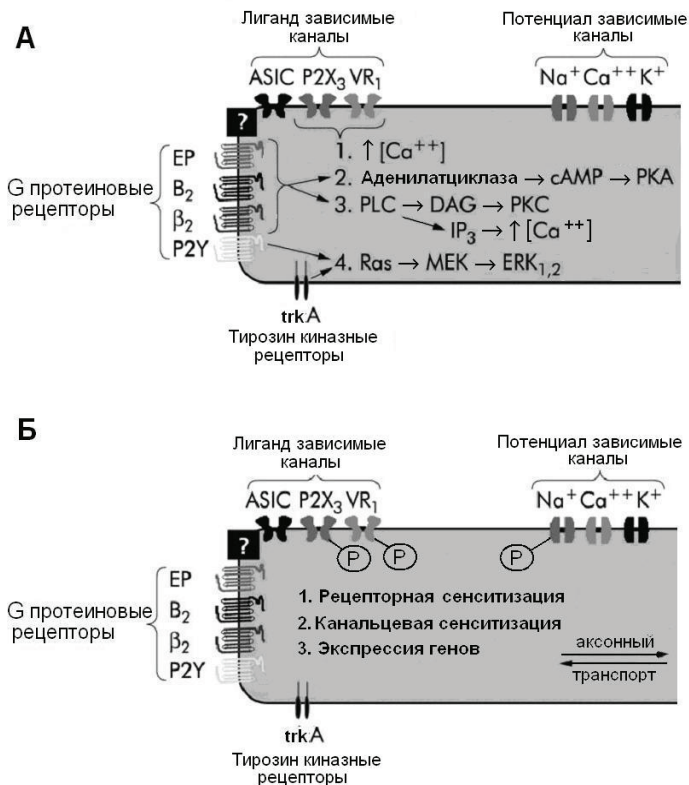


Рис. 2. Изменение чувствительности первичного сенсорного нейрона (по [13])
 А – иллюстрация каскадов вторичных мессенджеров, с помощью которых стимул оказывает свое местное сенситизирующее действие;
 Б – основные эффекторные механизмы.

PLC – фосфолипаза C, гидролизующая фосфатидилинозит с образованием DAG и IP₃, MEK – митоген-активируемая протеинкиназа сигнального пути, Ras- MEK-ERK.

Альтернативный и более специфичный путь воздействия на чувствительность ноцицептивных нервных окончаний – модуляция через фосфорилирование ряда рецепторов, типа ваниллоидных, кислото-чувствительных (ASIC) и P2X (рис. 2).

Особенно хорошо изучена модуляция ваниллоидных рецепторов. Их сенситизация может быть настолько значительной, что приводит к активации рецептора даже при нормальной температуре тела.

Фенотипические модификации в первичных сенсорных нейронах вследствие измененной экспрессии генов, хотя и более медленные в начале, но зато более длительные. Имеется множество доказательств того, что эти изменения появляются вследствие повреждения ткани. Потенциально важным сигналом для альтераций генной экспрессии является фактор роста нервов (ФРН), уровни которого быстро увеличиваются во время воспалительных ответов, а удаление эндогенного ФРН приводит к уменьшению гипералгезии у экспериментальных животных [11; 15]. Фактор некроза опухоли (ФНО) действует через тирозин киназный рецептор А (trkA), локализованный на спинальных сенсорных нейронах, экспрессирующих также субстанцию Р и CGRP. Известно, что он может ретроградно транспортироваться от сенсорных терминалей к клеточным телам. Существуют свидетельства, что ФНО сам не может инициировать передачу сигнала внутрь клетки, но комплекс ФНО/trkA стимулирует аутофосфорилирование и активирует факторы транскрипции, контролирующие экспрессию генов [13].

Фенотипические изменения в ноцицептивных нейронах могут вызвать некоторые трофические факторы [15]. В частности, нейротрофин-3 (NT3), мозг производный нейротрофический фактор (BDNF), действующий через trkB рецепторы и глиальный нейротрофический фактор (GDNF).

Интересно, что первичные афферентные нейроны узлового ганглия блуждающего нерва экспрессируют trkB, а не trkA рецепторы. Следовательно, чувствительность афферентных окончаний висцеральных нервов вагусного и спинального происхождения вероятно регулируется различными трофическими влияниями. Однако этот постулат требует дополнительных исследований и доказательств.

Если нейрон, проводящий ноцицептивные стимулы в спинной мозг, повторно стимулируется с интенсивностью, достаточной для

активации С- волокон, то со временем частота реакции этого нейрона резко возрастет и одновременно будет усиливаться ощущение боли. Следует подчеркнуть, что это нервное перевозбуждение или гиперсенсibilизация может возрастать и без сенсibilизации периферических рецепторов. Она, по-видимому, отражает центральный механизм нарастания ноцицепции. Долговременную гиперсенсibilизацию ноцицептивных нейронов связывают с активацией их генетического аппарата – экспрессией ранних, немедленно реагирующих генов, таких как *c-fos*, *c-jun*, *junB* и других [5].

Большое значение в механизмах сенсibilизации афферентных нейронов придается оксиду азота, который легко проникая через плазматическую мембрану, может участвовать в межклеточной передаче сигнала, функционально соединяя пост- и пресинаптические нейроны. NO выделяется из клеток при NMDA-индуцируемом возбуждении и взаимодействует с пресинаптическими терминалями С-афферентов, усиливая выброс из них возбуждающей аминокислоты глутамата и нейрокининов.

Помимо синтеза и выброса медиаторов воспаления, гипервозбудимости спинальных ноцицептивных нейронов и усиления афферентного потока, идущего в центральные структуры мозга, определенную роль играет активность симпатической нервной системы. Повышение чувствительности терминалей ноцицептивных волокон в этом случае опосредуется двумя путями. Во-первых, за счет повышения сосудистой проницаемости в зоне повреждения и увеличения концентрации медиаторов воспаления и, во-вторых, за счет прямого воздействия норадреналина и адреналина на адренорецепторы чувствительных терминалей.

Список литературы

1. Акоев Г. Н., Филиппова Л. В., Шерман Н. О. // Физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 1995. – Т. 81. – № 1. – С. 113–121.
2. Ноздрачев А. Д., Филиппова Л. В. // ДАН. – 2003. – Т. 389, № 4. – С. 105–108.
3. Филиппова Л. В., Ноздрачев А. Д. Интероцепция и нейроиммунные взаимодействия. – СПб., 2007.
4. Chahine M., Ziane R., Vijayaragavan K., Okamura Y. // Trends in Pharmacol. Sci. – 2005. – Vol. 26, – № 10. – P. 496–502.
5. Coderre T. J., Katz J., Vaccarino A. L., Melzack R. // Pain. – 1993. – Vol. 52. – P. 259–285. Review.
6. Coyle A. J., Perretti F., Manzini S., Irvin C. G. // J. Clin. Invest. – 1994. – Vol. 94. – P. 2301–2306.

7. *Freissmuth M., Casey P. J., Gilman A. G.* // *FASEB J.* – 1989. – Vol. 3. – P. 2125–2131.
8. *Geppetti P., Materazzi S., Nicoletti P.* // *Eur. J. of Pharmacology.* – 2006. – Vol. 533, № 1–3. – P. 207–214.
9. *Grundy D.* // *Clin. Gastroenterol.* – 1988. – Vol. 2, № 1. – P. 23–43.
10. *Hillsley K., Grundy D.* // *Neurosci. Lett.* – 1998. – Vol. 255. – P. 63–66.
11. *Holzer P.* Gastroduodenal mucosal defense: coordination by a network of messengers and mediators // *Curr Opin Gastroenterol.* – 2001. – Vol. 18. – P.489–496.
12. *Kirkup A. J., Brunsden A. M., Grundy D.* // *Am. J. Physiol.* – 2001. – Vol. 280. – P. G787–G794.
13. *McMahon S. B.* // *Gut.* – 2004. – Vol. 53. – P. 13–15.
14. *Mizumura K., Sato J., Kumazawa T.* // *Pflug. Arch.* – 1987. – Vol. 408. – P. 565–572.
15. *Nassenstein C, Kutschker J, Tumes D, Braun A.* // *Biochem Soc Trans.* – 2006. – Vol. 34. – P. 591–593.

ПОЛИМОРФНОСТЬ СИМПАТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ВВЕДЕНИЕМ ЛИГАНДОВ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОЙ И NO-ЕРГИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ В СПИННОМОЗГОВОЙ ЛИКВОР

А. Г. Чумак, Т. В. Каравай, С. А. Руткевич, К. М. Люзина

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

В монографиях и статьях академика В. Н. Гурина [1] приводятся многочисленные доказательства того, что симпатическая нервная система вовлечена в разнообразные регуляторные реакции и адаптивные состояния организма, такие, как тепловой или холодовой стресс. В научных работах, выполненных под его руководством [2], была установлена существенная роль низкомолекулярных сигнальных молекул, включая монооксид азота, в центральном и периферическом обеспечении системных реакций при температурной нагрузке или ишемии головного мозга. Имеются основания считать, что гипергликемия, так же как и перегревание, может рассматриваться в качестве состояния, активирующего симпатическую нервную систему, поскольку приводит к стойкому и длительному подъему симпатической активности в части нервов тонкого кишечника и возбуждает нейроны многих бульбарных ядер [3]. Кстати, имеются указания на зависимость и этого процесса от NO-ергических механизмов [4].

Все это свидетельствует о том, что NO-ергические процессы активируются при серьезных нарушениях гомеостаза, соизмеримых с классическими проявлениями стресса, и подтверждает высказанное В.Н. Гуриным допущение о том, что активация NO-синтаз может быть маркером повреждения в клетках нервной ткани.

Как известно, сигнальные и цитотоксические свойства NO определяются его свободнорадикальной природой [5] и способностью взаимодействовать с активными формами кислорода. Свободные радикалы могут образоваться в тканях при патофизиологических процессах, таких как воспаление или ишемия. Достижимые при этом высокие концентрации пероксида водорода вызывают повреждения клеточных структур. Похожие процессы могут наблюдаться также и при чрезмерном увеличении концентрации глюкозы в крови [7].

В любом случае, колебания редокс-состояния, вызванные введением глюкозы, предшественников NO и субстратов для NO-синтаз в спинномозговую жидкость можно рассматривать как чрезвычайные и влекущие за собой развитие подобных стрессу изменений в организме. Критерием их начала может служить активация симпатических эфферентных волокон в нервах внутренних органов. Проверка этого допущения явилась целью настоящей работы.

Материал и методы. Эксперименты выполнены с использованием 38 наркотизированных (30 мг/кг нембутала и 500 мг/кг уретана, в/б) крыс массой 210–320 г. Проведен анализ симпатической эфферентной импульсации в брюшноаортальном и брыжеечном нерве, а также электрической активности соответствующего участка тонкой кишки.

Растворы глюкозы, предшественника монооксида азота L-аргинина, нитропруссид натрия или пероксида водорода вводились интратекально (в ликвор спинного мозга, на уровне Th₈-Th₁₀) через предварительно вставленный катетер [8]. Импульсная активность регистрировалась хлорсеребряными биполярными электродами. Обработка сигналов проводилась на стандартной компьютеризированной электрофизиологической установке с использованием программы, разработанной в Институте физиологии НАН Беларуси [9].

Результаты и обсуждение. В контрольной серии опытов установлено, что интратекальное введение искусственной спинномозговой жидкости (контроль) никакими закономерными эффектами

по отношению к импульсации в брыжеечном нерве и моторике кишки не сопровождалось. Напротив, введение в тех же условиях H_2O_2 (1×10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} моль/л) вызывало с первой по 10-ю минуту симпатикоактивирующий эффект. По сравнению с фоновым уровнем, принятым за 100%, частота импульсов в брыжеечном нерве на пике реакции возрастала на $18 \pm 5,4\%$, $61 \pm 7\%$, и $122 \pm 17\%$ ($P < 0,05$, $n=5$), соответственно, в зависимости от протестированной дозы (рисунок). При этом частота потенциалов в электроэнтеромиограмме, связанных с сокращениями тощей кишки, увеличилась от 45 ± 3 (фон) до 58 ± 3 , 70 ± 1 и 123 ± 6 пиков в минуту ($P < 0,05$), соответственно введенной в ликвор дозе пероксида водорода.

При интратекальном введении препаратов нельзя исключить прямое их действие на нервные проводники в составе вентральных и дорсальных корешков, «открытых» влияниям со стороны жидких сред мозга. Вполне логичным выглядит допущение, согласно которому действие лигандов на рецепторные окончания, на проводниковую часть афферентных волокон или на пресинаптические терминалы в вершине дорсального рога может оказаться совершенно разным.

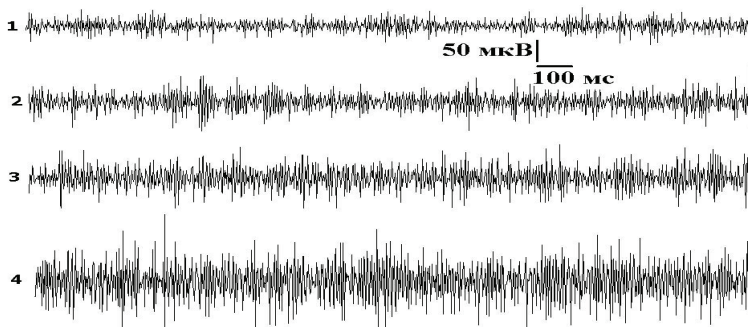


Рис. Нейрограммы эфферентной симпатической импульсации в брыжеечном нерве крысы до (1) и после введения H_2O_2 в спинномозговую ликвор ($Th_8 - Th_{10}$) в концентрации 1×10^{-6} (2), 10^{-5} (3), 10^{-4} (4) моль/л соответственно

Прежде всего, из-за различий набора белковых рецепторов и ионных каналов в аксоне, его воспринимающей или осуществляющей выпуск медиатора области. В специальных опытах нами получены данные, согласно которым аппликация пероксида водорода в концентрации 1 моль/л (летальной для животных при

его введении в ликвор) на брыжейку двенадцатиперстной кишки сопровождалась уменьшением частоты афферентной импульсации в периферическом конце блуждающего нерва примерно на две трети уже в первые минуты (фон $63,5 \pm 2,1$ имп/с, реакция $21,3 \pm 1,2$ имп/с, $n=5$, $P < 0,05$). После удаления лиганда и обработки рецептивного поля брыжейки физраствором импульсация в вагусе восстанавливалась до уровня фона. В свою очередь, при аппликации перекиси водорода в той же концентрации на брыжейку кишки в илеоцекальной области, в брыжеечном нерве афферентная импульсация также падала по частоте (фон $87,6 \pm 2,3$, реакция $51,3 \pm 2,7$ имп/с, $n=4$, $P < 0,05$) и восстанавливалась не ранее, чем через 10 минут. Применение вместо пероксида водорода физиологического раствора было неэффективным. Ингибирование раствором H_2O_2 афферентной активности в брыжеечном нерве позволяет допустить, что на уровне спинного мозга описанный выше симпатoadтивирующий эффект опосредован рецепторами оболочек спинного мозга или нейронов дорсальных рогов, но не действием его на проводящие волокна.

В другой экспериментальной серии инъекция крысам под оболочки спинного мозга L-аргинина (диапазон концентраций от 1×10^{-6} до 10^{-3} моль/л, объем 0,1 мл) имело следствием угнетение афферентной импульсации краниального брыжеечного нерва на протяжении 20-30 минут. Симпатoadингибирующий эффект был максимальным при применении концентрации аминокислоты 10^{-3} моль/л и выражался в уменьшении частоты импульсации до $13,1 \pm 2,7$ имп/с, против фоновой, державшейся на уровне $35,1 \pm 3,5$ ($n=4$, $P < 0,05$). Он сопровождался появлением в электромиоэнтерограмме потенциалов действия гладких мышц, и сокращениями петли тощей кишки (49 ± 6 сокр./мин в фоне, 130 ± 16 сокр./мин к 30 минуте эффекта, $P < 0,05$, при концентрации L-аргинина 1×10^{-3} моль/л).

Внутривенное (3 мг/кг, $n=5$), или интратекальное (Th_8 - Th_{10} , 20 мкл 40% раствора, $n=5$) введение животным глюкозы (доза соответствовала литературной и соответствовала состоянию гипергликемии [7]) сопровождалось ростом частоты симпатической афферентной импульсации в нервах брюшно-аортального сплетения. Симпатoadтивирующий эффект длился с 6-ой по 50-ю минуту регистрации, был статистически достоверным ($150 \pm 14\%$ к контролю, $P < 0,05$), и обратимым. На его фоне выявилась сопутствующая

тахикардия. Частота сердечных сокращений (ЧСС) возрастала от 314 ± 13 до 355 ± 20 уд/мин при внутривенном введении и от 311 ± 12 до 346 ± 17 уд/мин – при интратекальном ($P < 0,05$). Указанные изменения сопровождались констрикцией артериол тонкого и толстого кишечника, мочевого пузыря, сальника.

Получены данные о том, что внутривенное введение донора NO нитропруссид натрия (5 мкг/кг) частично обратимо нивелировало симпатоактивирующее действие гипергликемии. Двукратное (до 55 ± 11 % от уровня активности, вызванной введением глюкозы) снижение частоты разрядов симпатических эфферентных проводников, вызванных гипергликемией, и брадикардия ($n=4$, снижение ЧСС от 326 ± 11 до 292 ± 13 уд/мин) продолжалось не более 7–10 минут. В отличие от системного действия донора NO, инфузия его в ликвор (1 ммоль/л в $0,02 \text{ мл}$, $n=4$) сопровождалась краткой (2–3 минуты) фазой усиления импульсации с последующим более длительным ее снижением. Введение инактивированного раствора нитропруссид натрия в искусственной спинномозговой жидкости и только искусственного ликвора (контроль) существенными эффектами не сопровождалось. Введение ингибитора NO-синтазы N-нитро-L-аргинин (160 мкг/20 мкл) в ликвор спинного мозга через 20 минут после предварительной интратекальной инъекции глюкозы ($n=6$) привело к обострению (рост на $150 \pm 14\%$) симпатозбудящего эффекта, вызванного введением глюкозы. Зафиксирован рост ЧСС от 380 ± 12 до 410 ± 16 уд/мин на протяжении нескольких часов, вплоть до окончания эксперимента.

Таким образом, установлено симпатоингибирующее действие введенного в ликвор спинного мозга предшественника монооксида азота L-аргинина, донора NO нитропруссид натрия, но симпатоактивирующий эффект в тех же методических условиях пероксида водорода и гипергликемии. При этом влияние сигнальных молекул свободнорадикальной природы определено по отношению к той порции симпатических эфферентных волокон, которые иннервируют кишечник.

В современных источниках приводятся сведения не только о цитотоксической, но и о сигнальной роли активных форм кислорода, если их концентрация в межклеточном пространстве не превышает естественную. Сообщалось о том, что активные формы кислорода (O_2^- , H_2O_2) способны модулировать синаптическую передачу сигналов [10]. В контексте указанных сведений получен-

ные нами данные не являются неожиданными и могут служить для вывода об общем симпатоактивирующем (по сути защитном, мобилизующем резервы организма) действии H_2O_2 при его введении в ликвор. Такие же по направленности, но более продолжительные и глубокие, эффекты обнаружены при чрезмерном повышении в ликворе концентрации глюкозы. Исходя из того, что гипергликемия потенцирует генерацию H_2O_2 клетками различных органов, прежде всего эндотелиоцитами [7], возможно эффекты интратекального введения глюкозы и пероксида водорода имеют общие нейрохимические звенья в механизме действия.

Другими словами, окислительный дисбаланс в ликворе спинного мозга, а также гипергликемия по симпатическому сопровождению похожи на классические системные проявления стресса, наблюдающиеся при действии чрезвычайных по силе раздражителей на периферические экстеро- и интероцепторы [1]. В то же время донор NO и естественный его предшественник, в согласии с представлениями литературы, вызывают преимущественно тормозное влияние на периферический симпатический выход. Таким образом, в работе представлены новые данные о неuniformном влиянии предшественников NO и молекул свободнорадикальной природы на сегментарное формирование симпатической эфферентной импульсации.

Работа выполнена по заданию №2.27 ГКПНИ «Современные технологии в медицине» и по гранту БРФФИ № Б07К-041.

Список литературы

1. *Гурин, В. Н.* Терморегуляция и симпатическая нервная система / В. Н. Гурин. – Минск, 1989.
2. *Гурин В. Н., Азев О. А., Чумак А. Г.* // Психофармакология и биологическая наркологию. – 2002. – № 3–4. – С. 383–384.
3. *Солтанов, В. В.* Механизмы саморегуляции вегетативных функций в норме и патологии / В. В. Солтанов. – Минск, 1994.
4. *Claxton C. R., Brands M. W.* // Hypertension. – 2003. – Vol. 41, № 2. – P. 274–278.
5. *Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н.* // Вестн. Бел. гос. ун-та. Сер.1. – 2004. – № 1. – С. 28–36.
6. *Moncada S., Palmer R. M., Higgs A.* // Pharmacol. Reviews. – 1991. – Vol. 43, № 2. – P. 109–141
7. *Wu X., Zhu L., Zilbering A. et al.* // Antioxid. Redox Signal. – 2005. – Vol. 7, № 5–6. – P. 526–537.
8. *Чумаков А. Г., Солтанов В. В., Кўльчицкий В. А.* // Современные проблемы физиологии вегетативных функций. – Самара, 2001. – С. 81–97.

9. Солтанов В. В., Бурко В. Е. // Новости мед.-биол. наук. – 2005. – № 1. – С. 90–96.

10. Serrano F., Klann E. // Ageing Res. Rev. – 2004. – Vol. 3, № 4. – P. 431–443.

ОСОБЕННОСТИ УЧАСТИЯ ОКСИДА АЗОТА В МЕДУЛЛЯРНОМ НЕРВНОМ КОНТРОЛЕ ФУНКЦИИ КРОВООБРАЩЕНИЯ У КРЫС С ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

*Л. Н. Шаповал, Л. С. Побегайло, О. В. Дмитренко,
Л. Г. Степаненко, В. Ф. Сагач*

Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины,
Киев, Украина

К настоящему времени накоплена обширная информация о том, что оксид азота (NO) является сигнальной молекулой в центральной нервной системе. Его важная роль в медуллярном контроле функции кровообращения убедительно показана в большом количестве работ, обобщенных в обзорах литературы [3; 5; 6]. Известно, что участие NO в медуллярном контроле сосудистого тонуса и сердечной деятельности реализуется через нейронные системы дорсомедиального и вентролатерального отделов продолговатого мозга, которые участвуют в интеграции кардиогенных, баро- и хеморецепторных рефлексов. Морфологическим субстратом для эффектов NO, реализуемых в пределах продолговатого мозга, являются NO-синтезирующие нейроны, которые были идентифицированы посредством выявления нейрональной NO-синтазы (nNOS или NOS-1). На основе проведения сравнительного анализа распределения NO-синтезирующих нейронов в пределах продолговатого мозга у различных видов лабораторных животных было выявлено наличие определенных видовых отличий в характере распределения этих нейронов [7]. В настоящее время положение, что NO-синтазный путь метаболизма L-аргинина играет существенную роль в функциональной активности NO-образующих нейронов, представляется бесспорным; это подтверждено результатами многочисленных исследований.

Нами были получены приоритетные данные о том, что у крыс с нормальным артериальным давлением увеличение количества

экзогенного NO в медуллярных нейронах при инъекциях донора NO нитропрусида натрия или усиление продукции эндогенного NO вследствие активации нейрональной NO-синтазы инъекциями L-аргинина в медуллярные ядра сопровождались преимущественно развитием гипотензивных реакций, которые были качественно сходными. В основе снижения уровня САД лежало угнетение нисходящих симпатoadтивирующих влияний на сердце и сосуды.

Анализ структуры гемодинамической реакции выявил преимущественную роль в этом феномене сосудистого компонента, оценивающегося по существенному падению сопротивления в периферических сосудах при незначительных изменениях частоты сердечных сокращений и насосной функции сердца. В то же время в части опытов в основе редукции САД лежал сердечный компонент гемодинамической реакции, что проявлялось в виде выраженного уменьшения частоты сердечных сокращений при мало выраженных изменениях сосудистого сопротивления. Обращает на себя внимание тот факт, что повышение уровня NO в зонах локализации кардиоваскулярных нейронов в дорсомедиальном отделе продолговатого мозга в части опытов (порядка 30%) сопровождалось развитием гипертензивных реакций, наряду с гипотензивными реакциями. Подобная амбивалентность могла быть обусловлена особенностями распределения возбуждающих и ингибиторных нейронов в пределах дорсомедиального отдела продолговатого мозга, широким спектром медиаторного обеспечения различных нейронов этого отдела мозга, видовой специфичностью распределения нейроцитов в продолговатом мозгу крыс, а также особенностями функционирования NO как медиатора. Одна из них состоит в том, что NO не требует специальных рецепторов на внешней мембране нейрона для его активации, а проникает в соседние клетки путем обычной диффузии, сохраняя физиологическую активность в радиусе до 1 мм. В этой связи направленность сдвигов уровня САД при увеличении количества NO безусловно может зависеть от того, какие нервные клетки попадают в сферу его действия. Гипотензивные эффекты L-аргинина существенно ослаблялись после угнетения nNOS с помощью ее специфического антагониста 7-нитроиндазола, а микроинъекции других ингибиторов этого фермента L-NMMA и L-NNA в медуллярные ядра сопровождались развитием преимущественно гипертензивных ре-

акций. Данное обстоятельство служит убедительным доказательством того, что активация nNOS опосредует значительную часть эффектов эндогенного NO в нормальных условиях. Идентификация NO-синтезирующих нейронов обычно базируется на выявлении активности нейрональной NO-синтазы. Если допустить, что именно данный фермент является основным катализатором образования NO в нервной клетке, и если принять за основу утверждение, что NO выполняет функцию тормозного медиатора в системах медуллярных кардиоваскулярных нейронов, то нарушения его синтеза могут оказаться существенной причиной стойкого повышения уровня САД. Отсюда вполне естественным является допущение, что те заболевания сердечно-сосудистой системы, которые в значительной степени основаны на нейрональных эффектах NO, должны быть связанными с нарушениями в NO-синтазном пути метаболизма L-аргинина. К числу таких заболеваний относится гипертензия.

Результаты проведенного нами исследования свидетельствуют о том, что у крыс с генетически детерминированной гипертензией инъекции донора NO нитропруссид натрия или интенсификация продукции эндогенного NO в нейронах медуллярных кардиоваскулярных ядер с помощью инъекций L-аргинина сопровождалась развитием преимущественно гипотензивных реакций, оказавшихся количественно более выраженными, по сравнению с теми, которые развивались у животных с нормальным артериальным давлением при их качественном сходстве [2]. Так, инъекции 15,2 нмоль нитропруссид натрия в ядро солитарного тракта (NTS) крыс с генетически детерминированной гипертензией приводила к снижению уровня САД в среднем на 44,8 % ($P < 0,01$); в обоюдное ядро (AMB) – на 39,0% ($P < 0,01$); в латеральное ретикулярное ядро (LRN) – на 33,2 % ($P < 0,01$), в то время как у нормотензивных животных инъекции этого агента в исследованные медуллярные ядра сопровождалась снижением уровня САД на 33,7 % ($P < 0,05$); 23,4 % ($P < 0,05$) и 18,9 % ($P < 0,05$), соответственно. У крыс с генетически детерминированной гипертензией инъекции 5,8 нмоль L-аргинина в NTS инициировало снижение уровня САД на 41,4 % ($P < 0,01$); инъекции его в AMB вызывали падение САД на 35,2 % ($P < 0,01$) и в LRN- на 32,8 % ($P < 0,01$). У нормотензивных крыс снижение уровня САД составляло 28,4 % ($P < 0,05$); 23,8 % ($P < 0,05$) и 18,2 % ($P < 0,05$) соответственно.

Введение антагонистов nNOS L-NMMA или L-NNA в медуллярные нервные структуры, непосредственно вовлеченные в нервный контроль функции кровообращения, индуцировало сдвиги уровня САД, которые были не только количественно, но также качественно сходными у нормотензивных и спонтанно гипертензивных особей, что может свидетельствовать о примерно одинаковой активности nNOS в обеих группах животных. Совокупность этих результатов и данных о более выраженных гемодинамических эффектах инъекций L-аргинина при гипертензии дает основание думать, что одной из основных причин стойкого повышения уровня САД при гипертензии может быть не повреждение фермента, а сниженный синтез NO за счет недостаточного количества L-аргинина в качестве субстрата для метаболизма с участием nNOS.

Известно, что в ходе метаболических преобразований L-аргинин, с одной стороны, может окисляться до L-цитрулина с образованием NO при участии конститутивной NO-синтазы клеточной мембраны и конститутивной митохондриальной NO-синтазы. С другой стороны, он способен конвертироваться в мочевины и орнитин с помощью цитозольной аргиназы I и митохондриальной аргиназы II. Поскольку NO-синтазы и аргиназы конкурируют за L-аргинин как за субстрат для метаболических преобразований, существует реальная вероятность наличия конкурентных взаимоотношений между данными группами ферментов в целом. Взаимоотношения этих двух энзимов мало изучены, причем в основном они анализировались в экспериментах на эндотелиальных клетках сосудов. В частности, было показано, что при гипертензии синтез эндотелиального NO в периферических сосудах снижен, а активность аргиназы I увеличена [1; 8]. После угнетения аргиназы эндотелиальная артериальная дисфункция при гипертензиях разного генеза уменьшалась. К настоящему времени аргиназа выявлена также в нейронах ЦНС [4]. Как оказалось, данный фермент хорошо экспрессируется не только в коре головного мозга и мозжечке, но также в продолговатом и спинном мозгу мышей, что создает определенные предпосылки для реализации конкурентных взаимоотношений между нею и нейрональной NO-синтазой в системе медуллярных нейронов, где выявлено также большое количество NO-синтезирующих нейронов. Даже при наличии определенных видовых отличий можно думать, для крыс тоже характерна достаточно высокая активность аргиназ. Проведенный нами анализ

гемодинамических эффектов угнетения активности аргиназы в медуллярных кардиоваскулярных ядрах (ядро солитарного тракта, обоюдное ядро, парамедианное и латеральное ретикулярные ядра) позволил заключить, что существенных качественных и даже количественных различий между реакциями у спонтанно гипертензивных и нормотензивных крыс нет. Это обстоятельство указывает на то, что аргиназа является потенциально активной и в норме, и при гипертензии, т. е. в данном случае вопрос может стоять о различиях в степени востребованности фермента в различных ситуациях. Инъекции специфического антагониста аргиназы α -дифторметилорнитина (ДФМО) в исследованные ядра продолговатого мозга обычно сочетались с первоначальным снижением уровня САД, после чего он не только восстанавливался, но даже превышал исходный. Так, после введения 650 нмоль ДФМО в РМп величина САД падала в среднем на 32,5 % ($P < 0,05$), но затем она не только достигала исходного уровня, но даже превышала его на 17,0% ($P < 0,05$). У крыс с генетически детерминированной гипертензией в аналогичной ситуации САД снижалось в среднем на 26,7 % ($P < 0,05$), после чего возвращалось к исходному уровню и превосходило его в среднем на 19,7 % ($P < 0,05$). Реакции отличала достаточно большая длительность – до 10 мин. Падение уровня САД на инъекции ДФМО могло быть следствием компенсаторной активации нейрональной NO-синтазы, однако оно носило кратковременный характер. После предварительного угнетения аргиназы, эффекты инъекций L-аргинина в медуллярные ядра несколько усиливались. На основании полученных материалов складывается впечатление, что аргиназа вносит определенный вклад в стойкое повышение уровня САД при гипертензии, однако он не является определяющим.

В последние годы получила широкое распространение точка зрения, что одной из причин стойкого повышения уровня САД является повышенная продукция реактивных форм кислорода, которая отмечается при различных формах гипертензии на фоне снижения эффективности NO. Избыточная продукция супероксида и их взаимодействие с NO приводят к развитию оксидативного стресса либо прямо, либо опосредованно, через генерацию пероксинитритов. Супероксиддисмутаза (СОД) может играть существенную роль в защите клеток от токсического действия кислородных радикалов, поскольку она катализирует их дисмутацию с образованием

пероксида водорода и молекулярного кислорода. Конкурируя с NO за супероксидные радикалы, СОД может снижать образование пероксинитрита и токсический эффект последних и тем самым усиливать сигнальную функцию данных радикалов.

В наших экспериментах инъекции СОД в медуллярные ядра крыс с генетически детерминированной гипертензией сопровождались закономерным снижением уровня САД. После предварительного введения СОД инъекции L-аргинина в исследованные медуллярные ядра индуцировало развитие гипотензивных реакций, сопоставимых с таковыми у нормотензивных животных. Эти результаты, с одной стороны, подтверждают участие избытка свободных радикалов в развитии стойкого подъема уровня САД, а с другой – свидетельствуют о возможности коррекции гипертензивного состояния путем уменьшения количества свободных радикалов.

Список литературы

1. Сагач В. Ф., Базілюк О. В., Коцюрuba А. В., Буханевич О. М. // Фізіол. журн. – 2000. – Т. 46. – С. 3–13.
2. Шаповал Л. Н. [и др.] // Нейрофизиология. – 2007. – Т. 39, № 3. – С. 232–244.
3. Krukoff T. I. // Brain Res. Rev. – 1999. – Vol. 30. – P. 52–65.
4. Yu H., Iuer R.K., Kern R.M. et al. // J. Neurosci. Res. – 2001. – Vol. 66. – P. 406–422.
5. Shapoval L. N. // Receptors, chanelns, messengers. – 2005. – P. 318–337.
6. Zanzinger J. // Cardiovascul. Res. – 1999. – Vol. 43. – P. 639–649.
7. Zanzinger J., Seller H. // Brain Res. – 1997. – Vol. 764. – P. 265–268.
8. Zhang C., Hein T.W., Wang W. et al. // Hypertension. – 2004. – Vol 44, № 6. – P. 935–943.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

*В основе всех функций организма лежит метаболизм,
т. е. совокупность всех превращений материи и энергии,
которые происходят в биологических системах.*

В. Н. Гурин



Редактор раздела – профессор В. Н. Никандров

ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФАКТОРА РОСТА НЕРВОВ И α_2 -МАКРОГЛОБУЛИНА В ТКАНЯХ МЫШЕЙ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРЕБЫВАНИЯ В ИЗОЛЯЦИИ В ЗАМКНУТОМ ПРОСТРАНСТВЕ

Н. Б. Горбунова, В. Н. Калюнов

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Конкретные механизмы, лежащие в основе действия на живой организм такого физического фактора, как замкнутое пространство (изоляция) равно как и сам характер происходящих при этом обменных изменений, остаются до конца не раскрытыми. Все относящееся к затронутой проблеме актуально, требует разработки соответствующих адекватных моделей и выбора наиболее демонстративных показателей, исследовав которые можно получить необходимые расшифровывающие данные. Документирована эволюционная общность в организации «эмотивного мозга» [1]. Сравнительно-морфологический анализ и практика стереотаксической нейрохирургии указывают на сходство топографического представительства эмоциогенных зон у млекопитающих, в том числе и человека, делая оправданным привлечение модельных опытов на животных для изучения эффектов изоляции. Известно, что биологически активная β -субъединица фактора роста нервов (β -ФРН) – плюрифокально синтезируемый мультифункциональный регулятор многих типов клеток, включенный в адаптивные реакции организма, участвующий в сопряжении нервной, эндокринной, репродуктивной и иммунной систем [2]. Она взаимодействует с альфа α_2 -макроглобулином (α_2 -М) в организме [3]. Исходя из вышеизложенного, целью данной работы ставилось изучить характер изменения уровня β -ФРН и α_2 -М в некоторых тканях мышей в условиях обособленного содержания.

Материалы и методы. Работа выполнена на 12 половозрелых самцах белых беспородных мышей и 12 особях линии Af массой 22–27 г, содержавшихся в стандартных условиях вивария. Животные подвергались разделительному пребыванию в персональных клетках (8,5x20x29) см³ в течение 14 суток. Нахождение в замкнутом пространстве создает отличающуюся от природной, противоестественную, эмоционально ущербную ситуацию. Особи, пребывавшие 7 суток в сообществе с устоявшимися иерархическими взаимоотношениями, именуемые «интактные», служили контролем.

Количественную оценку содержания β -ФРН в тканях проводили с помощью разработанного нами варианта иммунорадиометрического анализа [4]. Уровни α_2 -М устанавливали энзиматическим методом с использованием N-бензоил – D,L- аргинин-p-нитроанилида (БАПНА) в качестве субстрата [5].

Результаты и обсуждение. Индивидуальное содержание животных приводило к редукции ($P < 0,001$) содержания нейроростового белка в сыворотке крови ($1,31 \pm 0,23$ нг/мл) в сравнении с «интактными» особями ($3,70 \pm 0,23$ нг/мл).

У обособленно живущих мышей в сопоставлении с «интактной» группой наблюдались снижение массы вилочковой железы на 27% ($P < 0,01$), тенденция к уменьшению массы селезенки на 10% ($P > 0,05$), а также тенденция к редукции количества ФРН в каждом из органов, соответственно, с $19,43 \pm 2,63$ до $15,79 \pm 3,48$ пг/мг ($P > 0,05$) и с $30,82 \pm 3,19$ до $19,20 \pm 1,14$ пг/мг ($P > 0,05$). Такая синхронизация сдвигов позволяет предположить, что с истощением клеточности тимуса и селезенки в них иссякали и запасы фактора на фоне падения его концентрации в циркуляторном русле.

У находящихся в сообществе самцов в мозгу присутствует $21,23 \pm 5,09$ пг/мг β -ФРН. Одинокое обитание вызывало тенденцию к уменьшению его количества до $20,40 \pm 5,54$ пг/мг. Обе популяции мышей дали довольно высокие коэффициенты вариации (67,8% и 76,9%, соответственно), вероятно, из-за их неоднородности. Такого рода тенденция обретала статистическую значимость в сердце с $3,62 \pm 0,53$ до $2,01 \pm 0,52$ пг/мг ($P < 0,05$), в почках с $33,9 \pm 3,71$ до $20,51 \pm 2,07$ пг/мг ($P < 0,01$), печени с $58,93 \pm 3,93$ до $36,61 \pm 5,95$ пг/мг ($P < 0,01$), в семенниках с $191,78 \pm 16,9$ до $46,70 \pm 6,7$ пг/мг ($P < 0,001$) массы сырой ткани. У мышей, обитающих в одиночестве, уровень β -ФРН в подчелюстных слюнных железах (ПСЖ) составил 98,2% ($P > 0,05$) от такового у «интактных».

Итак, результаты свидетельствуют, что 14 сут изоляции приводит к достоверному уменьшению уровня β -ФРН по сравнению с интактными мышами в большинстве исследованных тканей. По степени выраженности эффекты ранжируются в следующем порядке: семенники (на 75,1%), сыворотка крови (на 64,5%), сердце (на 44,3%), почки (на 39,5%), печень (на 37,9%), селезенка (на 37,7%), тимус (на 18,8%), мозг (на 3,9%) (рисунок). Однонаправленное снижение тестируемого показателя в данной экспериментальной ситуации, обязано, вероятно, общности закономерностей реа-

гирования на обособление. Последнее, в конечном итоге, приводит к подавлению продукции нейроростового белка синтезирующими его клетками в ПСЖ, либо блокаде высвобождения ими β -ФРН в циркуляторное русло, либо к активации потребления его мишенями, наделенными его специализированными рецепторами, или значительному истощению пула его мРНК.

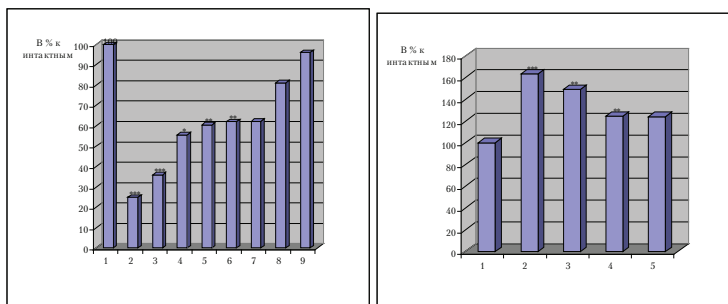


Рис. Изменение содержания β -ФРН (А) α_2 -макроглобулина (Б) и в тканях самцов мышей при их изоляции (в % по отношению к интактным).

1 – интактные, 2 – семенники, 3 – сыворотка крови, 4 – сердце, 5 – почка, 6 – печень, 7 – селезенка, 8 – тимус, 9 – головной мозг.

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$

Диаметрально противоположная раскладка фиксировалась в случае α_2 -М. После суточного обособления происходило достоверное увеличение концентрации его в сыворотке крови (на 24,1%, $P < 0,01$), в селезенке (на 24,6%, $P < 0,05$) в мозгу (на 63,2%, $P < 0,001$), в почках (на 49,3%, $P < 0,01$) по сравнению с контрольными мышами линии Af (рис. 16) с тенденцией к тому в левой внутренней (на 8,29 %), правой внутренней (на 3,46 %) и снижению в левой боковой (на 3,77%), правой боковой (на 4,16%) долях печени, являющейся основным местом синтеза этого белка.

Неблагоприятное стрессовое воздействие изоляции подтверждено в работе [1]. В сфере понимания механизмов приспособительных реакций организма на стресс участие в их реализации взаимодействия таких регуляторов межклеточных отношений, как β -ФРН и α_2 -М ранее не рассматривалось.

Пенитенциарная изоляция приводит к разнообразным психическим отклонениям. Актуальной задачей современной пенитенциарной медицины является научное обоснование, разработка и широкое внедрение в практику новых, эффективных и безопас-

ных методов диагностики расстройств адаптации тревожно-депрессивного спектра. Дезадаптация, проявляясь на первых порах в виде тревоги и депрессии, в дальнейшем может способствовать появлению или прогрессированию психопатологии. Полученное снижение количества β -ФРН в сыворотке крови при изоляции мышей рифмуется с данными о снижении уровня этого нейротрофина [6] в сыворотке крови у больных шизофренией, очевидно, свидетельствуя об общности механизмов развития реакции у животных и человека. Вовлечение в реакцию на изоляцию полифокального по месту синтеза и полипотентного ростового агента, ответственного за такие базовые процессы жизнедеятельности, как клеточный рост, пролиферация, дифференцировка, секреция, пластичность, апоптоз, поддержание нормального морфофизиологического статуса и резистентности клеток-мишеней к широкому спектру экстремальных влияний, может иметь весьма значительный перечень последствий. Исходя из того, что кровь является транспортной системой, изменение в ней представительства β -ФРН может трактоваться как суммарный итог модификации скорости образования и перераспределения между тканями, особо нуждающимися в трофической поддержке. Сопутствующее тому повышение содержания сывороточного α_2 -М в данной ситуации возможно представляет собой компенсаторный ответ на активацию протеолиза. Не исключено также, что α_2 -М может участвовать в специфическом образовании комплексов с факторами роста (в том числе β -ФРН). Молекулярные механизмы этих сложных взаимодействий остаются неясными. Теоретически оправдано ожидать вовлечение α_2 -М в модуляцию биологической активности этого фактора роста.

Внедрение в лабораторную практику экспериментальной модели изоляции будет способствовать успеху прогресса в методическом оснащении экспериментов, направленных на выявление метаболического обеспечения функций при означенной экспериментальной ситуации.

Список литературы

1. Пошивалов, В. П. Экспериментальная психофармакология агрессивного поведения / В. П. Пошивалов. – Л., 1986.
2. Горбунова Н. Б., Калюнов В. Н. // Докл. НАН Беларуси. – 1997. – Т. 41, № 2. – С. 92–95.
3. Зорин Н. А., Зорина В. Н., Зорина Р. М. // Иммунология. – 2004. – № 5. – С. 302–304.

4. Горбунова Н. Б., Лукашевич В. С., Калюнов В. Н. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 1993. – № 3. – С. 86–90.
5. Карягина И. Ю., Зарембский Б. А., Балябина М. Д. // Лаб. дело. – 1990. – № 1. – С. 72–73.
6. Brodie C., Gelfand. E. W. // J. Neuroimmunol. 1994. – Vol 52. – P. 87–96.

ИЗМЕНЕНИЯ ЭНЗИМАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК ФЕОХРОМОЦИТОМЫ РС12 ПОД ДЕЙСТВИЕМ СТРЕПТОКИНАЗЫ

Р. И. Гронская, В. Н. Никандров

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

В физиологии и патологии клеток важную роль играет перичеселлюлярный протеолиз, включающий несколько протеолитических систем. В последние десятилетия большое внимание уделяют компонентам системы «плазминоген-плазмин» (в т. ч. белкам активаторам и ингибиторам этой системы).

Применительно к клеткам нервной ткани роль указанной системы продемонстрирована для целого ряда процессов: миграции шванновских клеток, роста нейритов, дифференцировки нейробластов и т. д. Вместе с тем выявлено существенное значение компонентов системы при инициации и(или) генезисе злокачественных опухолей, болезни Альцгеймера и некоторых других патологических процессов в нервной ткани. Реализация функции звена «плазминоген-плазмин» немыслима без участия активаторов плазминогена. Среди них одним из наиболее мощных является стрептокиназа (СК) – белок, продуцируемый β -гемолитическими стрептококками некоторых серологических групп.

В последнее десятилетие были впервые продемонстрированы прямые, неопосредованные плазминогеном плазмы крови биологические эффекты СК на структурно-функциональные характеристики клеток нервной ткани в культуре коры головного мозга, вегетативных и чувствительных ганглиев: способность СК повышать жизнеспособность клеток РС12, коры головного мозга новорожденных крыс, глиомы С6 и нейробластомы IMR-32 при культивировании на бессывороточных питательных средах, улучшать рост и развитие клеток ткани симпатических и чувствительных спинальных ганглиев новорожденных крыс [1; 2].

Было установлено, что воздействие SK на клетки феохромоцитомы PC12 уже через 20 мин вызывает значительные изменения уровня процессов внутриклеточного протеолиза [3]. Однако в целом влияние SK на метаболизм клеток, в т. ч. нервной ткани систематически не изучалось.

В настоящей работе предпринята попытка исследовать уровень энзиматической активности клеток феохромоцитомы PC12, находящихся в разном состоянии – нативных и трансформированных фактором роста нервов в нейроноподобные. Указанная клеточная линия удобный и часто используемый объект при исследовании механизмов нейронального роста, созревания, пролиферации и фенотипической дифференцировки.

Материалы и методы. Культуры клеток PC12 поддерживали регулярным пассированием на среде DMEM, содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки крови, в стандартных условиях, их выращивали в CO₂-инкубаторе (5% CO₂ и 95% воздуха) при 37 °С.

За сутки до эксперимента для исключения примеси ростовых факторов и синхронизации клеток в прохождении митотического цикла ростовую среду заменяли на свежую, содержащую 0,5% сыворотки, затем со свежей ростовой средой вносили SK («Стрептаза», ОАО «Белмедпрепараты») в концентрации 10⁻⁶ М или пируваткиназы скелетной мышцы кролика («Reanal», Венгрия) в концентрации 10⁻⁶ М. В контрольные пробы SK или пируваткиназу не добавляли.

В отдельной серии клетки PC12 индуцировали к дифференцировке фактором роста нервов в концентрации 100 нг/мл (экспозиция 7 суток), эти клетки обрабатывали SK в концентрациях 0,1 и 1000 МЕ/мл (5·10⁻¹⁰ и 5·10⁻⁶ М) в течение 24 ч.

Активность сукцинатдегидрогеназы исследовали гистохимически тетразолиевым методом [4], количественно ее (усл. ед.) учитывали на микроскопе-фотометре MPV-2 (Leitz, Германия) по программе Cellan. Активность α -аланинаминотрансферазы определяли спектрофотометрически, используя оптический тест Варбурга, по изменению абсорбции при 340 нм [5]. Количество клеток в пробе соответствовало 1 млн.

Результаты и обсуждение. Экспозиция клеток феохромоцитомы с SK существенного влияния на активность сукцинатдегидрогеназы не оказала (рис.).

Следует отметить, что ранее нами было показано отсутствие эффекта и суточного воздействия плазминогена (10^{-11} – 10^{-6} М) в среде, содержащей 0,5 % сыворотки, на активность лактат-, сукцинат- и NADH-дегидрогеназ [6]. Кроме того, как установлено предшествующими исследованиями воздействие SK в течение 20 мин на указанные клетки не вело к их гибели или изменениям морфологии при прижизненной световой микроскопии [3]. Принципиально аналогичная картина наблюдалась уже в настоящих исследованиях и через 24 ч.

Вместе с тем, добавка пируваткиназы в питательную среду приводила к заметному снижению активности внутриклеточной дегидрогеназы.

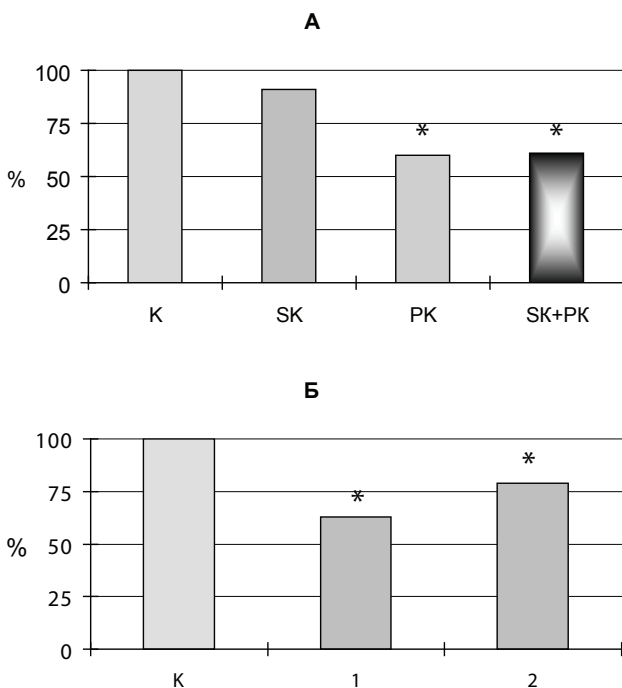


Рис. Изменения активности сукцинатдегидрогеназы в клетках феохромоцитомы PC12 (А) после воздействия SK, пируваткиназы (PK) или эквимольного комплекса этих белков (SK+PK) или активности аланинаминотрансферазы в трансформированных фактором роста нервов клетках PC12 (7 сут культура) (Б) после воздействия SK в концентрации $5 \cdot 10^{-10}$ (1) или $5 \cdot 10^{-6}$ М (2);* – $P \leq 0,0\%$

Действие эквимольного комплекса этих белков было практически аналогично эффекту пируваткиназы. Следует отметить, что избранная для экспериментов пируваткиназа представляет собой М1-тип, являющийся основным изоэнзимом мозга и единственным в скелетных мышцах. Несмотря на снижение активности сукцинатдегидрогеназы, гибели клеток в культуре не наблюдалось.

Между тем, на культурах клеток глиомы С6 и нейробластомы IMR-32 установлено, что SK в концентрациях 10^{-7} – 10^{-9} М оказывала явный митогенный эффект на обе культуры, а также вызывала рост содержания внутриклеточных ДНК, РНК и белка на 20–110%. Внесение пируваткиназы через 1 сут не влияло на пролиферацию клеток глиомы С6 и уровень биополимеров, тогда как комплекс SK–пируваткиназа вызвал усиление пролиферации и рост уровня биополимеров на 30–140%. В клетках же нейробластомы IMR-32 под действием пируваткиназы нарастал уровень РНК, ДНК и белка на 25–80%. Комплекс SK–пируваткиназа обусловил рост содержания РНК и белка в этих клетках IMR-32 на 25–50%, не влияя на уровень ДНК и пролиферацию [7]. Следовательно, действие исследуемых белков на разные типы опухолевых клеток, даже и доброкачественных, к которым относится и феохромоцитома PC12 существенно различается.

Что касается трансформированных (нейроноподобных) клеток PC12, то воздействие SK даже в минимальной концентрации обусловило заметное снижение активности аланинаминотрансферазы (рис). Между тем, гибели этих клеток также не наблюдали. В целом, процессы трансминирования имеют важное значение для нервной ткани не только в энергетическом плане, но и специфического характера. Однако снижение интенсивности образования глутамата в ходе аланинаминотрансферазной реакции может быть отражением именно адаптивных перестроек метаболизма. Гораздо важнее тот факт, что воздействие стрептокиназы на нейроноподобные клетки даже в концентрации порядка 10^{-10} М способно вызывать достаточно заметные изменения внутриклеточного метаболизма. Это обстоятельство заслуживает внимания по той причине, что препараты стрептокиназы разрешены в парентеральному применению в лечебных целях, однако сфера применения их ограничивается пока, в основном, использованием мощного тромболитического действия.

Итак, изложенные результаты небольшого объема исследований четко показывают необходимость дальнейшей углубленной и всесторонней разработки аспектов и механизмов цитофизиологического и метаболического действия стрептокиназы, а также продолжение дальнейших исследований биологического действия М1 формы пируваткиназы, начало которым было положено именно в нашей лаборатории в предшествующие годы.

Список литературы

1. Никандров В. Н. [и др.] // Биомед. химия. – 2008. – Т. 54, № 2. – С. 192–200.
2. Никандров В. Н. [и др.] // Materials, methods and technology. Scientific articles 2007. Sci. Invest. LTD-branch Bourgas. – Bulgaria, 2007. – P. 48–66.
3. Никандров В. Н., Петрусенко Г. П., Гронская Р. И. // Весці НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук. – 2003. – № 4. – С. 84–87.
4. Лойда, З. Гистохимия ферментов / З. Лойда, Р. Госсрай, Т. Шиблер. – М., 1982.
5. Методы клинических лабораторных исследований / В. С. Камышников [и др.]. – Минск, 2002. – С. 501–502.
6. Никандров В. Н. [и др.] // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2008. – № 1. – С. 85–97.
7. Романовская, А. А. Изменения функционально-метаболического состояния клеток нервной ткани под воздействием плазминогена, стрептокиназы и их эквимольных комплексов с пируваткиназой: автореф. дис. ... канд. биол. наук / А. А. Романовская. – Минск, 2007.

ПРИЖИЗНЕННОЕ ОКИСЛЕНИЕ АЛКОГОЛЯ В МОЗГЕ

С. М. Зиматкин, А. Л. Бубен

Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь

Злоупотребление алкоголем (пьянство) и алкоголизм наносят большой материальный и моральный ущерб современному обществу, вносят значительный вклад в заболеваемость и смертность населения Беларуси и многих других стран. Несмотря на огромные усилия мирового научного сообщества, лечение алкоголизма остается неэффективным. Это связано с недостаточной изученностью нейрохимических механизмов патогенеза этого тяжелого заболевания и действия алкоголя на мозг. Многочисленные исследования показали, что первый продукт окисления этанола в организме – ацетальдегид (АА) опосредует ряд центральных (нейрохимических, поведенческих и нейротоксических) эффектов алкоголя и

может играть ключевую роль в патогенезе алкоголизма [2, 5]. Очевидно, что для этого АА должен присутствовать в мозге. Однако, образующийся на периферии при окислении этанола АА не проходит через гемато-энцефалический барьер. Следовательно, для осуществления своего центрального действия АА должен образоваться из этанола в самой ткани мозга. Возможность окисления этанола в мозге была доказана ранее в опытах *in vitro* в гомогенатах мозга [3]. При этом было показано, что основным ферментом катализирующим этот процесс в мозге является не алкогольдегидрогеназа, как на периферии, а каталаза и, в меньшей степени, цитохром P450 2E1 [4]. Вместе с тем, несмотря на убедительность полученных данных, всегда оставались сомнения, насколько процесс окисления этанола в мозге, выявленный *in vitro*, имеет место в живом организме. Однако, несмотря на принципиальную важность вопроса, возможность *прижизненного* окисления этанола в мозге оставалась не доказанной. Это и явилось основной целью настоящей работы.

Материалы и методы. Исследование проведено на 50 беспородных белых крысах-самцах массой 220–270 г. Для оценки возможности окисления алкоголя в мозге нами разработана методика вентрикуло-цистернальной перфузии мозга крысы раствором этанола [1]. Под общим наркозом (калепсол 100 мг/кг, в/б) животных помещали в стереотаксический аппарат, делали надрез мягких тканей головы, с помощью портативной бормашины просверливали черепную коробку. Через отверстие, следуя координатам стереотаксического атласа мозга крысы (P -0,9; L 1,5; D 3,5 мм), в боковой желудочек мозга вводили иглу, соединенную с фторопластовой трубкой, через которую с помощью шприца и микронасоса с постоянной скоростью вводили раствор этанола в искусственной спинномозговой жидкости. Вторую иглу вводили в большую цистерну мозга, а соединенную с иглой фторопластовую трубку помещали в пробирку для сбора проб перфузата таким образом, чтобы конец трубки был погружен в предварительно налитый ацетальдегидсвязывающий охлажденный до 4⁰С раствор.

С помощью шприца и микронасоса в боковой желудочек мозга крысы с постоянной скоростью (в наших опытах от 6 до 48 мкл/мин) вводили перфузионный раствор содержащий этанол в различных концентрациях (от 10 до 400 мМ). Выход перфузата происходил самотеком под давлением нагнетаемого перфузионного

раствора. Каждую пробу собирали в течение 5 или 10 мин. Длительность исследования – от 30 мин до 5 часов. Содержание этанола и АА в перфузате определяли газохроматографически [5].

Результаты и обсуждение. Полученные данные показали, что при прохождении через желудочковую систему мозга крысы содержание этанола в перфузионной жидкости значительно снижается. При этом в перфузате начинает определяться АА. Например, при перфузии 100 мМ раствором этанола со скоростью 12 мкл/мин в течение 1 часа в перфузате определяется от 2 до 10% вводимого этанола. При этом в перфузате выявляется АА в концентрации от 15 до 40 мМ. При этом альдегидоксиляющая система мозга работает весьма эффективно, удаляя не менее 99,9% АА, образующегося в данных условиях в мозге при окислении этанола. Точнее, концентрация АА в перфузате составила всего 1/1000–1/10000 от уровня элиминации этанола из перфузионной жидкости. В гомогенатах мозга, где отсутствуют неферментативное удаление этанола это соотношение составило всего 1/40–1/100 [3]. В этих опытах впервые показана принципиальная возможность прижизненного окисления этанола в мозге. Доказательством этого является не только убыль этанола в перфузате, но и появление значительного количества АА, единственным возможным источником которого в данных условиях является окисление этанола тканями мозга. По-видимому, из перфузионной жидкости, протекающей по желудочкам и каналам мозга, этанол свободно диффундирует в ткани мозга. При этом, вероятно, его концентрация будет постепенно снижаться по мере удаления от желудочков. В указанном случае этанол может диффундировать через стенки кровеносных сосудов и уноситься с кровью. Этим можно частично объяснить его элиминацию из мозга, что доказано нами ниже, в опытах с остановкой кровотока. Другая часть этанола окисляется в ткани мозга, а продукт окисления этанола, АА, частично возвращается в перфузат, где и определяется газохроматографически. Можно полагать, что в ходе проводимой нами внутрижелудочковой перфузии в процесс окисления этанола постепенно вовлекается значительная часть мозга. Хотя более интенсивно этот процесс должен протекать вблизи желудочков, где создаются более высокие, насыщающие концентрации этанола.

При увеличении скорости вентрикуло-цистернальной перфузии этанолом с 6 до 43 мкл/мин (при его постоянной концентрации в перфузионной жидкости 105 мМ), содержание этанола и

ацетальдегида в перфузате постепенно возрастает с 2 до 35 мМ, а содержание АА – с 10 до 50 мМ. Можно полагать, что при возрастании скорости вентрикуло-цистернальной перфузии содержание этанола возрастает из-за неспособности ферментных систем мозга (главным образом каталазы) его окислить либо неспособностью кровеносной системы полностью удалять диффундирующий этанол. При возрастании концентрации этанола в перфузионной жидкости с 10 до 400 мМ (в 40 раз) его концентрация в перфузате возрастает примерно с 1 до 90 мМ (в 90 раз). Это указывает на недостаточность этанолокисляющих систем мозга, а также системы элиминации этанола путем диффузии в кровь при высоких концентрациях этанола в перфузионной жидкости. У этих же животных при возрастании концентрации этанола в перфузионной жидкости в 40 раз, концентрация АА в перфузате возрастает не столь значительно (всего в 4 раза, в среднем от 10 до 40 мкМ). Это указывает на высокую эффективность АЛДГ мозга в окислении АА, образующегося из этанола. Причем она возрастает при повышенном образовании АА при возрастающих концентрациях этанола.

Сразу после смерти крысы, вызванной остановкой кровообращения в результате тампонады сердца, содержание этанола в перфузате быстро возрастает (в среднем с 7 до 25 мМ). Затем в течение часа наблюдается дальнейшее увеличение уровня этанола в перфузате (до 45–50 мМ), после чего он сохраняется на этом же уровне до конца исследования (в течение последующих 3,5 часов перфузии). Следовательно, около 20% проходящего с перфузионной жидкостью через желудочковую систему мозга уносится с кровью и около 70% подвергается окислению. Причем примерно на 20% окисление этанола требует быстро истощаемых после смерти ко-факторов. Однако примерно половина этанола продолжает окисляться и в отдаленный посмертный период и, вероятно, из-за отсутствия дефицита гидроперекиси необходимой для работы каталазы – основного этанолокисляющего фермента мозга.

Результаты исследования также показали, что все три наиболее часто используемые в научных исследованиях ингибитора фермента каталазы (аминотриазол, азид натрия и цианамид кальция) повышают уровень этанола в вентрикуло-цистернальном перфузате мозга живой крысы, то есть угнетают прижизненную элиминацию и окисление этанола в мозге. Это указывает на участие каталазы в

процессе прижизненного окисления этанола в мозге крысы. Полученные результаты полностью соответствуют данным литературы о ведущей роли каталазы в процессе окисления этанола в гомогенатах мозга [2, 3].

Таким образом, в результате исследования:

1) впервые разработан метод прижизненного исследования элиминации и окисления алкоголя в мозге. Метод включает газохроматографическое определение убыли этанола и накопления ацетальдегида в образцах перфузата, получаемого из большой цистерны мозга наркотизированного животного после стереотаксического введения ему этанолсодержащего перфузионного раствора в боковой желудочек мозга. Многократное в течение длительного времени взятие у животного проб перфузата позволяет изучать процесс прижизненного окисления этанола в мозге в динамике и его регуляцию;

2) впервые доказана возможность элиминации и окисления экзогенного этанола и образование ацетальдегида в мозге живой крысы. Эти процессы зависят от скорости вентрикуло-цистернальной перфузии и концентрации этанола в перфузионном растворе и замедляются, но не прекращаются, после смерти животного;

3) методом ингибиторного анализа впервые показано участие фермента каталазы в процессе прижизненной элиминации и окисления этанола в мозге крысы. Это соответствует данным о важной роли каталазы в окислении алкоголя в мозге *in vitro*.

Список литературы

1. Зиматкин С. М., Бубен А. Л. // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2006. – № 9. – С. 357–360.
2. Zimatkin S. M. and Deitrich R. A. // *Addiction Biology*. – 1997. – Vol. 2. – P. 387–399.
3. Zimatkin S. M., Liopo A. V. and Deitrich R. A. // *Alcohol Clin. Exp. Res.* – 1998. – Vol. 22. – P. 1623–1627.
4. Zimatkin S. M., Pronko S. P., Vasiliou V. et al. // *Alcohol Clin. Exp. Res.* – 2006. – Vol. 30. – P. 1500–1505.
5. Deitrich R., Zimatkin S. and Pronko S. // *Alcohol Res. Health*. – 2006. – Vol. 29. – P. 266–273.
6. Zimatkin S. M., Buben A. L. // *Alcohol and Alcoholism*. – 2007. – Vol. 42, № 6. – P. 529–532.

МЕЛАТОНИН И КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ

В. В. Зинчук, С. В. Глуткин, Е. В. Шульга, И. Э. Гуляй

Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь

В последнее время вызывает значительный интерес проблема разнообразных физиологических эффектов гормона мелатонина, вырабатываемого в эпифизе, клетками APUD системы. Он обладает множеством эффектов: участвует в синхронизации биоритмов, регуляции иммунной системы, обладает кардиопротективным, противоопухолевыми, антистрессорными свойствами. Данная субстанция оказывает действие на многие функции организма, в том числе и на систему крови [1]. Известны единичные данные об эффекте этого гормона на механизмы транспорта кислорода кровью, в частности на деформируемость эритроцитов при окислительном стрессе, индуцированном липополисахаридом (ЛПС) [5]. Однако его влияние на кислородсвязывающие свойства крови изучено недостаточно. Целью данной работы являлось изучение на различных моделях окислительного стресса влияния мелатонина на кислородтранспортную функцию крови.

Материалы и методы. Крысы ($n=48$, массой 220–270 г) подвергались холодовому воздействию в течение 120 минут при температуре воды 19°C, отогревание осуществлялось на протяжении последующих 120 мин со средней скоростью отогревания 0,6°C за 10 мин. За 30 мин до холодового воздействия вводился мелатонин внутривентриально в объеме 1 мл (в 1% растворе этанола). Животные были разделены на 6 экспериментальных групп: 1-я – контроль; 2-я – гипотермия/отогревание; в следующих группах животные подвергались охлаждению и отогреванию, но предварительно получали мелатонин в дозе 0.1 (3-я), 1 (4-я), 10 (5-я) однократно и 1 мг/кг (6-я) ежедневно в течение 4 суток. Забор смешанной венозной крови из правого предсердия крыс осуществляли в конце периода отогревания.

В другой серии экспериментов окислительный стресс моделировали путем введения ЛПС *Escherichia coli* (Serotype O111:B4, «Sigma») кроликам ($n=13$, массой 2.5–3.5 кг). Животным первой группы вводили ЛПС (500 мкг/кг), а второй группы – в течение 3 суток до инъекции ЛПС вводили мелатонин внутривентриально

в дозе 4 мкг/кг в 0,1% спиртовом растворе. Через 12 часов после инъекции ЛПС в условиях наркоза (внутривенно тиопентал натрия в дозе 30 мг/кг) из правого предсердия производили забор смешанной венозной крови.

На газоанализаторе «Synthesis-15» (Instrumentation Laboratory) оценивали следующие показатели крови: парциальное напряжение кислорода (pO_2), насыщение крови кислородом (SO_2), содержание кислорода (C_vO_2), парциальное напряжение углекислого газа (pCO_2), уровень гемоглобина (Hb), бикарбоната плазмы (HCO_3^-), общего CO_2 плазмы (TCO_2), действительный избыток оснований (ABE), стандартный избыток оснований (SBE), стандартный бикарбонат (SBC), величину pH. $p50$ измеряли при стандартных условиях $pH = 7,4$, $pCO_2 = 40$ мм рт. ст. и $T = 37^\circ C$ ($p50_{станд}$) и при реальных значениях pH, pCO_2 и температуры ($p50_{реальн}$). Содержание нитрат/нитриты определяли с использованием реактива Грисса.

Статистическую обработку данных осуществили с использованием программы Statistica. Средние выборочные значения количественных признаков приведены в виде:

$$\bar{x} \pm S_x,$$

где \bar{x} – среднее значение, S_x – ошибка среднего значения. Использовали непараметрический метод – тест Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение. В результате холодового воздействия и последующего отогревания pO_2 снизилось на $2,5 \pm 0,55$ мм рт. ст. ($p < 0,05$), а SO_2 – на $1,5 \pm 0,27\%$ ($p < 0,05$) в сравнении с контролем ($pO_2 = 27,9 \pm 0,35$ мм рт. ст., $SO_2 = 27,1 \pm 0,64\%$). Однократное введение мелатонина в дозе 1 мг/кг и 10 мг/кг приводило к повышению pO_2 (на $3,3 \pm 0,42$ $p < 0,05$ и на $3,0 \pm 0,26$ мм рт. ст., $p < 0,05$, соответственно) и SO_2 (на $5,2 \pm 1,09$, $p < 0,05$ и на $2,9 \pm 0,93\%$, $p < 0,05$, соответственно) по отношению к группе, подвергнувшейся охлаждению и отогреванию. Введение мелатонина в дозе 1 мг/кг в течение четырех дней повышало pO_2 на $3,0 \pm 0,26$ мм рт. ст. ($p < 0,05$) относительно группы, подвергнувшейся охлаждению и отогреванию. Выраженных изменений со стороны показателей кислотно-основного состояния не наблюдалось. Значение $p50_{станд}$ составило $31,5 \pm 0,28$ мм рт. ст., а $p50_{реальн}$. – $30,2 \pm 0,61$ мм рт. ст. Введение мелатонина в дозе 0,1 мг/кг существенно не изменяло величину значений $p50_{станд}$ и $p50_{реальн}$., а в больших дозах увеличивало

их. Этот эффект был наибольшим при длительном введении мелатонина (на протяжении четырех дней): р50станд увеличивало на 5,4% ($p < 0,05$), а р50реальн – на 12,9% ($p < 0,05$) по отношению к группе охлаждения с последующим отогреванием. Положение кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях рН, рСО₂ и температуры характеризуется смещением вправо, тем самым, указывая на снижение сродства гемоглобина к кислороду. В результате холодового воздействия и последующего отогревания количество нитрат/нитритов увеличивается. Относительно крыс, подвергавшихся гипотермии и отогреванию, их уровень повышается во всех группах, получавших мелатонин, за исключением его наименьшей дозы (0,1 мг/кг)

У кроликов, которым в течение 3 суток вводили мелатонин перед инъекцией ЛПС, наблюдалось улучшение кислородтранспортной функции крови. Отмечалось увеличение количества гемоглобина, кислородной емкости крови, степени оксигенации, также происходило снижение р50 при реальных значениях рН, рСО₂ и температуре, что соответственно отражает сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина влево.

Известно, что хроническое назначение мелатонина приводит к увеличению количества гемоглобина и эритроцитов [1]. В опытах *in vitro* добавление данной субстанции в культуру эритроцитов человека и животных предупреждало гемолиз, вызываемый различными цитотоксическими воздействиями (паракват, малоновый диальдегид, перекись водорода, соли тяжелых металлов и другие), при этом сроки наступления 100% гемолиза практически удваивались, осмотическая стойкость эритроцитов возрастала одновременно с повышением в них уровня ионов калия, задерживались модификация мембранных белков, денатурация гемоглобина и высвобождение гемина [2]. В условиях окислительного стресса мелатонин начинал активно поступать внутрь эритроцитов и использовался в целях защиты их путем замедления процессов денатурации гемоглобина и угнетения высвобождения гемина. Это может защитить эритроциты от факторов, нарушающих их деформируемость при окислительном стрессе. Показано, что этот метаболит снижал уровень тиобарбитурат-положительных соединений и повышал текучесть мембраны эритроцита (снижая мембранную ригидность) при его преинкубации вместе с эритроцитами [3].

Мелатонин проявляет свои свойства через действие на специфические рецепторы (MT 1, MT 2). Данная субстанция эффективно взаимодействовала с различными свободными радикалами (рецепторнезависимое воздействие), а также повышала активность ферментов антиоксидантной системы и снижала активность ферментов прооксидантной системы (рецепторзависимое воздействие) [4]. Мелатонин влиял на активность различных изоформ NO-синтаз. Он ингибировал экспрессию индуцибельной изоформы NO-синтазы, снижая продукцию NO. Возможно, эффекты оксида азота и мелатонина на систему крови имеют близкие механизмы.

Полученные нами данные показывают, что мелатонин является фактором, регулирующим кислородтранспортную функцию крови, изменяя сродство гемоглобина к кислороду (смещает кривую диссоциации оксигемоглобина), благоприятствуя процессам тканевой оксигенации. Мелатонин способствует уменьшению окислительных повреждений, вызванных холодовым воздействием и ЛПС, путем увеличения или снижения количества кислорода. Его действие на кислородтранспортную функцию крови (изменение сродства гемоглобина к кислороду) возможно, использовать для разработки методов коррекции таких состояний с окислительным стрессом, которые наблюдаются при действии низкой температуры и введении ЛПС.

Список литературы

1. Арушанян Э. Б., Бейер Э. В. // Эксперим. и клин. фармакол. – 2006. – Т. 69, № 3. – С. 74–79.
2. Allegra M., Gentile C., Tesoriere L. J., Livrea M. A. // J. Pineal Res. – 2002. – Vol. 32, № 3. – P. 187–193.
3. Ochoa J. J., Vilchez M. J., Palacios M. A. et al. // J. Pineal Res. – 2003. – Vol. 35, № 2. – P. 104–108.
4. Tengattini S., Reiter R. J., Tan D.X. et al. // J. Pineal Res. – 2008. – Vol. 44, № 1. – P. 16–25.
5. Yerer M. B., Yapislari H., Aydogan S. et al. // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2004. – Vol. 30, № 2. – P. 77–82.

РОЛЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИПОТИРЕОЗА И ТИРЕОИДНОЙ ГИПОФУНКЦИИ В КОМПЕНСАЦИИ НАРУШЕНИЙ ЛИПОПРОТЕИНОВОГО ОБМЕНА ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭНДОТОКСИНЕМИИ

В. А. Касап, Т. В. Короткевич, Т. Ф. Андрушевич

Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь

Известно, что при тяжелых инфекционно-септических процессах, сопровождающихся бактериальной эндотоксинемией, наблюдается угнетение функциональной активности тиреоидной системы [5]. Однако роль функционального состояния щитовидной железы в патогенезе или компенсации метаболических нарушений при бактериальной эндотоксинемии слабо изучена и во многом не ясна. Некоторые исследователи рассматривают тиреоидную гипопункцию как адаптивную реакцию организма при развитии ряда экстремальных состояний [2], другие, напротив, указывают на протективное действие вводимых йодсодержащих гормонов при сепсисе [4; 6]. Для выяснения роли тиреоидной недостаточности в развитии нарушений липопротеинового обмена при действии в организме бактериальных эндотоксинов изучались особенности изменения содержания холестерина (ХС) в различных классах липопротеинов (ЛП) крови у крыс при бактериальной эндотоксинемии в условиях экспериментального гипотиреоза.

Материалы и методы. Опыты выполнены на 40 взрослых белых крысах обоего пола массой 200–220 г. с соблюдением всех правил проведения работ при использовании экспериментальных животных [1]. Экспериментальный гипотиреоз вызывали ежедневным введением перорально 0,02%-ного раствора пропилтиоурацила (6-propyl-n-thyouracyl «Sigma», США) в питьевой воде *ad libitum* в течение трех недель по методике D. Levinson et al. [3]. Крысы контрольной группы получали в качестве питья чистую воду. Каждое животное ежесуточно выпивало по 5–6 мл раствора пропилтиоурацила или чистой воды.

О функциональной активности щитовидной железы судили по уровню йодсодержащих гормонов в крови. Содержание общего трийодтиронина (T_3) и тироксина (T_4) в сыворотке крови определяли радиоиммунологическим методом с помощью тест-наборов производства ИБОХ НАН Беларуси.

Бактериальную эндотоксинемию вызывали путем однократно-го введения внутривентриально крысам бактериального липополисахарида (ЛПС) пирогенала («МЕДГАМАЛ», НИИ эпидемиологии и микробиологии РАМН) в дозе 2,5 мг/кг. Декапитацию животных проводили через 20 часов после введения пирогенала. Ректальную температуру крыс (в прямой кишке на глубине 3,0 см) измеряли электротермометром «Microlife» (Швейцария).

Суммарную фракцию ЛПОНП и ЛПНП выделяли осаждением из сыворотки крови по методу М. Burstein, J. Samaille. Для определения содержания общего ХС и ХС ЛПВП в сыворотке крови проводили экстракцию липидов по методу М. А. Креховой, М. К. Чехрановой. Содержание ХС в сухих липидных экстрактах определяли с использованием реакции Либермана-Бурхарда. Расчет содержания ХС суммарной фракции ЛПОНП+ЛПНП проводили по формуле: $\text{ХС ЛПОНП+ЛПНП} = \text{общий ХС сыворотки крови} - \text{ХС ЛПВП}$. Коэффициент атерогенности рассчитывали по формуле: $\text{коэффициент атерогенности} = \text{ХС ЛПОНП+ЛПНП} / \text{ХС ЛПВП}$.

Все полученные данные обработаны общепринятыми методами вариационной статистики с вычислением t-критерия Стьюдента для независимых выборок.

Результаты и их обсуждение. Бактериальная эндотоксинемия приводила к развитию лихорадочной реакции (с повышением ректальной температуры на 2,3°C; $p < 0,001$), снижению функциональной активности щитовидной железы и нарушению соотношения содержания ХС ЛП различных классов в сыворотке крови.

Через 20 ч после введения пирогенала уровень общего T_4 в крови крыс понижался на 74,2% ($p < 0,001$), содержание общего T_3 – на 45,7% ($p < 0,001$).

Установлено, что введение животным пирогенала сопровождалось снижением содержания ХС ЛПВП (на 19,7%; $p < 0,02$), повышением уровня ХС суммарной фракции ЛПОНП+ЛПНП (на 52,4%; $p < 0,001$) в крови и увеличением коэффициент атерогенности (на 97,9%; $p < 0,001$).

Опыты показали, что экспериментальный гипотиреоз, вызванный приемом 0,02%-ного раствора пропилтиоурацила в течение 3-х недель, приводил к резкому понижению содержания общего T_4 и T_3 в крови: на 97,7% ($p < 0,001$) и на 35,2% ($p < 0,001$), соответственно.

Экспериментальный гипотиреоз у крыс приводил к характер-

ным атерогенным сдвигам содержания ХС ЛП сыворотки крови: повышению содержания общего ХС в крови на 35,4% (с $1,61 \pm 0,18$ до $2,18 \pm 0,12$ ммоль/л; $p < 0,05$), уровня ХС ЛПОНП+ЛПНП крови – на 68,4% (с $0,38 \pm 0,04$ до $0,64 \pm 0,06$ ммоль/л; $p < 0,01$) и коэффициента атерогенности – на 50,0% (с $0,30 \pm 0,04$ до $0,45 \pm 0,06$ ед.; $p < 0,05$). Уровень ХС ЛПВП в крови крыс в условиях гипотиреоза не изменялся.

Установлено, что действие пирогенала в условиях экспериментального гипотиреоза не сопровождалось развитием у животных лихорадочной реакции и вело к значительно менее выраженным, чем у эутиреоидных крыс, изменениям показателей липопротеинового обмена.

Опыты показали, что введение пирогенала гипотиреоидным крысам не сопровождалось снижением уровня ХС ЛПВП, повышением содержания ХС суммарной фракции ЛПОНП+ЛПНП в крови и менее выраженным повышением коэффициента атерогенности, по сравнению с эутиреоидными животными (рис.).

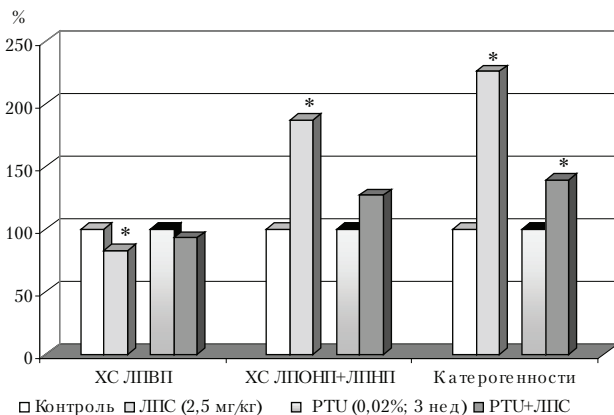


Рис. Изменения содержания ХС ЛП крови и коэффициента атерогенности у эутиреоидных крыс через 20 часов после введения животным бактериального ЛПС пирогенала в дозе 2,5 мг/кг (PTU – пропилтиоурацил)

*Изменения достоверны по отношению к соответствующему контролю (100 %)

Так, через 20 часов после введения крысам пирогенала коэффициент атерогенности возрастал у эутиреоидных крыс на 126,3% (с $0,38 \pm 0,04$ до $0,86 \pm 0,07$ ед.; $p < 0,001$), у гипотиреоидных – на 39,2%: (с $0,51 \pm 0,07$ до $0,71 \pm 0,04$ ед.; $p < 0,05$).

Таким образом, учитывая тот факт, что экспериментальный гипотиреоз у крыс предотвращает вызываемые бактериальной эндотоксинемией сдвиги содержания ХС различных классов ЛПД крови, а также сопровождается менее выраженным, чем у эутиреоидных животных, повышением коэффициента атерогенности, можно предположить, что выявленное снижение функциональной активности щитовидной железы при действии в организме бактериальных эндотоксинов имеет защитно-приспособительное значение.

По-видимому, развитие тиреоидной гипопункции при бактериальной эндотоксинемии играет компенсаторную роль и способствует ослаблению возникающих при эндотоксинемии нарушений липопротеинового обмена.

Список литературы

1. Council of Europe. European Convention for the Protection of the Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg, 1986. Appendix XXII, Article 20. – P. 7.
2. De Groot L. J. // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1999. – Vol. 84, № 1. – P. 151–164.
3. Lewinson D., Harel Z., Shenzer P. et al. // Endocrinology. – 1989. – Vol. 124. – P. 937–945.
4. Dulchavsky S. A., Kennedy P. R., Geller E. R. et al. // J. Trauma. – 1991. – Vol. 31. – P. 753–759.
5. Peeters R. P., Kester M.H., Wouters P. J. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2005. – Vol. 90, № 12. – P. 6498–6507.
6. Yang Z. L., Yang L.Y., Huang G. W., Liu H. L. // World J. Gastroenterol. – 2003. – Vol. 9, № 2. – P. 347–350.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ГОРМОНОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В РАЗВИТИИ НАРУШЕНИЙ ЛИПОПРОТЕИНОВОГО ОБМЕНА ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭНДОТОКСИНЕМИИ

Т. В. Короткевич, В. А. Касап, Т. Ф. Андрушевич

Белорусский государственный медицинский университет,
Минск, Беларусь

Известно, что инфекционные заболевания и септические состояния организма сопровождаются нарушением показателей обмена липопротеинов (ЛПД) и изменением уровня холестерина (ХС) в крови [2; 4]. Однако механизмы нейрогуморальной регуляции содержания ХС различных классов ЛПД крови остаются недостаточно

исследованными. В частности, во многом не ясна роль йодсодержащих тиреоидных гормонов в развитии нарушений липопротенинового обмена при действии в организме бактериальных эндотоксинов. Целью настоящего исследования явилось установление особенностей изменения содержания ХС в различных классах ЛП крови при бактериальной эндотоксинемии у крыс в условиях экспериментального гипертиреоза.

Материал и методы. Опыты выполнены на 40 взрослых белых крысах обоего пола массой 200–220 г. с соблюдением всех правил проведения работ при использовании экспериментальных животных [3]. Экспериментальный гипертиреоз у животных воспроизводили путем введения трийодтиронина гидрохлорида (Lyothyronine «Berlin-Chemie», Германия) в дозе 25 мкг/кг внутрибрюшинно ежедневно в течение двух недель по методу S. Torres et al. [5]. Крысам контрольной группы ежедневно вводили апирогенный физиологический раствор в объеме 0,5 мл.

Бактериальную эндотоксинемия вызывали путем однократного внутрибрюшинного введения крысам бактериального липополисахарида (ЛПС) – пирогенала («МЕДГАМАЛ», НИИ эпидемиологии и микробиологии РАМН) в дозе 2,5 мг/кг. Декапитацию животных проводили через 20 часов после введения пирогенала. Ректальную температуру крыс (в прямой кишке на глубине 3,0 см) измеряли электротермометром «Microlife» (Швейцария).

Из сыворотки крови выделяли суммарную фракцию ЛП очень низкой и низкой плотности (ЛПОНП+ЛПНП) и ЛПВП по методу M. Burstein, J. Samaille. Экстракцию липидов из сыворотки крови и фракции ЛПВП проводили по методу М. А. Креховой, М. К. Чехрановой. После экстракции липидов в сухих липидных экстрактах определяли содержание ХС с использованием реакции Либермана-Бурхарда. Расчет содержания ХС ЛПОНП+ЛПНП проводили по формуле: ХС ЛПОНП+ЛПНП = общий ХС сыворотки крови – ХС ЛПВП. Коэффициент атерогенности рассчитывали по формуле: коэффициент атерогенности = ХС ЛПОНП+ЛПНП / ХС ЛПВП.

Содержание общего трийодтиронина (T_3) и тироксина (T_4) в крови определяли радиоиммунологическим методом с помощью тест-наборов производства ИБОХ НАН Беларуси.

Все полученные данные обработаны общепринятыми методами вариационной статистики с вычислением t-критерия Стьюдента для независимых выборок.

Результаты и обсуждение. Бактериальная эндотоксемия, вызванная введением пирогенала в дозе 2,5 мг/кг, через 20 часов приводила к повышению ректальной температуры крыс на 2,3°C ($36,6 \pm 0,16^\circ\text{C}$ в контроле и $38,9 \pm 0,11^\circ\text{C}$ у опытных животных; $p < 0,001$). Она сопровождалась выраженными изменениями содержания ХС в различных классах ЛП сыворотки крови крыс. Так, через 20 ч после введения пирогенала уровень ХС ЛПВП в крови крыс понижался на 19,7% (с $1,37 \pm 0,05$ до $1,10 \pm 0,08$ ммоль/л; $p < 0,02$), содержание ХС ЛПОНП+ЛПНП повышалось на 52,4% (с $0,63 \pm 0,05$ до $0,96 \pm 0,05$ ммоль/л; $p < 0,001$), коэффициент атерогенности возрастал на 97,9% (с $0,47 \pm 0,05$ до $0,93 \pm 0,08$ ед.; $p < 0,001$). Таким образом, действие в организме животных бактериального ЛПС пирогенала вело к развитию дислиппротеинемии с повышением коэффициента атерогенности.

Экспериментальный гипертиреоз у крыс не влиял на температуру тела и сопровождался сдвигами содержания ХС ЛП крови и коэффициента атерогенности. Так, ежедневное внутрибрюшинное введение животным трийодтиронина в дозе 25 мкг/кг в течение 2 недель сопровождалось снижением содержания общего ХС крови на 20,0% (с $1,95 \pm 0,07$ до $1,56 \pm 0,07$ ммоль/л; $p < 0,01$), ХС ЛПОНП+ЛПНП – на 55,7% (с $0,70 \pm 0,06$ до $0,31 \pm 0,04$ ммоль/л; $p < 0,001$), падением коэффициента атерогенности на 56,1% (с $0,57 \pm 0,06$ до $0,25 \pm 0,04$ ед.; $p < 0,001$) и не влиял на уровень ХС ЛПВП в крови.

Опыты показали, что действие пирогенала у гипертиреоидных крыс сопровождался более выраженной, чем у эутиреоидных животных, лихорадочной реакцией, а также более значительным снижением относительного содержания ХС ЛПВП, приростом уровня ХС ЛПОНП+ЛПНП в крови и коэффициента атерогенности (рис.).

Ректальная температура после введения пирогенала повышалась на 0,5°C (с $37,4 \pm 0,10^\circ\text{C}$ до $37,9 \pm 0,20^\circ\text{C}$; $p < 0,05$) у эутиреоидных крыс и на 1,3°C (с $37,9 \pm 0,3^\circ\text{C}$ до $39,2 \pm 0,4^\circ\text{C}$; $p < 0,05$) у гипертиреоидных животных.

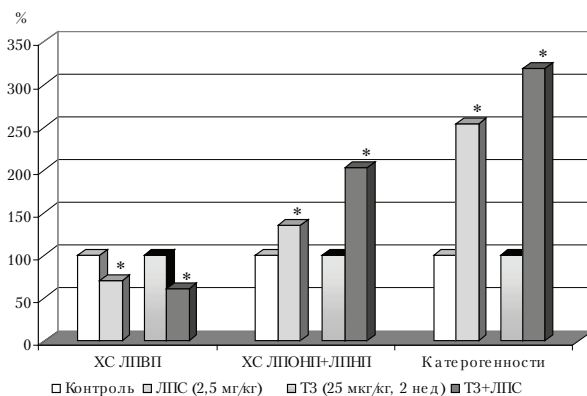


Рис. Изменения содержания ХС ЛП крови и коэффициента атерогенности у эу- и гипертиреоидных крыс через 20 ч после введения животным бактериального ЛПС пирогенала (2,5 мг/кг)

*Изменения достоверны по отношению к соответствующему контролю (100 %)

Установлено, что уровень ХС ЛПВП крови в условиях действия ЛПС понижался на 30,1% (с $1,03 \pm 0,11$ до $0,72 \pm 0,08$ ммоль/л; $p < 0,05$) у эутиреоидных и на 38,7% (с $1,11 \pm 0,12$ до $0,68 \pm 0,15$ ммоль/л; $p < 0,05$) у гипертиреоидных крыс. Выявлено, что прирост концентрации ХС ЛПОНП+ЛПНП в крови под влиянием ЛПС составляет 35,7% (с $0,70 \pm 0,06$ до $0,95 \pm 0,08$ ммоль/л; $p < 0,05$) у эутиреоидных и 103,2% (с $0,31 \pm 0,04$ до $0,63 \pm 0,09$ ммоль/л; $p < 0,001$) у гипертиреоидных животных. Коэффициент атерогенности в условиях действия пирогенала возрастает на 154,5% (с $0,44 \pm 0,06$ до $1,12 \pm 0,27$ ед.; $p < 0,05$) у эутиреоидных и на 219,0% (с $0,21 \pm 0,04$ до $0,67 \pm 0,11$ ед.; $p < 0,001$) у гипертиреоидных животных.

Таким образом, бактериальная эндотоксинемия в условиях гипертиреоза сопровождалась более выраженными сдвигами содержания ХС ЛПОНП+ЛПНП в крови крыс и коэффициента атерогенности по сравнению с эутиреоидными животными, получавшими инъекции пирогенала. Эти особенности могут быть результатом ряда метаболических процессов, развивающихся в условиях совместного действия в организме T_3 и бактериального ЛПС.

Известно, что действие в организме ЛПС сопровождается нарушением метаболизма, характеризующимся мобилизацией основных энергетических субстратов в кровь и снижением скорости их утилизации (синдром гиперметаболизма) [1]. В частности, в крови повышается концентрация свободных жирных кислот (СЖК), избыток которых, наряду с гиперцитокинемией, вызывает снижение активности постгепариновой липопротеинлипазы, расщепляющей ЛПП низкой плотности, в результате чего повышается их содержание в крови [6]. Введение ЛПС гипертиреозидным животным приводит к усугублению дисбаланса между повышением концентрации СЖК в крови (липолитический эффект T_3) и снижением скорости их утилизации (действие ЛПС). Повышенная мобилизация и сниженная утилизация СЖК приводит к более выраженному, по сравнению с эутиреозидными животными, увеличению концентрации СЖК в крови, более значительному угнетению постгепариновой липопротеинлипазы, результатом чего является больший прирост содержания ХС суммарных ЛПОНП и ЛПНП в крови у гипертиреозидных крыс в условиях бактериальной эндотоксинемии.

Таким образом, йодсодержащие гормоны щитовидной железы усугубляют нарушения уровня холестерина липопротеинов крови у крыс, вызываемые бактериальной эндотоксинемией. Полученные результаты дают основание полагать, что тиреозидный статус организма является одним из важнейших факторов, определяющих степень тяжести метаболических нарушений и исход септических состояний.

Список литературы

1. Лейдерман И. Н. // Вестн. интенсив. терапии. – 1999. – № 2. – С. 8–13.
2. Carpentier Y. A. // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. – 2002. – Vol. 5. – P. 153–158.
3. Council of Europe. European Convention for the Protection of the Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg, 1986. Appendix XXII, Article 20. – P. 7.
4. Lanza-Jacoby S. et al. // Biochim. Biophys. Acta. – 1992. – Vol. 1124. – P. 233–240.
5. Torres S. et al. // Am. J. Physiol. – 1999. – Vol. 276, № 1. – P. G155–G163.
6. Van Amersfoort E. S., Van Berkel T. J., Kuiper J. // Clin. Microbiol. Rev. – 2003. – Vol. 16, № 3. – P. 379–414.

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ КОРТИКОСТЕРОНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ У КРЫС ПРИ ПОТРЕБЛЕНИИ СОЕВЫХ ДОБАВОК

Т. М. Лукашенко, С. Б. Кондрашова, В. В. Солтанов

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

В настоящее время особый интерес вызывают некоторые представители класса биофлавоноидов, проявляющие, как показали специальные исследования, гормоноподобные, а именно – эстрогенные свойства, и названные поэтому фитоэстрогенами. Проблема, касающаяся влияния фитоэстрогенов на гормональный статус организма, привлекает пристальное внимание исследователей. В числе новых средств диетического лечения и профилактики заболеваний особое значение приобрели продукты переработки сои, среди которых зарекомендовали себя соевые белки, жиры, пищевые волокна. Лечебная эффективность белков (и частично пищевых волокон) определяется во многом изофлавоноидами, представляющими одну из больших групп фитоэстрогенов. Ряд биологических эффектов диеты объясняется как гормональной, так и негормональной активностью фитоэстрогенов и их метаболитов [5].

Биохимический анализ показал, что фитоэстрогены по структуре обладают определенным сходством с эндогенными эстрогенами животных и имеют близкую с ними молекулярную массу. Указанные свойства позволяют им «узнавать» эстрогенные рецепторы и связываться с ними. Впервые это было показано методом автордиографии на примере энтеролактона и энтеродиола [3]. Согласно исследованиям [4], показавшим, что под влиянием фитоэстрогенов происходят конформационные изменения эстрогенных рецепторов (как альфа-, так и бета-), модулирующие взаимодействие комплекса лиганд-рецептор с генами-регуляторами. Эти факты позволили рассматривать фитоэстрогены как биологически активные соединения, обладающие способностью мимикрировать, блокировать или модифицировать действия эндогенных эстрогенов. Постоянное потребление человеком растительной пищи, молока и мяса травоядных животных может приводить к значительной концентрации фитоэстрогенов в организме. Так, в работе [2] показано, что в сперме, слюне, грудном молоке, соке предстательной железы человека лигнаны энтеролактон и энтеродиол были обнаружены в количествах, превышающих концентрацию эндогенных эстрогенов. Ранее нами установлено, что введение в кормовой рацион

крыс соевых добавок как традиционной, так и генетически модифицированной (ГМ) сои, вызывает существенное изменение веса тела экспериментальных крыс. Направленность эффектов зависит не только от сроков употребления сои, но и, в первую очередь, от пола и возраста животных [1]. Проведенные исследования свидетельствуют, что потребление соевых добавок сказывается на изменении обмена веществ в организме.

Одним из основных глюкокортикоидных гормонов, который регулирует обмен углеводов, белков, жиров и нуклеиновых кислот, является кортикостерон.

Поэтому цель наших исследований заключалась в изучении изменения содержания кортикостерона в плазме крови у крыс, находившихся на различных рационах питания в течение 2-х и 6-ти месяцев.

Материалы и методы. Проведены 2 серии исследований на 96 крысах. Первую серию опытов проводили на крысах с 2,5 месячного возраста (начало половой зрелости). Во второй серии кормление соевыми добавками начинали после окончания лактационного периода (1 месяц), через 6 месяцев животных брали в эксперимент. Подобная методика формирования групп, кормления и содержания животных описана в [1].

Определение содержания кортикостерона у экспериментальных животных проводили с помощью коммерческого набора реактивов, предназначенных для радиоиммунологического определения кортизола в сыворотке крови человека с использованием кортизола меченного иодом-125 (набор СТЕРОН-К-125 I M).

Уровень кортикостерона устанавливали по перекрестной реакции антисыворотки к кортизолу со структурно-родственными стероидами (для кортикостерона она составляет 0.5 %).

Радиоактивность измеряли на γ -счетчике «TRACOR ANALYT-IC», длина волны – 3 λ . Содержание кортикостерона выражали в нмоль/л.

Полученные данные сводились в таблицы и статистически обрабатывались по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Введение в кормовой рацион крыс соевых добавок вызывает увеличение уровня кортикостерона в крови подопытных животных.

У самцов, потреблявших обычную сою в течение 2-х месяцев, содержание гормона в крови увеличилось в 5,4 раза, а у, получав-

ших добавку ГМ сои – в 7 раз по сравнению с контрольной группой (рисунок, самцы). Такая же направленность эффектов выявлена и группе самок.

Так, у самок, которых кормили традиционной соей, уровень кортикостерона возрос в 3,9 раза, а у тех, которым давали добавку ГМ сои – в 7,5 раз (рисунок, самки).

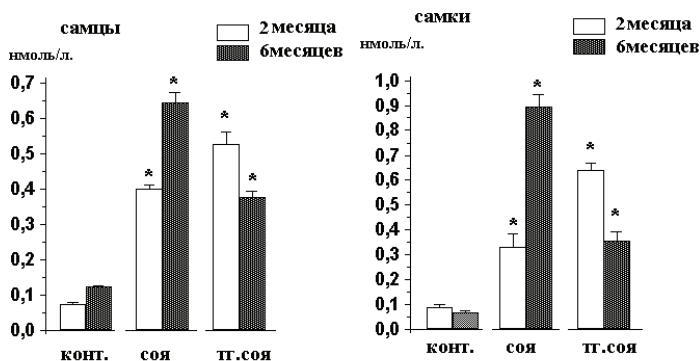


Рис. Изменение уровня кортикостерона в сыворотке крови у самцов и самок крыс при потреблении в пищу в течении 2 и 6 месяцев соевых добавок.

Конт. – контрольные группы крыс; соя – животные, получавшие добавку традиционной сои; тг. соя – получавшие добавку трансгенной сои.

* $P < 0,05$. В каждой группе $n=8$

Во второй серии исследований, где уровень кортикостерона в крови крыс определяли после 6 месяцев кормления соевыми добавками, направленность эффектов сохранялась, но степень выраженности значительно изменялась.

По сравнению с контрольной группой у самцов, получавших традиционную сою, количество кортикостерона возросло в 5, а – ГМ сою – в 3 раза. У самок, потреблявших традиционную сою, уровень гормона увеличился в 14 раз, а – ГМ сою, только в 5,6 раза (рис., самцы и самки, 6 месяцев кормления).

Следует обратить внимание на тот факт, что как у самцов, так и у самок, длительное потребление (6 месяцев) ГМ сои вызывает повышение количества гормона в крови, однако эти изменения значительно меньше, чем уровень кортикостерона у животных, потреблявшим ТГ сою в течение 2-х месяцев

Таким образом, полученные экспериментальные данные позволяют заключить, что потребление соевых добавок вызывает изменение уровня глюкокортикоидов в крови экспериментальных животных. Более того, мы видим, что у крыс получавших ГМ сою на протяжении 2-х месяцев количество гормонов в крови выше, чем в группах, потреблявших традиционную сою. Это, вероятно, можно объяснить тем, что традиционная соя содержит 36% протеинов, тогда как ГМ соя – 51,4%. Отсюда количественный (а возможно и качественный) состав фитоэстрогенов у них будет значительно различаться, что мы, и наблюдаем при оценке уровня гормонов у крыс, потреблявших сою с различным содержанием протеинов. При длительном потреблении традиционной сои уровень глюкокортикоидов у экспериментальных животных продолжает нарастать, тогда как у крыс, получавших ГМ сою, количество гормона начинает снижаться, по отношению к группе получавшей добавки только два месяца. Вероятно, длительное потребление ГМ сои приводит к значительной концентрации фитоэстрогенов в организме, что в свою очередь сказывается на общем гормональном статусе.

Список литературы

1. Лукашенко, Т. М. // Сигнальные механизмы регуляции висцеральных функций: материалы междунар. конф. / Т. М. Лукашенко. – Минск, 2007. – С. 152.
2. Adlercreutz H., Fotsis T., Bannwart C. et al. // Clin. Chim. Acta. – 1991. – Vol. 199. – P. 263–278.
3. Mousavi Y., Adlercreutz H. // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 1992. – Vol. 41, № 3–8. – P. 615–619.
4. Nikov G. N., Hopkins N.E., Boue S., Alworth W. L. // Environ. Health Perspect. – 2000. – Vol. 108, № 9. – P. 867–872.
5. Setchellk D. R. // Am. J. Clin. Nutr. – 1998. – Vol. 68. – P. 1333S–1346S.

ВЗАИМОСВЯЗЬ РЕАКЦИЙ S-АЦИЛИРОВАНИЯ, НИТРОЗИЛИРОВАНИЯ, ДИСУЛЬФИДООБРАЗОВАНИЯ И БИОСИНТЕЗА КОФЕРМЕНТА А В МЕХАНИЗМАХ НЕЙРОПРОТЕКЦИИ И НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ

*А. Г. Мойсеенок¹, С. Н. Омелянчик¹, В. А. Гуринович¹,
А. А. Шевалье¹, И. Н. Катковская¹, Т. П. Недосекина¹, Н. В. Гуляева²*

¹Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси,
Гродно, Беларусь

²Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии
РАН, Москва, Россия

Феномен растормаживания в рефлекторной деятельности нервных центров является относительно новым механизмом фармакологического действия нейротропных соединений. Вместе с тем получены убедительные доказательства его роли как связующего звена между центрами различных функциональных систем. Нарушение процессов перекрестного торможения может быть отнесено к патофизиологическим проявлениям некоторых заболеваний нервной системы. На это обращал внимание академик В. Н. Гурин, анализируя центральные эффекты ГАМК в нейронных моделях центров терморегуляции и возможность изменения баланса возбуждающих и тормозящих сигналов к пейсмейкерам центров ствола головного мозга посредством низкомолекулярных соединений [1].

Система биосинтеза кофермента А (КоА) – важнейшего регулятора и кофактора биоэнергетических, биосинтетических, детоксикационных реакций, в т. ч. биосинтеза ацетилхолина, рассматривается как один из определенных факторов нейропротекторной защиты [2]. Ключевым ферментом биосинтеза КоА является пантотенаткиназа – фермент, подверженный ингибированию физиологическими концентрациями КоА, ацетил-КоА и некоторыми их предшественниками и аналогами. Нами впервые показано, что эффективным «деингибитором» пантотенаткиназы является окисленный глутатион [3]. Удельный вес КоА-SH в структуре клеточного фонда кофермента, его соотношение с важнейшими ацильными производными (ацетил-, сукцинил-, малонил--КоА) являются физиологическим фактором регуляции метаболических процессов, а его нарушение, как и «секвестрация» неметаболизуемыми

S-ацил производными – реальным патобиохимическим механизмом и следствием обезвреживания ксенобиотиков [4]. Этот механизм действует в системе клеточного сигналирования, поскольку посттрансляционные изменения представляют собой модификацию сульфгидрильных групп белков, глутатиона, серосодержащих аминокислот, КоА, опосредованную сигнальными формами кислорода и азота. Экспрессия и активность индуцибельной синтазы оксида азота (иNOC) играет решающую роль в генерации избытка NO в ткани мозга, что, в свою очередь, предопределяет, наряду с экзайтотоксичностью, возникновение патологических процессов. Последние, например, в глии, в результате сверхсинтеза NO и активации иNOC инициируют нейрональную гибель при ишемическом инсульте и нейродегенеративных заболеваниях. Вместе с тем в низких (физиологических) концентрациях NO может действовать как антиапоптотический/нейропротекторный фактор в нервных клетках [5].

Генетически детерминированный дефект системы биосинтеза КоА при синдроме нейродегенерации (Pantothenate kinase associated neurodegeneration, PKAN) обусловлен низкой активностью пантотенаткиназной реакции, что приводит к внутриклеточному накоплению цистеина, обладающего нейротоксичностью, хелатирующего негемовое железо и, тем самым, активирующему железо-индуцированное ПОЛ [6]. Существующие представления о патогенезе PKAN недооценивают дефект пантотенаткиназы (пантетеинкиназы?) как митохондриального фермента биосинтеза КоА-SH, который осуществляет, помимо коферментных функций, стабилизацию антиоксидантной защиты, опосредованную системой биосинтеза глутатиона-SH и, через ацил-КоА-трансферазные реакции, реновацию фосфолипидных компонентов нейромембран. Не исключена самостоятельная биохимическая роль таких промежуточных продуктов биосинтеза КоА, как 4'-фосфо-пантетеин и 4'-фосфо-пантотеновая кислота. Последняя как продукт пантотенаткиназной реакции является доминирующим метаболитом предшественников кофермента в ЦНС, которому в силу структурных особенностей (образование внутримолекулярного цикла) могут быть присущи функции физиологического хелатирующего агента, а также цистеинутилизирующего субстрата в 4'-фосфо-пантотеноилцистинсинтазной реакции (предшествующей образованию 4'-фосфо-пантетеина). Ранее не изученным аспек-

том является также взаимодействие систем NO и КоА в нервной ткани.

Достаточно давно известно, что пероксинитрит инактивирует КоА-SH, а H₂O₂ резко активирует окисление восстановленной формы кофермента в дисульфид. Особое внимание привлекает способность оксида азота осуществлять S-нитрозилирование КоА. Цистеинилсульфидный фрагмент свободного КоА является наиболее реакционноспособным и доступным при избыточной генерации NO, и образование из КоА и его фрагментов соединений аналогичных нитротирозину (дефосфо-КоА-SH, 4'-фосфо-пантетеин-SH, пантетеин-SH, алетеин-SH, цистеамин-SH), может иметь серьезные биохимические последствия. Однако возможность процесса S-нитрозилирования в «секвестировании» свободного КоА не вызывает сомнения и служит исходным моментом для анализа системного нарушения процессов энергообеспечения, биосинтеза фосфолипидов, глутатиона, ацетилхолина и др. Снижение уровня КоА-SH при патологических процессах, сопровождающихся избыточной генерацией NO, является фактом доказанным и отнесено по значимости к патогенетическому фактору [7]. Не исключено воздействие NO и на процессы биосинтеза КоА, в частности, показана инактивация цистеинилсульфида нитритом, что препятствует использованию L-цистеина в биосинтезе 4'-фосфо-пантетеина.

Скорость взаимодействия NO с тиолами зависит от присутствия иных серусодержащих компонентов клетки, в т. ч. белковых. Однако основным модулирующим фактором является глутатион, содержание которого в ЦНС достигает 1–3 мМ (суммарное содержание КоА равняется 0,06–0,1 мМ). Несомненно, что истощение тканевого фонда глутатиона в ситуациях, сопровождающихся окислительным стрессом, увеличивает возможность прямого взаимодействия NO и КоА, поскольку до 1/3 внутриклеточного фонда кофермента представлено КоА-S-S-глутатионом. Не исключено, что последний (как и цистеинилсульфид и КоА-SH) может специфически взаимодействовать с донором оксида азота S-нитрозоглутатионом и, таким образом, образовывать весьма эффективный буферный механизм поддержания физиологического уровня NO в нейронах. Активирование процесса нейродегенерации приводит к падению содержания глутатиона в нейронах с одновременным усилением продукции NO, что увеличивает возможность их гибели. S-нитрозилирование КоА особенно вероятно при обусловленной

воспалением активации микроглии и астроцитов, сопровождающейся индукцией иNOC, что характерно для ишемии мозга и болезни Альцгеймера. S-нитрозилирование КоА постулировано в качестве эффективного механизма нарушения липогенеза, в результате которого нарушается ремиелинизация липидной мембраны при рассеянном склерозе [8].

Вероятные механизмы взаимодействия систем NO, глутатиона и КоА представлены на рис. Существует обширная и обстоятельная Список литературы о способности предшественников биосинтеза КоА предупреждать активацию процессов ПОЛ в различных экспериментах *in vivo* и *in vitro*. Безусловным доминирующим механизмом является феномен активации КоА-биосинтетическим процессом образования глутатиона *de novo* и частично его регенерации ферментами метаболизма. Удивительно, что в данном случае речь идет о весьма специфичной способности КоА (содержание в ЦНС до 100 нмоль/г) стабилизировать редокс-статус глутатиона (до 3 мкмоль/г). Получены данные о том, что феномен редокс-стабилизации при назначении предшественников КоА сопровождается тотальным ростом количества белковых сульфгидри-

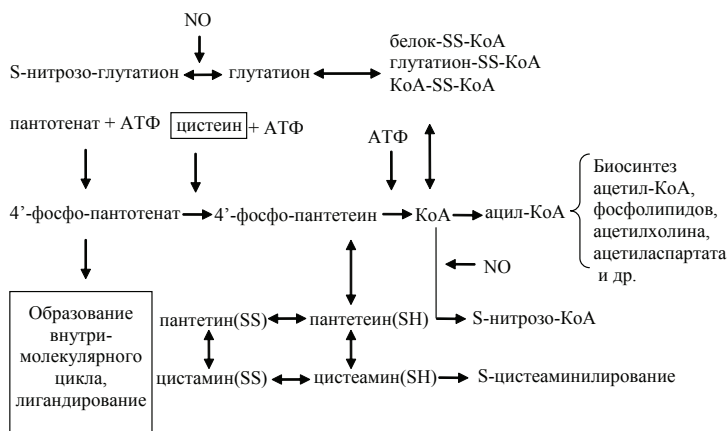


Рис. Взаимосвязь процессов биосинтеза КоА, реакций дисульфидообразования, S-ацильного переноса и нитрозилирования с участием кофермента или его предшественников (фрагментов).

В квадратных рамках указаны гипотетические варианты участия 4'-фосфо-пантотената в утилизации свободного цистеина и лигандирования Fe²⁺ как патогенетических механизмов развития РКАН

дрильных групп. При этом следует иметь в виду, что в процессе биосинтеза КоА значительная его часть депонируется в форме КоА-SS-белка с молекулярной массой 56 кДа в цитозоле [9].

Вышеуказанное позволяет поставить вопрос о роли взаимодействия систем NO и КоА в процессе клеточного сигналирования, в первую очередь, редокс-сигналирования. Как указывалось выше, S-нитрозилирование и образование дисульфидов может быть существенным элементом посттрансляционной модификации белков и обеспечивать значительный ресурс нейронов в механизмах резистентности к окислительному повреждению как активных форм кислорода, так и активных форм азота.

В самое последнее время получены данные о том, что стабилизация биосинтетического пути КоА играет главную роль в поддержании целостности синтеза ДНК, и нарушение этой функции приводит к формированию «нейродегенеративного фенотипа» во время развития ЦНС в эмбриогенезе (Bosveld F. et al., персональное сообщение).

В числе малоизвестных, но важных факторов редокс-сигналирования – цистамин, продукт гидролиза пантетина ферментом пантетиназой. Посредством механизма S-цистеаминилирования этот фрагмент КоА способен инактивировать протеинкиназу C-ε, γ-глутаминцистеинсинтетазу (фермент биосинтеза глутатиона) и трансглутаминазу. Однако еще более важны функциональные последствия модификаций в соотношении цистеамин (SH)/цистамин (SS), инициированные введением цистамина: нормализация воспалительного ответа у нокаутных по гену пантетиназы мышей и торможение развития модели нейродегенеративной патологии (типа болезни Хантингтона) [10]. Это открывает возможности изучения S-тиолирующих модификаций белков в клеточном сигналировании для таких физиологических и распространенных предшественников КоА как пантетин (пантетеин), 4'-фосфо-пантетин, дефосфо-КоА, биохимическая роль которых в клетке окончательно не выяснена, однако, несомненно, не исчерпывается функцией биосинтеза КоА. В целом, к настоящему времени можно считать окончательно установленным участие системы КоА в механизмах нейропротекции и нейродегенерации при воздействии активных форм кислорода и азота, а также в поддержании редокс-статуса системы глутатиона и белковых тиолов.

Реакции S-ацилирования, нитрозилирования, дисульфидообразования КоА-SH с низкомолекулярными соединениями и белковыми структурами в физиологических и патологических условиях приводят к ключевому событию в иерархии субстратных, регуляторных и сигнальных процессов – «секвестированию» свободного кофермента А, кратко- или долговременному выключению его из метаболизма. Восстановление нормального хода обмена веществ возможно путем как «десеквестирования» (деингибирования) компонентов биосинтеза КоА, так и активации самого процесса биосинтеза, например, на уровне пантотенаткиназы. В этом процессе важнейшая роль может принадлежать системе глутатиона, обладающего способностью растормаживания ключевого фермента биосинтеза КоА, подобно тому, как это наблюдается в рефлекторной деятельности нервных центров. В этом плане биохимические сигнальные пути и, прежде всего, редокс-сигналирование (опосредованные системами КоА, глутатиона и белковых тиолов) требуют самого внимательного рассмотрения.

Авторы благодарят чл.-корр. НАН Беларуси С. Н. Черенкевича и В. А. Кульничского, канд. биол. наук А. Г. Давыдовского, за дискуссию относительно окислительно-восстановительных процессов в клетках, механизмов антиоксидантной защиты и нейропротекции.

Настоящая работа подготовлена при поддержке БРФФИ (проект Б06Р-224).

Список литературы

1. Гурин, В. Н. // X съезд Белорусского общества физиологов: тезисы докл. / В. Н. Гурин. – Минск, 2001. – С. 41–42.
2. Мойсеенок А. Г. [и др.] // Актуальные вопросы молекулярной эволюции и биохимии: материалы: Республ. конф. – Минск, 2006. – С. 110–113.
3. Мойсеенок А. Г., Хомич Т. И., Резяпкин В. И. // Докл. АН СССР. – 1988. – Т. 300, № 2. – С. 485–487.
4. Мойсеенок А. Г. // Пантенол и другие производные пантотеновой кислоты: биохимия, фармакология и медицинское применение: материалы Межд. симп. – Гродно, 1998. – С. 123–130.
5. Гуляева Н. В. // Нейрохимия. – 1995. – Т. 12, № 3. – С. 63–66.
6. Hayflick S. J. // Curr. Opin. Pediatr. – 2003. – Vol. 15. – P. 572–577.
7. Roediger W. E. W. // Nitric Oxide Biol. Chem. – 2001. – Vol. 5. – P. 83–87.
8. Roediger W. E. W., Gibbons G. F. // J. Neurol. – 2005. – Vol. 252, № 11. – P. 1418–1419.
9. Мойсеенок А. Г. [и др.] // Укр. биохим. журн. – 2004. – Т. 76, № 4. – С. 68–81.
10. O'Brian C. A., Chu F. // Free Radical Research. – 2005. – Vol. 39, № 5. – P. 471–480.

ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЛАЗМЫ КРОВИ ДОНОРОВ И ЛИЦ С БРОНХО-ЛЕГОЧНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

*В. Н. Никандров¹, О. Н. Жук¹, Е. И. Вашкевич¹,
Н. С. Пыжова³, И. М. Лантева²*

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²НИИ пульмонологии и фтизиатрии Минздрава Республики
Беларусь, Минск, Беларусь

³НИИ эпидемиологии и микробиологии Минздрава Республики
Беларусь, Минск, Беларусь

Протеолиз – один из универсальных процессов живой природы, происходящий во всех организмах с той или иной степенью интенсивности. Протеолитические энзимы, обладающие высокой биологической активностью, представляют потенциальную опасность для большинства белковых структур тканей. Поэтому их активность в организме регулируется несколькими путями – пространственной разобщенностью энзима и субстрата, синтезом большинства протеиназ в форме неактивных предшественников, а также наличием специфических белков-ингибиторов, связывающих протеиназы, лишая их полностью или частично каталитической активности [1]. Важную роль в организме животных и человека играют химотрипсин, трипсин, эластаза, тромбин, плазмин, объединенные в группу (химо)трипсиноподобных протеиназ. В норме существует динамическое равновесие между трипсиноподобными протеиназами и их основными ингибиторами – α_1 -ингибитором протеиназы (α_1 -ИП) и α_2 -макроглобулином (α_2 -МГ), а дисбаланс между ними может привести к изменению гомеостаза и вызвать дезинтеграцию в разных функциональных звеньях. Избыточная активация ТпА, а также недостаточная ингибиторная активность плазмы крови являются важным патогенетическим звеном в развитии ряда деструктивных и воспалительных реакций организма, в том числе бронхо-легочных заболеваний, представляющих серьезную проблему для Республики Беларусь.

Материалы и методы. Объектом исследования явились образцы плазмы крови доноров и больных бронхо-легочными заболеваниями (хронической обструктивной болезнью легких – ХОБЛ,

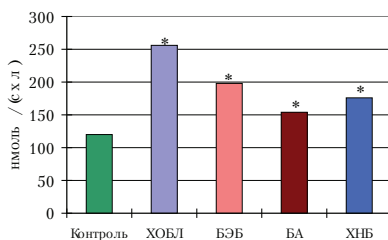
хроническим необструктивным бронхитом – ХНБ, бронхоэктатической болезнью – БЭБ и бронхиальной астмой – БА), в которых комплексным методом [2] определяли активности трипсиноподобных протеиназ (ТпА) и их ингибиторов – α_1 -ИП и α_2 -МГ, а также протеолитическую активность методом лизиса белков-субстратов в тонком слое агарового геля [3]. Полученные результаты обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики. Показатель достоверности определяли с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что по сравнению с плазмой крови, полученной от доноров (контроль), ТпА была повышена в плазме крови пациентов при всех исследуемых формах бронхо-легочной патологии. При хронической обструктивной болезни легких увеличение составило 112%; при хроническом необструктивном бронхите – 46,7%; при бронхоэктатической болезни – 65%; при бронхиальной астме – 27,5%; следовательно, наибольшая активность трипсиноподобных протеиназ характерна для ХОБЛ, наименьшая – для бронхиальной астмы (рис. 1).

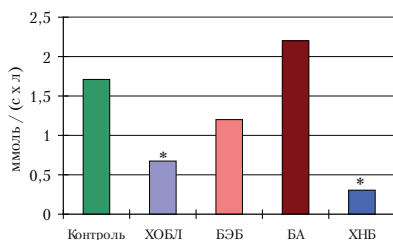
Что касается активности ингибиторов трипсиноподобных протеиназ, картина несколько иная (рис. 1). Наибольшее угнетение активности, как α_1 -ИП, так и α_2 -МГ, наблюдалось при ХНБ – на 83% и 49% соответственно. Снижение ингибиторной активности при ХОБЛ было менее выраженным и составило для α_1 -ИП 61% и α_2 -МГ 29%. Отмечена тенденция к уменьшению ингибиторной активности плазмы и при БЭБ – на 25-30%, однако изменения не были статистически достоверными. При БА α_1 -ИП-активность даже возрастала на 28%. Выявленные факты указывают на зависимость между ТпА и уровнем активности белков-ингибиторов, в силу которой при почти полном истощении активности α_1 -ингибитора протеиназ общая трипсиноподобная активность плазмы крови нарастает. Вместе с тем при ХНБ, когда наблюдается почти полное угнетение активности ингибиторов, повышение ТпА не является резко выраженным.

Полученные результаты свидетельствуют, что состояние исследуемых показателей может явиться определяющим при прогнозировании развития хронических заболеваний легких, особенно ХНБ. Однако эти факты также дают основание полагать, что на самом деле уровень протеолитической активности плазмы контролируется более сложным механизмом, чем уровень активности

ТпА



ИП



α_2 -МГ

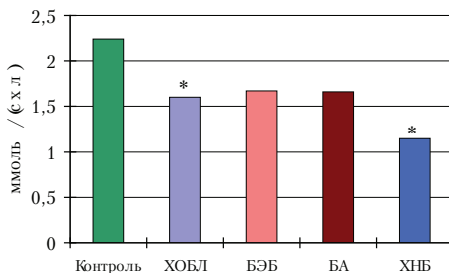


Рис. 1. Изменение активности ТпА, ИП и α_2 -МГ при разных формах легочной патологии.

*Звездочкой обозначены достоверные отличия от контроля

двух белков-ингибиторов. В силу этих обстоятельств целесообразным подходом является изучение в качестве своего рода интегрального показателя протеолитической активности плазмы крови по белковому субстрату, а также изменения ее при добавлении *in vitro* ионов Ca^{2+} и АТФ в качестве зондов.

Методом лизиса желатина в тонком слое агарового геля показаны отличия эффекта ионов Ca^{2+} и АТФ на желатинолитическую активность плазмы крови больных в сравнении с донорской.

Добавки Ca^{2+} (10^{-6} - 10^{-3} М) к плазме крови доноров позволили выявить изменение желатинолитической активности четырех типов: 1 (3 образца) – активность возрастала во всем диапазоне концентраций Ca^{2+} на 20–40%; 2 (6 образцов) – активность угнеталась при максимальной концентрации ионов на 60%; 3 (4 образца) – активность плазмы возрастала на 40% при более низких концентрациях ионов, но угнеталась на 20% при 10^{-3} М; 4 (2 образца) – желатинолитическая активность угнеталась на 20% в диапазоне концентраций Ca^{2+} 10^{-6} - 10^{-5} М, возросла на 40% при концентрации 10^{-4} М и угнеталась на 70% при максимальной концентрации (Рис.2). При исследовании плазмы крови больных бронхо-легочными заболеваниями ни в одном случае из 9 не наблюдали увеличения желатинолитической активности. Как правило, с увеличением концентрации Ca^{2+} она угнеталась. Однако прослеживалась зависимость трех видов: А (6 образцов) – активность угнеталась в диапазоне концентраций 10^{-5} - 10^{-3} М Ca^{2+} на 20–30%; В (2 образца) – угнетение наблюдалось на 20-45% во всем концентрационном диапазоне; С (1 образец) – желатинолитическая активность плазмы крови подавлялась на 22–33% в диапазоне концентраций 10^{-5} - 10^{-3} М, однако зависимость отличалась от типа А. Здесь следует отметить, что изменения типа 2 желатинолитической активности плазмы крови доноров напоминают таковые типа В больных. Этот аспект нуждается в дальнейшем изучении.

Что касается реакции желатинолитической активности плазмы крови на добавки АТФ, то в экспериментах с донорской плазмой наблюдали три типа зависимости: I – увеличение активности на 50% при концентрации АТФ 10^{-5} М и угнетение на 50% при максимальной концентрации нуклеотида; II – увеличение активности на 42–70% во всем концентрационном диапазоне; III – снижение активности на 30–50% при концентрации АТФ 10^{-4} - 10^{-3} М. Изменения же желатинолитической активности плазмы крови больных не превышали 10–30% во всем диапазоне концентраций нуклеотида.

Сопоставление характера влияния Ca^{2+} и АТФ на желатинолитическую активность плазмы крови доноров и больных бронхо-

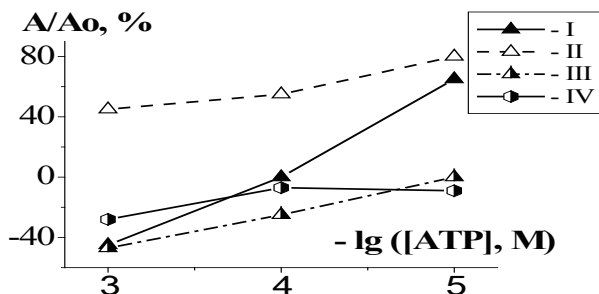
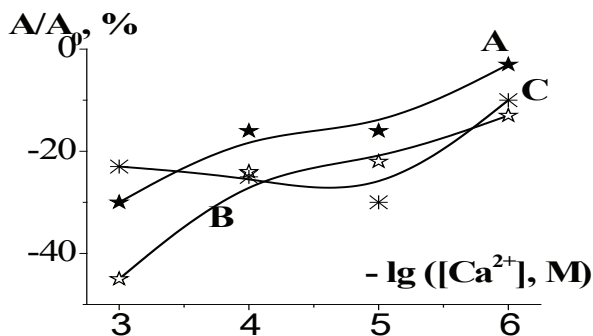
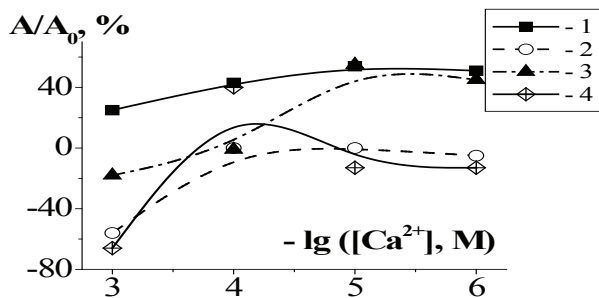


Рис. 2. Изменения желатинолитической активности плазмы крови при добавлении Ca^{2+} : доноров ($n=15$): типы 1, 2, 3, 4; пациентов ($n=9$) с бронхо-легочными заболеваниями: типы А, В, С или АТФ: доноров (типы I, II, III) и плазмы крови больных бронхо-легочными заболеваниями (IV)

легочными заболеваниями наводит на мысль либо о нескольких типах «организации» протеолиза у клинически здоровых людей, либо о наличии у части из них скрытых отклонений от нормы, не выявляемых при обычном лабораторном исследовании. Кроме того, картина влияния Ca^{2+} и АТФ на желатинолитическую активность плазмы крови демонстрирует сложность ее регуляции, которая, вместе с тем, не исчерпывается лишь участием двух упомянутых метаболитов.

Учитывая, что нарушения функционирования протеолитического звена вызывают или сопровождают развитие целого ряда патологических процессов, совершенствование ранней и дифференциальной диагностики заболеваний, обоснование рациональных приемов патогенетической терапии возможны только при условии раскрытия новых закономерностей регуляции протеолиза на молекулярном и клеточном уровне. В связи с этим исследование состояния протеолитической составляющей крови, в частности трипсиноподобных протеиназ и их ингибиторов, общей протеолитической активности крови больных бронхо-легочными заболеваниями несомненно может иметь как диагностическое, так и прогностическое значение.

Список литературы

1. *Веремеенко К. Н., Голобородько О. П., Кизим А. И.* Протеолиз в норме и при патологии. – Киев, 1988.
2. *Карягина И. Ю., Зарембский Р. А., Баябина М. Д.* // Лаб. дело. – 1990. – № 2. – С. 10-13.
3. *Никандров В. Н., Пыжова Н. С., Шапчиц Н. С.* // Докл. НАН Беларуси. 2007. – Т. 51, № 2. – С. 57–60.

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ НА NO-ЗАВИСИМЫЕ ПРОЦЕССЫ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ МОЛОДИ АМУРСКОГО ОСЕТРА *ACIPENCER SCHRENKI*

Е. В. Пуцина¹, С. С. Флейшман², С. С. Тимошин²

¹Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДО РАН,
Владивосток, Россия

²Центральная научно-исследовательская лаборатория
Дальневосточного государственного медицинского университета,
Хабаровск, Россия.

Аргининсодержащий аналог морфина, μ/δ -агонист опиатных рецепторов седатин стимулирует пролиферативные процессы в различных клеточных популяциях у позвоночных животных в широком диапазоне доз [7]. Таким же свойством обладает аргининсодержащий μ/δ -агонист опиатных рецепторов деларгин [7]. Структуры молекул деларгина и седатина различаются местооложением аргинина: у деларгина аргинин находится в С-положении, а у седатина – в N-положении. В ходе метаболизма молекула аргинина способна отщепляться от молекулы деларгина. Аргинин является одним из ключевых компонентов системы NO-систазы (NOS). Участие NOS в стимулировании процессов пролиферации в перивентрикулярной зоне спинного мозга ранее была показана у новорожденных мышей [5].

Цель работы – оценить влияние аргинина на способность седатина влиять на процессы синтеза ДНК в перивентрикулярной зоне, а также в некоторых ядрах головного мозга молоди амурского осетра *Acipenser schrenki*.

Материалы и методы. Эксперименты проводили на 60-дневной молоди амурского осетра *Acipenser schrenki* массой 10–20 г. Седатином (Н-Arg-Тур-D-Ala-Phe-Gly-ОН) и его безаргининовым аналогом (Н-Тур-D-Ala-Phe-Gly-ОН), синтезированными в научно-производственном объединении «Пептос», однократно обрабатывали оплодотворенную икру. Животные в контрольной группе были интактными. Активность синтеза ДНК в ядрах головного мозга идентифицировали с помощью иммуногистохимического маркирования ядерного антигена пролиферации (PCNA), а также импрегнации 50% раствором нитрата серебра. Для выявления локализации нитроксидергических нейронов и волокон использовали метод иммунопероксидазного маркирования нейрональной

NO-синтазы. В работе использовали первичные поликлональные кроличьи антитела против nNOS (ICN, USA), вторичные биотинилированные антитела козы против иммуноглобулинов кролика (ICN), а также набор стандартного ABC- комплекса (Vectastain Elite ABC kit, Vector Labs). Для статистической обработки данных использовали морфометрическую систему анализа видеозображения Mecos.

Результаты и обсуждение. В норме у 60-дневной молодежи осетровых наблюдается активная пролиферация клеток в перивентрикулярной области мозга, сопровождающаяся интенсивным маркированием на PCNA [6]. Эта область головного мозга у осетра является зоной первичной пролиферации. Пролиферирующие клетки также были обнаружены в областях, удаленных от перивентрикулярной – так называемых зонах вторичного нейрогенеза [6].

Результаты исследований показывают, что после обработки седатином и его безаргининовым аналогом в большинстве областей головного мозга молодежи осетра выявлена выраженная стимуляция процессов синтеза ДНК (таблица). Причем во всех исследованных областях безаргининовый аналог седатина оказывает меньший по сравнению с седатином стимулирующий эффект. Маркирование нейрональной синтазы окиси азота также показало увеличение числа нитроксидергических нейронов при воздействии седатином, и отсутствие подобного эффекта при воздействии безаргининовым аналогом седатина. Среди исследованных нами показателей наибольшие изменения связаны с увеличением площади ядра, суммарной площади ядрышек, а также ядрышково-ядерного отношения. В зоне первичной пролиферации (вентрикулярная и перивентрикулярная области) это выражено в меньшей степени, чем в VII, IX, X ядрах черепно-мозговых нервов, ретикуло-спинальных нейронах ствола и октаво-латеральных ядрах, а также гипоталамусе, тектуме, заслонке мозжечка и области сосудистого сплетения IV желудочка – *area postrema*. Безаргининовый аналог седатина во всех случаях оказывал менее выраженное воздействие на увеличение внутриклеточных параметров, связанных с синтезом ДНК. Результаты исследований на млекопитающих показали, выраженную стимуляцию процессов синтеза ДНК при введении седатина в железистый пищеварительного тракта и отсутствие таковой при воздействии безаргининовым аналогом [7]. Результаты исследований на млекопитающих и молодежи лососевых рыб с блокадой системы

**Влияние седатина и седатина-аргинина
на морфологию клеток мозга отдельных структур мозга
молоди амурского осетра**

Область мозга	Показатели	Контроль	Седатин	Седатин-аргинин
Ядро лицевого нерва (доля VII)	Площадь ядра, мкм ²	21,44±2,44	33,65±2,06*	32,43±2,65*
	Суммарная площадь ядрышек мкм ²	1,11±0,09	2,78±0,12*	2,69±0,22*
	Число ядрышек	1,50±0,25	1,86±0,12	1,75±0,13
	Ядрышково-ядерное отношение	0,073±0,005	0,083±0,017	0,083±0,012
Ядро блуждающего Нерва (доля X)	Площадь ядра	22,19±1,49	29,53±1,67*	26,94±2,63
	Суммарная площадь ядрышек	1,52±0,14	2,91±0,16*	2,98±0,12*
	Число ядрышек	1,76±0,12	1,73±0,14	1,83±0,15
	Ядрышково-ядерное отношение	0,068±0,005	0,099±0,007*	0,111±0,008*
Октаво-латераль-ные Ядра (Доля VIII)	Площадь ядра	23,24±0,92	25,28±1,24	25,03±1,32
	Суммарная площадь ядрышек	1,69±0,08	2,18±0,11*	2,05±0,10*
	Число ядрышек	1,55±0,10	1,53±0,12	1,73±0,16
	Ядрышково-ядерное отношение	0,073±0,006	0,081±0,007	0,082±0,007
Дно IV желудочка (Area postrema)	Площадь ядра	24,21±1,18	29,54±1,23*	25,27±
	Суммарная площадь ядрышек	1,33±0,08	1,97±0,09*	1,45±0,05
	Число ядрышек	1,88±0,07	2,21±0,15	2,15±0,12
	Ядрышково-ядерное отношение	0,055±0,005	0,067±0,006	0,060±0,006

Ретикуло-спинальные нейроны (медиальная ретикулярная формация ствола продолговатого мозга)	Площадь ядра	20,45±1,15	28,65±1,27*	27,82±1,16*
	Суммарная площадь ядрышек	1,28±0,08	2,35±0,12*	2,05±0,10*
	Число ядрышек	1,62±0,08	1,51±0,07	1,61±0,08
	Ядрышково-ядерное отношение	0,062±0,005	0,082±0,004*	0,074±0,006
Мозжечок (область заслонки)	Площадь ядра	16,79±0,82	17,02±0,93	16,52±0,89
	Суммарная площадь ядрышек	1,35±0,08	1,89±0,07*	1,59±0,09
	Число ядрышек	1,61±0,08	1,71±0,07	1,69±0,09
	Ядрышково-ядерное отношение	0,080±0,004	0,103±0,005*	0,096±0,08
Крыша среднего мозга (зрительный тектум)	Площадь ядра	18,04±0,78	24,77±1,25*	21,98±1,74
	Суммарная площадь ядрышек	1,60±0,07	1,95±0,07*	1,76±0,08
	Число ядрышек	1,90±0,10	1,95±0,11	1,80±0,09
	Ядрышково-ядерное отношение	0,089±0,006	0,080±0,007	0,081±0,007
Гипоталамус	Площадь ядра	18,11±0,78	26,45±1,06*	21,83±0,96
	Суммарная площадь ядрышек	1,72±0,08	2,23±0,11*	1,85±0,09
	Число ядрышек	1,74±0,09	1,90±0,11	1,80±0,09
	Ядрышково-ядерное отношение	0,095±0,007	0,085±0,006	0,085±0,007

Перивентрикулярная область (прилежит к просвету мозгового желудочка)	Площадь ядра	20,15±1,27	19,38±1,42	20,14±1,41
	Суммарная площадь ядрышек	1,42±0,07	1,66±0,12	1,58±0,09
	Число ядрышек	1,85±0,09	2,03±0,13	2,04±0,15
	Ядрышково-ядерное отношение	0,070±0,004	0,086±0,008	0,078±0,007
Субвентрикулярная область (расположена за перивентрикулярной областью вглубь мозга)	Площадь ядра	20,06±1,82	24,99±1,85	23,27±2,03
	Суммарная площадь ядрышек	1,94±0,08	1,99±0,09	1,89±0,12
	Число ядрышек	1,76±0,08	1,63±0,07	1,81±0,06
	Ядрышково-ядерное отношение	0,097±0,006	0,081±0,008	0,081±0,007

NO-NOS с помощью L-NAME указывают на необходимость присутствия аргинина для реализации митогенетического эффекта. Увеличение продукции ДНК в ядрах черепно-мозговых нервов, area postrema и РСК после обработки седатином, возможно свидетельствует об интенсификации пластических процессов в проекционных нейронах, лежащих в основе нейрональной пластичности. Результаты исследований на костистых рыбах показали, что в нейронах ЦНС оксид азота участвует в различных функциональных механизмах, связанных с регенерацией, дифференцировкой, ноцицепцией, кластерных коммуникациях между нейронами и глиальными клетками, нейроморфогенезом, нейротрансмиссией и клеточным метаболизмом. У низших позвоночных, в частности у осетровых рыб, оксиду азота отводится особая роль в процессе мифогенеза ЦНС, поскольку пролиферативные процессы в матричных зонах мозга не ограничиваются эмбриональным периодом развития, а продолжают и на постэмбриональных стадиях развития [6]. У молоди осетров pNOS локализована в клетках эпандимы, а также в проекционных областях сомато- и висцеросенсорных нервов продолговатого мозга, реткулоспинальных клетках, интегративных сенсорных (тектум) и моторных (мозжечок) системах, а также гипоталамусе.

У разных видов, nNOS либо сходные изоформы энзимов выступают в качестве основных источников NO-опосредованных реакций, в частности при нейрогенезе и нейрональной пластичности [4]. Показано, что в ранний постнатальный период, процессы развития продолжают в эндимитальных клетках третьего желудочка крыс [2], центрального канала мыши [5] и латерального желудочка кролика [1]. Методом двойного маркирования нейрональной NOS и бромдезоксигуанидина показано, что в субвентрикулярной зоне мозга взрослых мышей расположены пролиферирующие клетки, содержащие оксид азота [3]. После обработки седатином в субвентрикулярной области мозга молодых осетров также было выявлено значительное увеличение объемов ядер клеток. Найденная в эндимитоцитах молодых осетров маркированная nNOS показывает, что активность nNOS коррелирует с морфогенезом мозгового желудочка.

Таким образом, результаты настоящего исследования позволяют предположить, что воздействие седатином на различные области головного мозга молодых осетров сопровождается интенсификацией нейрогенеза и/или пластического метаболизма в различных областях головного мозга, тогда как безаргининовый аналог седатина практически не оказывает подобных эффектов.

Список литературы

1. Флейшман М. Ю. [и др.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2007. – Т. 144, № 9. – С. 282–284.
2. Sturrock R. R. // J. Anat. – 1981. – Vol. 132. – P. 119–136.
3. Пуццина Е. В., Флейшман М. Ю., Тимошин С. С. // Онтогенез. – 2007. – Т. 38, № 5. – С. 345–354.
4. Puenova N., Scheinker V., Cline H., Enikolopov G. // J. Neurosci. – 2001. – Vol. 21. – P. 8809–8818.
5. Bruni J.E. // Microsc. Res. Tech. 1998. Vol. 41. P. 2-13.
6. Abbate F., Laura R., Muglia U., Bronzetti P. // Anat. Histol. Embriol. – 1993. – Vol. 22. P. 348-254.
7. Moreno-Lopez B., Noval J. A., Gonzalez-Bonet L. G., Estrada C. // Brain Res. – 2000. – Vol. 869. – P. 244–250.

ВЛИЯНИЕ АДЕНОЗИНМОНОСФАТОВ И УРИДИНДИ- ФОСФАТА НА РАСЩЕПЛЕНИЕ БЕЛКОВ ПРОТЕИНАЗАМИ

Н. С. Пыжова², В. Н. Никандров¹

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²НИИ эпидемиологии и микробиологии Минздрава Республики
Беларусь, Минск, Беларусь

Регуляция физиологических и биохимических процессов пуриновыми и пиримидиновыми нуклеотидами играет важную роль практически во всех живых организмах. Однако эта область физико-химической биологии и медицины остается все еще недостаточно изученной.

В 1987 г. обнаружено специфическое подавление плазминоген-активаторной функции стрептокиназы АТР и 3',5'-АМР: процесс угнетался на 50% при концентрации нуклеотидов, приближающейся к 0,1М [1]. Другие нуклеотиды – АDР, АМР, 2',3'-АМР, GТР, UТР, СТР эффекта не дали. Фибринолитическая протеиназа гриба *Arthrobothrys longa* – “лонголитин” на 75% угнеталась в присутствии 0,01М АТР [2]. Это также достаточно высокая концентрация АТР. Однако дальнейшие исследования плазминогенактиваторной способности β- и γ-субъединиц фактора роста нервов показали, что эффективная концентрация нуклеотида – в пределах 0,0001М [3]. Причем, β-субъединица чувствительнее γ-субъединицы. Эти результаты вылились в описание феномена АТР-ингибируемых реакций протеолиза [4; 5]. В дальнейшем при исследовании расщепления различных белков субстратов сериновыми (трипсином, химотрипсином, субтилизином), цистеиновой – папаином и аспартильной – пепсином протеиназами, а также металлопротеиназой бацилл нами было также показано, что активируемый АТР и неопосредованный кварцетином протеолиз распространен шире, чем считали [6].

Цель настоящего исследования – раскрыть особенности действия аденозинмонофосфатов и уридиндифосфата на расщепление белкового субстрата различными протеиназами.

Материалы и методы. В работе использованы образцы трипсина (КФ 3.4.21.4), α-химотрипсина (КФ 3.4.21.1), пепсина (КФ 3.4.23.1) фирмы «Sigma» (США), папаина (КФ 3.4.22.2), кумасси голубой G-250, АМР, 3',5'- АМР, 2',3'- АМР, UDP фирмы «Fluka» Швейцария, субтилизина *B. subtilis* (КФ 3.4.21.62), металлопро-

теиназы *V. subtilis* (КФ 3.4.24.4) фирмы «Диагностикум», Москва, бактоагар типа «Difco» («Ferak», Германия); желатин («Serva», Германия).

Другие реактивы квалификации «хч» или «чда» были производства стран СНГ, их использовали после соответствующей дополнительной очистки.

Протеолитическую активность определяли по лизису желатина в тонком слое агар-агара как описано ранее [6]. Концентрация белков составляла 10 г/л, агар-агара – 10 г/л. В качестве растворителя для приготовления белково-агаровых пластин использовали 0,05 М трис-НСl буфер рН 7,4 с добавкой нуклеотидов соответствующей концентрации. В качестве растворителя при работе с пепсином использовали 0,2 М ацетатный буфер рН 1,47, при работе с остальными протеиназами и активаторами – 0,05 М трис-НСl буфер рН 7,4. Пластины с нанесенными пробами (10 мкл) инкубировали при 37°C в течение 20 ч. Зоны лизиса визуализировали обработкой белок-агаровых пластин 1 н трихлоруксусной кислотой.

Содержание белка в растворах оценивали по оптическому поглощению при 280 нм, используя соответствующие значения $A_{\text{см}}^{\%}$, приведенные в предыдущей статье [6], а также колориметрическим методом с кумасси G-250 [7].

Все исследования выполнены не менее чем четырехкратно, результаты обработаны статистически с вычислением *t*-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Судя по полученным данным, расщепление желатина трипсином было мало чувствительным к аденозинмонофосфатам: лишь в максимальной концентрации АМР желатинолитическая активность его увеличивалась на 25% (рис.).

В этой же концентрации UDP стимулировал расщепление данного белка трипсином на 35 % (здесь и далее по тексту приведены лишь статистически достоверные ($P \leq 0,05$) изменения). В отличие от трипсина расщепление желатина α -химотрипсином было более чувствительно к добавкам именно циклических АМР и UDP. Так, в концентрации 10^{-6} – 10^{-5} М 3',5'- АМР способствовал увеличению желатинолитической активности химотрипсина на 25–55%, тогда как добавки этого нуклеотида в максимальной концентрации снижали активность на 25%. Действие 2',3'- АМР носило еще более сложный характер: в концентрации 10^{-7} – 10^{-5} М нуклеотид вызвал снижение желатинолитической активности химотрипсина на 25%.

В концентрации 10^{-3} М наблюдалось усиление желатинолиза химотрипсином на 27%, а при максимальной концентрации нуклеотида процесс угнетался на 57%. Добавки UDP во всем концентрационном диапазоне обусловили увеличение интенсивности расщепления желатина этой протеиназой на 22–38%.

Желатинолитическая активность субтилизина на 20–30% угнеталась 5-АМР в диапазоне концентраций 10^{-5} – 10^{-3} М. Добавки 3',5'- АМР, в целом, вызвали интенсификацию расщепления желатина субтилизином на 25–30% за исключением концентрационного диапазона 10^{-6} – 10^{-5} М. Усиление же расщепления желатина этой протеиназой в присутствии 2',3'- АМР наблюдалось в диапазоне концентраций нуклеотида 10^{-5} – 10^{-2} М с максимумом при 10^{-4} М – на 60%. К добавкам UDP данная протеиназа была индифферентна. Действие АМР на желатинолитическую активность папаина также было достаточно слабым: в концентрациях 10^{-7} и 10^{-3} М добавки нуклеотида усиливали расщепление белка на 22 и 25% соответственно, а в концентрации 10^{-5} М угнетали процесс на 25%

Циклические нуклеотиды влияли еще меньше – лишь в максимальной концентрации 3',5'- АМР (но не 2',3'- АМР) подавлял расщепление желатина папаином на 25%. Слабый эффект наблюдался и при добавках UDP. Лишь в концентрации 10^{-3} М данный нуклеотид повышал желатинолитическую активность папаина на 25%.

С нарастанием концентрации 5-АМР угнетал желатинолитическую активность пепсина практически линейно, особенно заметно при концентрациях 10^{-3} М и 10^{-2} М – на 30% и 60% соответственно. Добавки его в концентрации 10^{-5} – 10^{-3} М подавляли лизис белка на 20–30 %. Расщепление желатина пепсином оказалось индифферентным к 3',5'- АМР. Вместе с тем второй циклический нуклеотид, начиная с концентрации 10^{-5} М, угнетал процесс линейно, при максимальной концентрации – на 60%. Эффект UDP был слабым и не превышал 20%.

Желатинолитическая активность металлопротеиназы при добавках любого из трех аденозинмононуклеотидов изменялась на 20–32 %, причем в диапазоне концентраций 10^{-4} – 10^{-2} М. Если АМР вызвал угнетение ее, то циклические нуклеотиды – усиление. К добавкам UDP данная протеиназа была индифферентна.

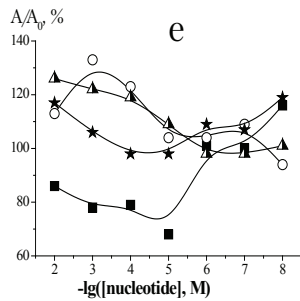
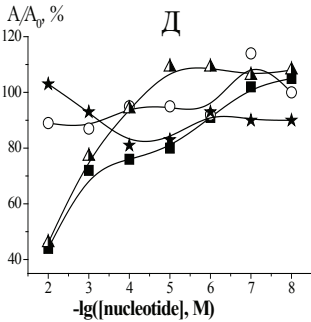
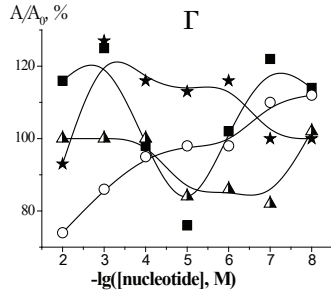
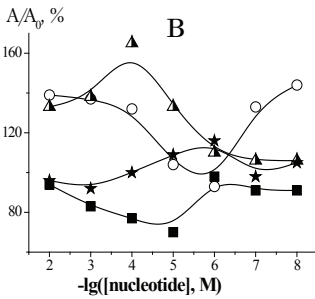
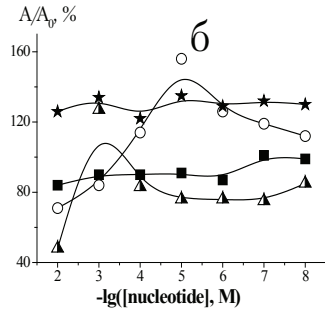
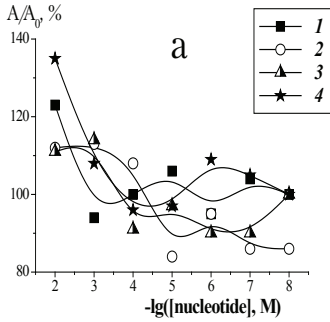


Рис. Изменения расщепления (% к контролю) желатина в тонком слое агарового геля трипсином (а), α -химотрипсином (б), субтилизином (в), папаином (г), пепсином (д) и металлопротеиназой бацилл (д) при добавках AMP (1), 3',5'-AMP (2), 2',3'-AMP (3), UDP (4); n = 5

Желатинолитическая активность металлопротеиназы при добавках любого из трех аденозинмононуклеотидов изменялась на 20–32 %, причем в диапазоне концентраций 10^{-4} – 10^{-2} М. Если АМР вызвал угнетение ее, то циклические нуклеотиды – усиление. К добавкам UDP данная протеиназа была индифферентна.

Полученные материалы свидетельствуют о довольно слабом влиянии исследуемых нуклеотидов на расщепление желатина протеиназами. Эффект АТР был, более силен, но и он проявлялся при максимальной концентрации нуклеотида [6]. Почти такая же картина, за исключением химотрипсина отмечена и для действия ГТР. В ряде моментов на желатинолитическую активность трипсина и химотрипсина существенное влияние оказали добавки GDP. Однако желатин, в целом, не являлся субстратом на котором эффекты нуклеозидфосфатов были выраженными. Как мы уже отмечали, сила эффекта зависит от белка субстрата [5,6]. Поэтому сила выявленных в настоящем исследовании изменений активности протеиназ при воздействии аденозинмонофосфатов и UDP может существенно возрастать при расщеплении иных белков субстратов. Более того, биохимическая ситуация в клетках и тканях значительно сложнее, чем в данном модельном эксперименте, поэтому выявленные эффекты не могут быть оставлены без внимания.

Список литературы

1. Никандров В. Н., Пыжова Н. С., Вотяков В. И. // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1987. – Т. 103, № 7. – С. 49–51.
2. Цыманович С. Г., Никандров В. Н., Максимова Р. А. и др. // Вопр. мед. химии. – 1992. – Т. 38, № 3. – С. 44–45.
3. Никандров В. Н., Пыжова Н. С. // Проблемы медицинской энзимологии: труды всерос. конф. – М., 2002. – С. 163–164.
4. Никандров В. Н., Пыжова Н. С. // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем / Сб. статей. – Минск, 2004. – Ч. I. – С. 236–238.
5. Nikandrov V. N., Pyzhova N. S. // Cell. Mol. Biol. – 2006. – Vol. 52, № 4. – P. 30–39.
6. Пыжова Н. С., Никандров В. Н. // Биоорган. химия. – 2008. – Т. 34, № 3. – С. 382–391.
7. Bradford M. M. // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 72. – P. 248–254.

ANTICONVULSIVE ACTIVITY OF ETHANOL ON HOMOCYSTEINE-INDUCED SEIZURES IN RATS

*A. Rašić-Marković, D. Hrnčić, H. Lončar-Stevanović,
O. Stanojlović, D. Djuric*

Laboratory of Neurophysiology, Institute of Medical Physiology,
School of Medicine, University of Belgrade, Serbia

Homocysteine is a sulphur – containing amino acid normally present in human plasma and its concentration ranges from 1 to 15 $\mu\text{mol/L}$. Deficiencies of either cystathionine β -synthase or methylene tetrahydrofolate reductase can result in homocysteinuria and very severe hyperhomocysteinemia with plasma homocysteine concentrations up to 200 $\mu\text{mol/L}$. Patients with severe hyperhomocysteinemia exhibit a wide range of clinical manifestations including neurological abnormalities such as mental retardation, cerebral atrophy, and seizures [1]. Numerous epidemiological studies have shown that hyperhomocysteinemia is related to coronary and cerebrovascular diseases [2]. It is not known whether neurological damage in these patients results from a direct action on neurons or is secondary to vascular changes [3].

Homocysteine is as one of the most potent excitatory agent of the central nervous system. Previous studies suggest that increased homocysteine levels may be related to epileptogenesis and/or suboptimal control of seizures in the patients with epilepsy [4,5]. Systemic administration of homocysteine or homocysteic acid can trigger seizures in animals [6] and patients which homocystinuria suffer from epileptic seizures [7]. Homocysteine induces activation of both ionotropic [8] and group I metabotropic glutamate receptors (mGLURs) [9]. Homocysteine is as an excitatory amino acid and leads to an increase in glutamatergic neurotransmission and accompanying neurotoxicity and excitotoxicity.

The effects of ethanol on brain electrical activity are complex, and its effects are dependent on dose, tolerance and other factors. [10].

Chronic ethanol consumption has long been considered a major risk factor for epilepsy [11]. Most frequently, seizures occur during the withdrawal period [12]. On the other hand, acute intake of ethanol has an inhibitory effect on central nervous system and increase the threshold for its epileptic activity. [13]. There is growing evidence that chronic alcoholism is associated with derangement of the sulfur amino acid metabolism and increased plasma levels of homocysteine

[14]. Ethanol may have either proconvulsive or anticonvulsive effects on epileptic activity in different experimental models of epilepsy [15]. Ethanol exerts its behavioral effects largely by inhibiting N-methyl-D-aspartate (NMDA), mGluRs and L-type Ca^{2+} channels [16,17] while it stimulates γ -aminobutyric acid type A receptor (GABA_A) [18].

The aim of this experiment was to examine the influence of ethanol on behavioral and EEG characteristics of homocysteine – induced epilepsy in rats.

Materials and methods. Adult (2-months-old) male Wistar rats, weighing 180-230 g, obtained from the Military Medical Academy Breeding Laboratories, Belgrade, were used in experiments. The animals were kept under controlled environmental conditions during the experiments (ambient temperature $21 \pm 1^\circ\text{C}$, 50% humidity and a 12 h light-dark cycle with lights switched on at 09:00 h). Rats were housed individually in transparent plastic cages (55 x 35 x 15 cm) with free access to standard laboratory animal chow and tap water.

All experimental procedures were in full compliance with The European Council Directive (86/609/EEC) and approved by The Ethical Committee of the University of Belgrade (298/5-2).

For the EEG recordings, rats were anaesthetized with nembuthal (100 mg/kg, i.p.), positioned in a stereotaxic apparatus and three gold-plated recording electrodes were implanted over the frontal, parietal, and occipital cortices. Recovery period of 7 days after surgery was allowed.

Animals were divided into following groups: 1. Control (C, 0.9% NaCl, n = 8), 2. Homocysteine (H, D,L – homocysteine thiolactone 8 mmol/kg, n = 7), 3 Ethanol (E, 2 g/kg, n = 8) and 4. Ethanol + homocysteine (EH, ethanol 2 g/kg 30 min prior to D, L – homocysteine thiolactone 8 mmol/kg, n = 8). All the substances were applied intraperitoneally (i.p.). Each rat was used only once. D,L-homocysteine thiolactone (Sigma-Aldrich Chemical Co., U.S.A.) was dissolved in saline and after adjusting the pH to 7.0 was administered in a volume of 1 ml/100 g body weight.

During 90 min after homocysteine administration, seizure behavior was assessed by incidence of seizures, number of seizure episodes per rat and its intensity determined by a modified descriptive rating scale with grades defined as follow: 1 – head nodding, lower jaw twitching; 2 – myoclonic body jerks /hot plate reaction/, bilateral forelimb clonus with full rearing /Kangaroo position/; 3 – progression to generalized

clonic convulsions followed by tonic extension of fore- and hind limbs and tail; 4 – prolonged severe tonic-clonic convulsions lasting for more than 10 sec (status epilepticus) or frequent repeated episodes of clonic convulsions for an extended period of time (> 5 min). In addition, latency to seizure, defined as a time from homocysteine injection to the first seizure response, was also recorded. For rats without seizures 90 min latency time was scored. Lethality was recorded after 90 min and 24 h after homocysteine administration.

EEG activity was recorded during experiments. An EEG apparatus (RIZ, Zagreb, Croatia) with a modified output enabling transfer of output signals to the input circuit of an 8-channel, 12-byte analogue to digital card (PCL-711B; Advantech Co.Ltd., Taiwan, ROC) installed into a computer and the corresponding software (Neurophysiology LaBG – EEG) were used. Frequency range was defined by the time constant (0.3 sec, lower and upper limit frequencies of 0.5 and 100 Hz, respectively) and digitized at a sample rate of 512 Hz.

Significance of the differences between groups in the incidence of seizures and lethality was evaluated using Fisher's exact probability test. Since the normal distribution of the data on seizure latency, number and intensity of seizure episodes has not been estimated by Kolmogorov-Smirnov test, therefore the non-parametric analyses (Kruskal-Wallis ANOVA and Mann Whitney U-test) were used to determine the statistical significance of the differences between the groups (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$). These data were expressed as medians with 25th and 75th percentiles.

Results and discussion.

Seizure behavior. No behavioral signs of seizure activity were observed in C and E groups. Seizure incidence in H group was 100% (7/7) and in EH 62.5% (5/8) ($p > 0.05$, Fig 1).

Median latency to the first seizure episode in EH group [69 (48-90) min] was significantly longer comparing to H group [28 (21-39) min] ($p < 0.01$, Fig 2). Median number of seizure episodes per rat in EH group was 4 (1-5) and 2 (0-4) in H group ($p > 0.05$, Fig 3).

In EH group the majority of seizure episodes (60 %) were scored with grade 1, while in H group 36% of the seizure episodes were scored with grade 2 and 20% with grade 4 (Figs 4 and 5).

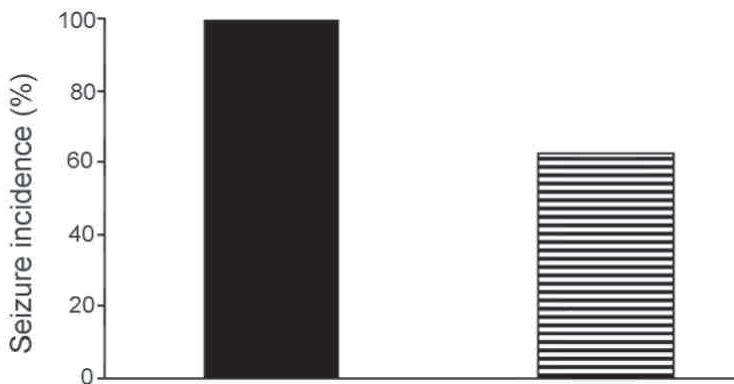


Fig 1. Seizure incidence in homocysteine (H, D,L – homocysteine thiolactone 8 mmol/kg, n = 7) and ethanol + homocysteine (EH, ethanol 2 g/kg 30 min prior to D, L – homocysteine thiolactone 8 mmol/kg, n = 8) group. Significance of the differences between the groups was analyzed by Fisher's exact probability test

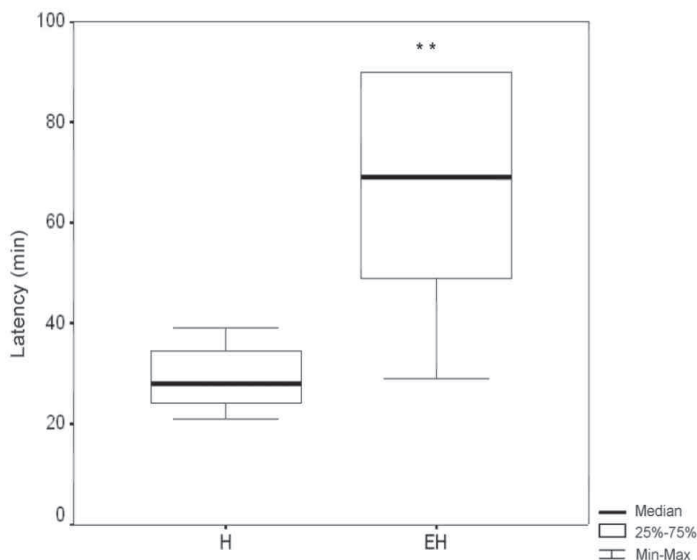


Fig 2. Seizure latency (time from homocysteine administration to the first seizure episode) in experimental groups. Significance of the differences between the groups was estimated by Kruskal-Wallis ANOVA and Mann Whitney U test (** p < 0.01). For details, see caption to Fig 1

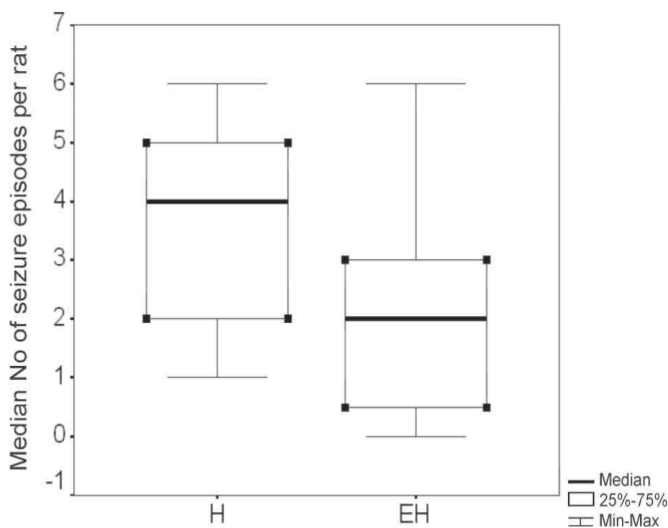


Fig 3. Number of seizure episodes per rat in experimental groups. Significance of the differences between the groups was analyzed by Kruskal-Wallis ANOVA and Mann Whitney U test (** p < 0.01)

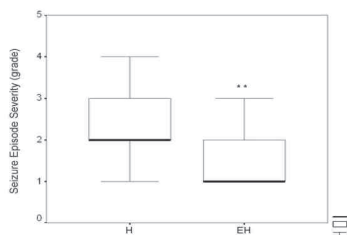


Fig 4. Intensity of seizure episodes in experimental groups. Seizure episode intensity was assessed by descriptive rating scale with defined grades 1-4. Significance of the differences between the groups was estimated by Kruskal-Wallis ANOVA and Mann Whitney U test (**p<0.01). For details, see caption to Fig 1

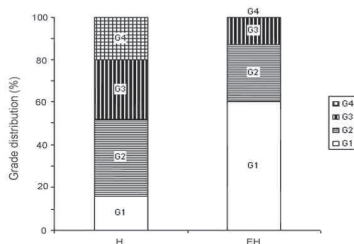


Fig 5. Seizure episode intensity grade distribution in experimental groups. For details see caption to Fig 1 and 3

Lethality after 90 min in EH group was 0% and it was different, but not statistically comparing to H group (42.85%, $p > 0.05$). Lethality after 24h in EH group was 87.5% and 85.7% in H group ($p > 0.05$, Fig 6).

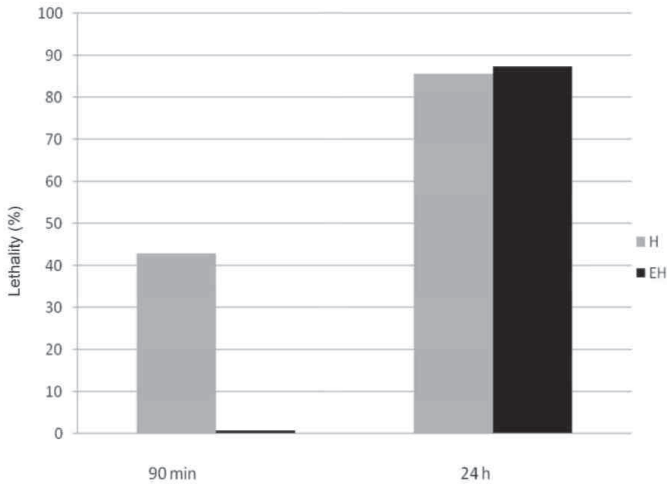


Fig 6. Lethality in experimental groups recorded 90 min and 24h after homocysteine administration. Lethality – number of exited rats out of a total number of rats expressed in percentage. For details, see caption to Fig 1. Significance of the differences between the groups was analyzed by Fisher's exact probability test

EEG analysis. There were no signs of epileptiform activity in EEG recorded in rats from C and E groups. Ethanol administration led to wave synchronization, decreased frequency and increased wave amplitude in EEG.

In EEG of rats from H and EH groups, isolated spikes and spike – wave complexes were registered. Generalized bursts of synchronous high – voltage spikes in EEG (Fig 7) were accompanied with behavioral seizures of maximal intensity (grades 3 and 4). However, EEG signs of epileptiform activity were not always accompanied with expected behavioral manifestations. Applied dose of ethanol did not suppress ictal activity induced by homocysteine.

In the present study, we investigated the effects of ethanol on behavioral and EEG characteristics of homocysteine-induced epilepsy in rats. Our results presented here demonstrated that ethanol decreased the incidence and the number of convulsive episodes in homocysteine induced epilepsy, but not significantly. Ethanol administration

significantly increases latency to the first convulsive episode and decreases the intensity of convulsive episodes in EH group, in comparison with H group.

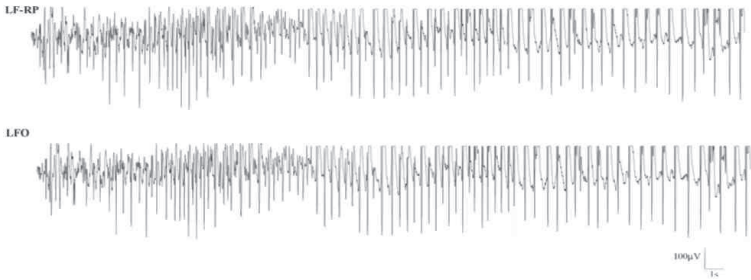


Fig 7. EEG tracings recorded in rat from EH group. LF – RP – left frontal – right parietal LFO – left frontal – occipital cortex Time calibration 1s. Amplitude calibration 100 μ V

Ethanol administration 30 min prior to homocysteine decreases lethality after 90 min, but not significantly, and does not affect lethality after 24 h. These results implicate the inhibitory effect of ethanol, which decreases hyperexcitability induced by homocysteine.

The brain may be particularly vulnerable to high blood levels of homocysteine because it lacks two major metabolic pathways for its elimination: betaine remethylation and transsulfuration [7]. The exact mechanism underlying neurotoxic effect of homocysteine is still far from being completely understood. There are several possible mechanisms whereby homocysteine damages and kills neurons. The various deleterious manifestations of hyperhomocysteinemia are due to overstimulation of NMDA and group I mGLURs receptors, oxidative stress, DNA damage and triggering of apoptosis. Clinical investigations and animal experiments have shown that there is a marked correlation between the occurrence of hyperhomocysteinemia and alcoholism. Plasma homocysteine concentration is dependent on the type of alcoholic beverage, the amount of alcohol consumed and the blood ethanol concentration [19]. Anticonvulsant effect of acute ethanol administration may be attributed to its ability to inhibit NMDA, non-NMDA-mediated excitatory responses and voltage-gated Ca^{2+} channels [20].

We have previously verified in our laboratory that 30 min after i.p. injection of 2 g/kg of ethanol, the plasma ethanol concentration was 28.99 ± 4.91 mmol/L (20). Our results corroborate with data from other studies showing that ethanol in concentrations between 5-50 mmol

have an inhibitory action on NMDA responses [21]. On the other hand, Lovinger et al. [21] found that responses to kainite and quisqualate were affected only slightly by these concentrations. Little et al [22] have reported that doses of ethanol as low as 0.125-0.250 g/kg can induce both behavioral and electrophysiological changes. Doses of ethanol that caused depression of activity, increased synchronisation of the EEG, decreased frequency and increased mean voltage. In humans, 1g/kg ethanol increased EEG power in the theta and beta bands [23], but in rats, 0.75 g/kg ethanol decreased EEG power over all frequencies [24].

Our results show that ethanol in dose 2 g/kg act as an anticonvulsive but not as an antiepileptic agent on homocysteine-induced seizures in rats.

Acknowledgement. -This work was supported by the Ministry of Science, Technology and Environment Protection of Serbia (Grants #145029B and #145014B).

References

1. Van den Berg M., van der Knaap M. S., Boers G. H. et al. // *Neuroradiology.* – 1995. – Vol. 37. – P. 403–411.
2. Djuric D., Jakovljevic V., Rasic-Markovic A. et al. // *Indian J. Chest Dis. Allied Sci.* – 2008. – Vol. 50. – P. 39–48.
3. Kruman I. I., Culmsee C., Chan S.L. et al. // *J. Neurosci.* – 2000. – Vol. 20. – P. 6920–6926.
4. Mudd S. H., Skovby F., Levy H.L. et al. // *Am. J. Hum. Genet.* – 1985. – 37. – P. 1–31.
5. Schwarz S., Zhou G. Z. // *Lancet.* – 1991. – Vol. 337. – P. 1226–1227.
6. Folbergová J., Haugvicová R., Mareš P. // *Exp. Neurol.* 2000. – Vol. 161. – P. 336–345.
7. Sachdev P. S. // *Biol. Psychiatry.* – 2005. – Vol. 29. – P. 1152–1161.
8. Lipton S. A., Kim W. K., Choi Y. B. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1997. – Vol. 94. – P. 5923–5928.
9. Lazarewicz J. W., Ziembowicz A., Matyja E. et al. // *Neurochem. Res.* – 2003. – Vol. 28. – P. 259–269.
10. Gordon E., Devinsky O. // *Epilepsia.* – 2001. – Vol. 42. – P. 1266–1272.
11. Chan A. W. // *Epilepsia.* – 1985. – Vol. 26. – P. 323–333.
12. Hillbom M., Pieninkeroinen I., Leone M. // *CNS Drugs.* – 2003. – Vol. 17. – P. 1013–1030.
13. Cohen S. M., Martin D., Morrisett R. A. // *Brain Res.* – 1993. – Vol. 601. – P. 80–87.
14. Bleich S., Degner D., Sperling W. et al. // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* – 2004. – Vol. 28. – P. 453–464.
15. Kozan R., Ayyildiz M., Yildirim M., Agar E. // *Brain Res. Bull.* – 2006. – Vol. 71. – P. 111–115.
16. Hoffman P. L., Rabe C. S., Moses F., Tabakoff B. // *J. Neurochem.* – 1989. – Vol. 52. – P. 1937–1940.

17. *Tabakoff B., Hoffman P. L. // Behav. Genet. – 1993. – Vol. 23. – P. 231–236.*
18. *Mihic S.J. // Neurochem. Int. 1999. Vol. 35. P. 115-123.*
19. *Bleich S., Degner D., Javaheripour K. et al. // J. Neural. Transm. – 2000. – Suppl. 60. – P. 187-196.*
20. *Mladenović D., Hrncić D., Radosavljević T. et al. // Can. J. Physiol. Pharmacol. – 2008. – Vol. 86. – P. 148–152.*
21. *Lovinger D. M., White G., Weight F. F. // Science. – 1989. – Vol. 243. – P. 1721–1724.*
22. *Little H. J. // Pharmacol. Ther. – 1999. – Vol. 84. – P. 333–353.*
23. *Stenberg G., Sano M., Rosen I., Ingvar D. H. // J. Stud. Alcohol. – 1994. – Vol. 55. – P. 645–656.*
24. *Ehlers C. L., Chaplin R. I., Lumeng L., Li T. K. // Alcohol Clin. Exp. Res. – 1992. – Vol. 15. – P. 739–744.*

АВТОРСКИЙ ИНДЕКС

А

Азев О.А. 56
Александров Д.А. 60
Александров Ю.И. 311
Ананьев В.Н. 142
Ананьева О.В. 142
Андрушевич Т.Ф. 395, 398
Антоненко А.Н. 237
Арчакова Л.И. 240, 330

Б

Багаева Т.Р. 289, 353
Балуева Т.В. 301
Башаркевич Н.А. 17
Белорыбкина Л.И. 17
Бобрышев П.Ю. 353
Бокуть Т.Б. 69
Бочарова В.Н. 64, 120
Бубен А.Л. 386
Бычков А.В. 69, 74

В

Васильев С.А. 69
Вашкевич Е.И. 413
Верес А.И. 293
Висмонт А.Ф. 92, 183
Висмонт Ф.И. 80, 192
Вишневская С.М. 84

Г

Гайкович Ю.В. 89
Глуткин, С.В. 391
Головач М.В. 246
Голубович В.П. 281
Горбунова Н.Б. 378
Грибоедова, Т.В. 293
Грищенко К.Н. 92, 250

Гронская Р.И. 382
Гуляева Н.В. 407
Гуляй И.Э. 391
Гуринович В.А. 407

Д

Дворецкий Д.П. 219
Дмитренко О.В. 371
Дубовский В.А. 315

Е, Е

Евстигнеев В.В. 315
Елиневский В.Б. 120
Емельянова А.А. 240
Ерофеев Н.П. 297

Ж

Житкевич Т.И. 97
Жук О.Н. 413

З

Захаревская Г.И. 41
Зиматкин С.М. 386
Зинчук В.В. 391
Золотухина Е.И. 254

И, Й

Истомин Ю.П. 100

К

Казакевич В.Б. 156, 216
Калугин А.С. 259
Калюнов В.Н. 378
Каравай Т.В. 365
Караченцева О.В. 219
Касап В.А. 395, 398
Катковская И.Н. 407

Кашевский Б.Э. 100, 188
Кашевский С.Б. 100
Кистень О.В. 315
Классина С.Я. 205
Комаровская Л.М. 319, 324
Кондрашова С.Б. 105, 403
Коплик Е.В. 262
Короткевич Т.В. 395, 398
Косицын Н.С. 31
Котов А.В. 267
Кравцов А.Н. 272
Кубарко А.И. 17, 60
Кузнецова Т.Е. 108
Кульчицкий В.А. 188, 315
Кучук Э.Н. 112

Л

Лаптева И.М. 413
Лапша В.И. 116, 120
Ларина И.М. 125
Лемеш Р.Г. 315
Лобанок Л.М. 237
Лукашенко Т.М. 120, 403
Люзина К.М. 365

М

Максимович Н.Е. 132, 135, 155
Манеева О.А. 137, 240
Манина Е.Ю. 100
Манухин Б.Н. 142
Мардас Д.К. 147
Маслова Г.Т. 156
Матусевич Л.И. 293
Матюхин В.А. 25, 276
Медведев А.С. 151
Милош Т.С. 155
Миронова Г.П. 281
Мойсеенок А.Г. 28, 407
Морозова И.Л. 286

Морозова О.Ю. 289
Мурашко А.В. 169

Н

Недосекина Т.П. 407
Нежута А.Ю. 286
Нечипуренко Н.И. 293
Никандров В.Н. 147, 382, 413, 425
Новаковская С.А. 240
Ноздрачев А.Д. 358

О

Омельянчик С.Н. 407
Орлов О.И. 125
Орлов Р.С. 297
Осадчий Л.И. 301

П

Парамонова Н.М. 330
Побегайло Л.С. 371
Подвигина Т.Т. 353
Подобед В.М. 305
Полюхович Г.С. 41, 156
Попутников Д.М. 162
Прохоров И.В. 100
Прошин А.Т. 311
Пущина Е.В. 419
Пыжова Н.С. 413, 425

Р

Разумов А.Н. 276
Реутов В.П. 31
Рубахова В.М. 315
Руткевич С.А. 156, 365
Рыжковская Е.Л. 108

С

Савко О.Н. 169
Савчина Е.Н. 64, 120

Сагач В.Ф. 37, 156, 371
Свирид В.Д. 174
Семененя И.Н. 39, 69, 211
Семенович А.А. 17
Сергеев В.А. 319
Сергеев И.В. 301
Сергеева, С.А. 348
Сердюченко Н.С. 69
Сидоров А.В. 177
Смоляк Л.Н. 120
Солодовникова И.И. 41
Солтанов В.В. 324, 403
Сорокина Е.Г. 31
Сотников О.С. 330
Степаненко Л.Г. 37
Степанова Н.А. 183
Сторожева З.И. 311, 336
Судаков К.В. 341, 348

Т

Терпинская Т.И. 188
Тимошин С.С. 419
Тихонович О.Г. 56
Тишина Л.А. 293
Ткаченко М.Н. 44
Третьякович Е.А. 192
Троян Э.И. 132, 135

У

Улащик В.С. 7, 100, 197, 254,
286, 305
Умрюхин П.Е. 262, 348

Ф

Филаретова Л.П. 289, 353
Филиппова Л.В. 358
Филиппович В.Н. 254
Флейшман С.С. 419
Фудин Н.А. 205

Х

Хадарцев А.А. 205
Харламова А.Н. 17
Хартман М.Н. 151
Хейфец И.А. 348
Хиневич С.М. 69

Ц

Цыхун Г.Ф. 69, 211

Ч

Чемитова Л.М. 281
Чумак А.Г. 41, 156, 365

Ш, Щ

Шаповал Л.Н. 37, 371
Шевалье А.А. 407
Шерстнев В.В. 311
Шульга Е.В. 391
Шухно Т.П. 156

Э, Ю

Эпштейн О.И. 348

Я

Якубовская Г.И. 216
Яновская В.И. 60
Ярцев В.Н. 219

A-Z

Djuric D.M. 47, 430
Hrnčić D. 430
Lončar-Steva430nović H. 430
Nichelmann M. 48
Rašić-Marković A. 430
Stanjlović O. 430
Tzschentke B. 53, 222

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	4
АКАДЕМИК В.Н. ГУРИН В ВОСПОМИНАНИЯХ КОЛЛЕГ, УЧЕНИКОВ И ДРУЗЕЙ	
<i>В. С. Улащик</i> АКАДЕМИК В.Н. ГУРИН: ВЕХИ ЖИЗНИ И НАУЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ	7
<i>Л. И. Белорыбкина, Н. А. Башаркевич, А. И. Кубарко, А. А. Семенович, А. Н. Харламова</i> О ВАЛЕРИИ НИКОЛАЕВИЧЕ ГУРИНЕ – ПЕДАГОГЕ И НАУЧНОМ РУКОВОДИТЕЛЕ	17
<i>В. А. Матюхин</i> ПАМЯТИ АКАДЕМИКА В.Н. ГУРИНА	25
<i>А. Г. Мойсеенок</i> ВАЛЕРИИ НИКОЛАЕВИЧ ГУРИН – ИНИЦИАТОР СОЗДАНИЯ ОТДЕЛЕНИЯ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК НАН БЕЛАРУСИ	28
<i>В. П. Реутов, Е. Г. Сорокина, Н. С. Косицын</i> ВАЛЕРИЙ НИКОЛАЕВИЧ ГУРИН: ФИЗИОЛОГ, ОРГАНИЗАТОР НАУКИ И ГРАЖДАНИН	31
<i>В. Ф. Сагач, Л. Н. Шаповал</i> ВСПОМИНАЯ ВАЛЕРИЯ НИКОЛАЕВИЧА ГУРИНА	37
<i>И. Н. Семененя</i> МОИ ВОСПОМИНАНИЯ ОБ АКАДЕМИКЕ ВАЛЕРИИ НИКОЛАЕВИЧЕ ГУРИНЕ	39
<i>И. И. Солодовникова, Г. И. Захаревская, Г. С. Полюхович, А. Г. Чумак</i> ВАЛЕРИЙ НИКОЛАЕВИЧ ГУРИН В БЕЛОРУССКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ УНИВЕРСИТЕТЕ	41

<i>М. Н. Ткаченко</i> ВАЛЕРИЙ НИКОЛАЕВИЧ ГУРИН: БОЛЬШОЙ УЧЕНЫЙ И ЗАМЕЧАТЕЛЬНЫЙ ЧЕЛОВЕК	44
<i>D. M. Djuric</i> REMINISCENCE TO VALERII NIKOLAEVICH GURIN (1938-2007)	47
<i>M. Nichelmann</i> VALERY NIKOLAJEWITSCH GOURINE – EIN GUTER KOLLEGE UND ENGER FREUND MEINER FAMILIE	48
<i>B. Tzschentke</i> IN MEMORY ACADEMICIAN PROFESSOR VALERY NIKOLAEVICH GOURINE	53
ЦЕНТРАЛЬНЫЕ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ	
<i>О. А. Азев, О. Г. Тихонович</i> ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА НА СЕРДЕЧНЫЙ РИТМ У КРЫС ПОСЛЕ БЛОКАДЫ АДРЕНО- И ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ	56
<i>Д. А. Александров, В. И. Яновская, А. И. Кубарко</i> ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ РАЗМЕРОВ ЗРАЧКА И СЕРДЕЧ- НОГО РИТМА В УСЛОВИЯХ ЛОКАЛЬНОГО ТЕМПЕРАТУРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ	60
<i>В. Н. Бочарова, Е. Н. Савчина</i> ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ NADPH-d, АЦЕТИЛХО- ЛИН-ЭСТЕРАЗЫ И ФЕРМЕНТОВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА В ОБОЮДНОМ ЯДРЕ КРЫСЫ ПРИ ГИПЕРТЕРМИИ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ	64
<i>А. В. Бычков, И. Н. Семененя, С. М. Хиневич, Н. С. Сердюченко, С. А. Васильев, Т. Б. Бокуть, Г. Ф. Цыхун</i> ХРОНОХИРУРГИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ (НА МАТЕРИАЛЕ КЕСАРЕВЫХ СЕЧЕНИЙ)	69
<i>А. В. Бычков</i> СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД В ХРОНОХИРУРГИИ	74

Ф. И. Висмонт

**МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА
У КРЫС И КРОЛИКОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СОСТОЯ-
НИЯ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ И
ВЫРАЖЕННОСТИ ЭНДОТОКСИНЕМИИ..... 80**

С. М. Вишневецкая

**НЕКОТОРЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПОСЛЕ
ТЕМПЕРАТУРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ *IN VITRO*.....84**

Ю. В. Гайкович

**ВЛИЯНИЕ АКТИВАЦИИ ИЛИ БЛОКАДЫ ЦЕНТРАЛЬ-
НЫХ АДЕНОЗИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ТЕМПЕРА-
ТУРУ ТЕЛА У КРЫС.....89**

К. Н. Грищенко, А. Ф. Висмонт

**ВЛИЯНИЕ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТОГО УГЛЕРОДА НА
ТЕРМОРЕГУЛЯТОРНЫЕ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА ПРИ
ДЕЙСТВИИ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭНДОТОКСИНА.....92**

Т. И. Житкевич

**СОДЕРЖАНИЕ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ В ПЛАЗМЕ
КРОВИ КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ
ИММОБИЛИЗАЦИОННОМУ СТРЕССУ ПОСЛЕ
КОНТРАСТНЫХ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ.....97**

Б. Э. Кашиевский, Ю. П. Истомин, С. Б. Кашиевский,

Е. Ю. Манина, И. В. Прохоров, В. С. Улащик

**РАЗРАБОТКА МЕТОДА НИЗКОЧАСТОТНОЙ
ФЕРРОМАГНИТНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ ЗЛОКАЧЕСТ-
ВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ.....100**

С. Б. Кондрашова

**ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОГО СВЯЗЫВАНИЯ
АЦЕТИЛХОЛИНА М-ХОЛИНОРЕЦЕПТОРАМИ
ГИПОТАЛАМУСА КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА
ОРГАНИЗМ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР.....105**

Т. Е. Кузнецова, Е. Л. Рыжковская

**АНАЛИЗ СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКОГО
СОСТОЯНИЯ НЕКОТОРЫХ ЭНДОКРИННЫХ ОРГА-
НОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА
НА ОРГАНИЗМ ЖИВОТНЫХ.....108**

Э. Н. Кучук

О РОЛИ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ГОРМОНОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В РЕГУЛЯЦИИ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ И ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА ПРИ ВНЕШНЕМ ПЕРЕГРЕВАНИИ И НА ДЕЙСТВИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭНДОТОКСИНА..... 112

В. И. Латша

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МИОКАРДЕ У КРЫС ПРИ СИСТЕМНОМ ВОСПАЛЕНИИ В УСЛОВИЯХ БЛОКАДЫ СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА..... 116

В. И. Латша, В. Н. Бочарова, В. Б. Елиневский, Т. М. Лукашенко, Е. Н. Савчина, Л. Н. Смоляк

ДЕЙСТВИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЭНДОТОКСИНА НА АФФЕРЕНТНОЕ ЗВЕНО БЛУЖДАЮЩЕГО НЕРВА У КРЫС В УСЛОВИЯХ БЛОКАДЫ СИНТЕЗА МОНООКСИДА АЗОТА, ПУРИНО- И ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ..... 120

И. М. Ларина, О. И. Орлов

АДАПТАЦИЯ ТЕМПЕРАТУРНОГО ГОМЕОСТАЗА ОРГАНИЗМА ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА ПРИ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОМ ПРЕБЫВАНИИ В ЗАМКНУТОМ ОБЪЕКТЕ..... 125

Н. Е. Максимович, Э. И. Троян

ОСОБЕННОСТИ ЛИХОРАДКИ У КРЫС В УСЛОВИЯХ НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ..... 132

Н. Е. Максимович, Э. И. Троян

О РОЛИ ОКСИДА АЗОТА, ОБРАЗУЕМОГО ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ NO-СИНТАЗОЙ, В РЕАЛИЗАЦИИ ЛИХОРАДКИ У КРЫС..... 135

О. А. Манеева

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЛИХОРАДКЕ..... 137

<i>Б. Н. Манухин, О. В. Ананьева, В. Н. Ананьев</i> ИЗМЕНЕНИЕ ПРЕССОРНОЙ АДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ СОСУДОВ ЗАДНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ <i>IN SITU</i> И СИСТЕМНОГО АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ КРОЛИКОВ ПРИ АДАПТАЦИИ К ХОЛОДУ.....	142
<i>Д. К. Мардас., В. Н. Никандров</i> РОЛЬ М-ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ БА- ЛАНСА СИСТЕМЫ ПРОТЕОЛИЗА ПРИ ТЕПЛОМ СТРЕССЕ.....	147
<i>А. С. Медведев, М. Н. Хартман</i> ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ИНФРАКРАСНОГО ИЗЛУЧЕ- НИЯ ПОВЕРХНОСТИ ТЕЛА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ПРИЕ- МЕ ПИЩИ.....	151
<i>Т.С. Милош, Н.Е. Максимович</i> ТЕМПЕРАТУРА ТЕЛА БЕРЕМЕННЫХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА И ТАУРИНА.....	155
<i>Г. С. Полюхович, В. Ф. Сагач, Г. Т. Маслова, С. А. Руткевич, Т. П. Шухно, В. Б. Казакевич, А. Г. Чумак</i> ВКЛАД МОНООКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЙ СЕРДЕЧНОГО РИТМА, ВЫЗВАННЫХ ПЕРЕГРЕВАНИЕМ ОРГАНИЗМА.....	156
<i>Д. М. Попутников</i> ИЗУЧЕНИЕ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ПУРИНОВ В ГИПОТАЛАМУСЕ ПРИ ЛИХОРАДКЕ.....	162
<i>О. Н. Савко, А. В. Мурашко</i> ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ НИЗКО- ЧАСТОТНОГО УЛЬТРАЗВУКА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ.....	169
<i>В. Д. Свирид</i> УЧАСТИЕ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗ- НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМИРОВА- НИИ КЛЕТОЧНОГО ОТВЕТА ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЕМПЕРАТУРНОГО ФАКТОРА.....	174
<i>А. В. Сидоров</i> ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ПРИНАДЛЕЖНОСТЬ ОПРЕДЕ- ЛЯЕТ ТЕМПЕРАТУРНУЮ ЗАВИСИМОСТЬ ЭЛЕКТ- РИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕРВНЫХ КЛЕТОК.....	177

<i>Н. А. Степанова, А. Ф. Висмонт</i> УРОВЕНЬ МОЧЕВИНЫ И L-АРГИНИН- NO-СИСТЕМА ПЕЧЕНИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКИ.....	183
<i>Т. И. Терпинская, Б. Э. Кашевский, В. А. Кульчицкий</i> ЭФФЕКТ ГИПЕРТЕРМИИ НА КЛЕТКИ АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА <i>IN VITRO</i>.....	188
<i>Е. А. Третьякович, Ф. И. Висмонт</i> УЧАСТИЕ МОНООКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМАХ РЕАЛИЗАЦИИ ВЛИЯНИЯ ИГЛОУКАЛЫВАНИЯ НА ТЕМПЕРАТУРУ ТЕЛА У КРОЛИКОВ ПРИ ЭНДОТОКСИНОВОЙ ЛИХОРАДКЕ.....	192
<i>В. С. Улащик</i> ТЕРМОРЕГУЛЯЦИЯ: ФИЗИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОБЛЕМЫ.....	197
<i>Н. А. Фудин, А. А. Хадарцев, С. Я. Классина</i> РЕАБИЛИТАЦИЯ ЛИЦ, ПОДВЕРГШИХСЯ РАДИАЦИОННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ В РЕЗУЛЬТАТЕ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС.....	205
<i>Г.Ф. Цыхун, И.Н. Семененя</i> ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ЦИКЛА ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ В ТКАНЯХ КРЫС, ПОСЛЕВВЕДЕНИЯ ЭНДОТОКСИНА И ПРОВЕДЕНИЯ КУРСА КОНТРАСТНЫХ ТЕМПЕРАТУРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ.....	211
<i>Г. И. Якубовская, В. Б. Казакевич</i> ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ НИТРО-L(D)-АРГИНИНА ПРИ ТЕПЛОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА КРЫС.....	216
<i>В. Н. Ярцев, О. В. Караченцева, Д. П. Дворецкий</i> ВОЗМОЖНОЕ УЧАСТИЕ ВЫЗВАННОГО НОРАДРЕНАЛИНОМ ПОТЕНЦИРОВАНИЯ НЕЙРОГЕННОЙ ВАЗОРЕАКТИВНОСТИ В МЕХАНИЗМАХ ТЕРМОРЕГУЛЯЦИИ.....	219

B. Tzschentke

**DEVELOPMENT OF CENTRAL NERVOUS
THERMOREGULATORY MECHANISMS IN BIRDS:
A REVIEW** Institute of Biology, Humboldt-University of
Berlin, Berlin, Germany.....222

***СИСТЕМНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИЙ ОРГА-
НИЗМА В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ***

А. Н. Антоненко, Л. М. Лобанок

**СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ
ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЕРДЦА И
КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ В ПОСТРАДИАЦИОННЫЙ
ПЕРИОД**.....237

*Л. И. Арчакова, О. А. Манеева, А. А. Емельянова,
С. А. Новаковская*

**АПОПТОЗ КАРДИОМИОЦИТОВ КАК
ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФАКТОР ДИЛАТАЦИОННОЙ
КАРДИОМИОПАТИИ**.....240

М. В. Головач

**ДОЗАЗВИСИМО ИЗМЕНЯЕТ ВЕЛИЧИНУ АФФЕРЕН-
ТНОЙ ИМПУЛЬСАЦИИ КРАНИАЛЬНЫХ БРЫЖЕЕЧ-
НЫХ НЕРВОВ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА У КРЫС**.....246

К. Н. Грищенко

**ВЛИЯНИЯ ИНГИБИТОРА TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРОВ И
АННЕКСИНА V НА РАЗМЕР ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
ИНФАРКТА МИОКАРДА**.....250

Е. И. Золотухина, В. С. Улащик, В.Н. Филиппович

**КОРРЕКЦИЯ С ПОМОЩЬЮ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТО-
РОВ РЕГУЛЯЦИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ
БОЛЕЗНЮ СЕРДЦА И АРТЕРИАЛЬНОЙ
ГИПЕРТЕНЗИЕЙ**.....254

А. С. Калугин

**ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМНОЙ РЕГУЛЯЦИИ
ГЕМОДИНАМИКИ ПРИ ИНТЕСТИНОПЛИКАЦИЯХ**.....259

<i>Е. В. Коплик, П. Е. Умрюхин</i> ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА C-FOS В МОЗГЕ У КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ СТРЕСС-РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ В УСЛОВИЯХ ВНУТРИБРЮШИННОГО ВВЕДЕНИЯ АНАЛОГА АКТГ (4-10) – СЕМАКСА.....	262
<i>А. В. Котов</i> ПУСКОВЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ НЕКОТО- РЫХ ФОРМ АДДИКТИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ В ЭКСПЕ- РИМЕНТЕ.....	267
<i>А. Н. Кравцов</i> МЕДИАТОРЫ ИММУННОГО ОТВЕТА В НЕЙРОНАЛЬ- НЫХ МЕХАНИЗМАХ СТРЕССОРНОЙ РЕАКЦИИ.....	272
<i>В. А. Матюхин, А. Н. Разумов</i> НЕКОТОРЫЕ АКТУАЛЬНЫЕ ЭКОЛОГО- ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБОБЩЕНИЯ И РЕКОМЕНДА- ЦИИ ПО ОЦЕНКЕ ВЛИЯНИЯ РАДИАЦИОННОГО ФАК- ТОРА НА ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА.....	276
<i>Г. П. Миронова, В. П. Голубович, Л. М. Чемитова</i> ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ ПРОТЕАЗ НА СИСТЕМ- НЫЕ ФУНКЦИИ ОРГАНИЗМА.....	281
<i>И. Морозова, А. Ю. Нежута, В. С. Улащик</i> ИЗМЕНЕНИЕ АФФЕРЕНТНОЙ ИМПУЛЬСАЦИИ СОМАТИЧЕСКОГО НЕРВА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ УЛЬТРАЗВУКА.....	286
<i>О. Ю. Морозова, Т. Р. Багаева, Л. П. Филаретова</i> БЛОКАДА ФУНКЦИИ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАР- НО-АДРЕНКОРТИКАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ УСУГУБ- ЛЯЕТ ЯЗВООБРАЗОВАНИЕ В ЖЕЛУДКЕ У КРЫС.....	289
<i>Н. И. Нечипуренко, А. И. Верес, Т. В. Грибоедова, Л. А. Тишина, Л. И. Матусевич</i> ФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ ПРИ ХРОНИ- ЧЕСКОЙ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ.....	293
<i>Р. С. Орлов, Н. П. Ерофеев</i> ЛИМФАТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА В РЕГУЛЯЦИИ ГИДРАТАЦИИ ТКАНЕЙ ОРГАНИЗМА (теоретическое обобщение).....	297

<i>Л. И. Осадчий, Т. В. Балуева, И. В. Сергеев</i> РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В МЕХАНИЗМЕ РЕАКЦИЙ СИСТЕМНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ПАПАВЕРИНОМ	301
<i>В. М. Подобед, В. С. Улащик</i> ИЗМЕНЕНИЕ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У БОЛЬНЫХ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ ПОД ВЛИЯНИЕМ ОБЩЕЙ МАГНИТОТЕРАПИИ	305
<i>А. Т. Прошин, З. И. Сторожева, В. В. Шерстнев, Ю. И. Александров</i> ВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРА D, РЕЦЕПТОРОВ ДОФАМИНА В АМИГДАЛЕ НА УГАШЕНИЕ ВЗДРАГИВАНИЯ ВО ВРЕМЯ ДЕЙСТВИЯ УСЛОВНОГО СИГНАЛА	311
<i>В. М. Рубахова, В. В. Евстигнеев, В. А. Дубовский, О. В. Кистень, Р. Г. Лемеш, В. А. Кульчицкий</i> ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КОНТРОЛЯ СТАТИЧЕСКОГО И ДИНАМИЧЕСКОГО РАВНОВЕСИЯ У БОЛЬНЫХ С ДВИГАТЕЛЬНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ	315
<i>В.А. Сергеев, Л.М. Комаровская</i> МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЙ МОТОРИКИ КИШЕЧНИКА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КОЛИТА	319
<i>В. В. Солтанов, Л.М. Комаровская</i> АКТИВНОСТЬ ЭФФЕРЕНТНЫХ ВОЛОКОН КРАНИАЛЬНЫХ БРЫЖЕЕЧНЫХ НЕРВОВ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КОЛИТА	324
<i>О. С. Сотников, Н. М. Парамонова, Л. И. Арчакова</i> МЕЖНЕЙРОННЫЕ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ СИНЦИТИАЛЬНЫЕ СВЯЗИ В ГИППОКАМПЕ	330
<i>З. И. Сторожева</i> НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ В МОЗЖЕЧКЕ И ПРОЦЕССЫ КОНСОЛИДАЦИИ ОБОРОНИТЕЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ	336
<i>К.В. Судаков</i> ГОЛОГРАФИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЕДИНСТВА МИРОЗДАНИЯ	341

*П. Е. Умрюхин, И. А. Хейфец, С. А. Сергеева, О. И. Эпштейн,
К. В. Судаков*
**ДЕЙСТВИЕ СУБНАНОМОЛЯРНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ
АНТИТЕЛ К БЕЛКУ S-100 НА СТРЕССИНДУЦИРО-
ВАННУЮ ЭКСПРЕССИЮ РАННЕГО ГЕНА C –FOS В
ПАРАВЕНТРИКУЛЯРНЫХ ЯДРАХ ГИПОТАЛАМУСА
У КРЫС.....348**

*Л. П. Филаретова, П. Ю. Бобрышев,
Т. Т. Подвигина, Т. Р. Багаева*
**КОМПЕНСАТОРНОЕ ГАСТРОПРОТЕКТИВНОЕ
ДЕЙСТВИЕ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ ГОРМОНОВ
ПРИ ДЕСЕНСИТИЗАЦИИ КАПСАИЦИН-
ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ АФФЕРЕНТНЫХ НЕЙРОНОВ.....353**

Л.В. Филиппова, А.Д. Ноздрачев
**ПЛАСТИЧНОСТЬ ПЕРВИЧНЫХ АФФЕРЕНТНЫХ
НЕЙРОНОВ.....358**

А.Г. Чумак, Т.В. Каравай, С.А. Руткевич, К.М. Люзина
**ПОЛИМОРФНОСТЬ СИМПАТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ,
ВЫЗЫВАЕМЫХ ВВЕДЕНИЕМ ЛИГАНДОВ СВОБОДНО-
РАДИКАЛЬНОЙ И NO-ЕРГИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ В
СПИННОМОЗГОВОЙ ЛИКВОР.....365**

*Л.Н. Шаповал, Л.С. Побегайло, О.В. Дмитренко,
Л.Г. Степаненко, В.Ф. Сагач*
**ОСОБЕННОСТИ УЧАСТИЯ ОКСИДА АЗОТА В
МЕДУЛЛЯРНОМ НЕРВНОМ КОНТРОЛЕ ФУНКЦИИ
КРОВООБРАЩЕНИЯ У КРЫС С ГЕНЕТИЧЕСКИ
ДЕТЕРМИНИРОВАННОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ.....371**

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

Н.Б. Горбунова, В.Н. Калюнов
**ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФАКТОРА РОСТА НЕР-
ВОВ И α_2 -МАКРОГЛОБУЛИНА В ТКАНЯХ МЫШЕЙ
ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРЕБЫВАНИЯ В ИЗО-
ЛЯЦИИ В ЗАМКНУТОМ ПРОСТРАНСТВЕ.....378**

Р.И. Гронская, В.Н. Никандров
**ИЗМЕНЕНИЯ ЭНЗИМАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
КЛЕТОК ФЕОХРОМОЦИТОМЫ PC12 ПОД ДЕЙСТ-
ВИЕМ СТРЕПТОКИНАЗЫ.....382**

<i>С.М. Зиматкин, А.Л. Бубен</i> ПРИЖИЗНЕННОЕ ОКИСЛЕНИЕ АЛКОГОЛЯ В МОЗГЕ	386
<i>В.В. Зинчук, С.В. Глуткин, Е.В. Шульга, И.Э. Гуляй</i> МЕЛАТОНИН И КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ	391
<i>В. А. Касап, Т. В. Короткевич, Т. Ф. Андрушевич</i> РОЛЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИПОТИРЕОЗА И ТИРЕОИДНОЙ ГИПОФУНКЦИИ В КОМПЕНСАЦИИ НАРУШЕНИЙ ЛИПОПРОТЕИНОВОГО ОБМЕНА ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭНДОТОКСИНЕМИИ	395
<i>Т. В. Короткевич, В. А. Касап, Т. Ф. Андрушевич</i> ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ГОРМОНОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В РАЗВИТИИ НАРУШЕНИЙ ЛИПОПРОТЕИНОВОГО ОБМЕНА ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭНДОТОКСИНЕМИИ	398
<i>Т. М. Лукашенко, С. Б. Кондрашова, В. В. Солтанов</i> ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ КОРТИКОСТЕРОНА В ПЛАЗ- МЕ КРОВИ У КРЫС ПРИ ПОТРЕБЛЕНИИ СОЕВЫХ ДОБАВОК	403
<i>А. Г. Мойсеенок, С. Н. Омелянчик, В. А. Гуринович, А. А. Шевалье, И. Н. Катковская, Т.П. Недосекина, Н.В. Гуляева</i> ВЗАИМОСВЯЗЬ РЕАКЦИЙ S-АЦИЛИРОВАНИЯ, НИТРОЗИЛИРОВАНИЯ, ДИСУЛЬФИДООБРАЗОВА- НИЯ И БИОСИНТЕЗА КОФЕРМЕНТА А В МЕХАНИЗ- МАХ НЕЙРОПРОТЕКЦИИ И НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ	407
<i>В. Н. Никандров, О. Н. Жук, Е. И. Вашкевич, Н. С. Пыжова, И. М. Лаптева</i> ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВ- НОСТИ ПЛАЗМЫ КРОВИ ДОНОРОВ И ЛИЦ С БРОН- ХО-ЛЕГОЧНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ	413
<i>Е. В. Пуцина, С. С. Флейшман, С. С. Тимошин</i> ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПЕПТИДОВ НА NO- ЗАВИСИМЫЕ ПРОЦЕССЫ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ МОЛОДИ АМУРСКОГО ОСЕТРА <i>ACIPENCER SCHRENKI</i>	419

Н. С. Пыжова, В. Н. Никандров

**ВЛИЯНИЕ АДЕНОЗИНМОНОСФАТОВ И
УРИДИНДИФОСФАТА НА РАСЩЕПЛЕНИЕ БЕЛКОВ
ПРОТЕИНАЗАМИ.....425**

A. Rašić-Marković, D. Hrnčić, H. Lončar-Stevanović,

O. Stanojlović, D. Djuric

**ANTICONVULSIVE ACTIVITY OF ETHANOL ON
HOMOCYSTEINE-INDUCED SEIZURES IN RATS.....430**

АВТОРСКИЙ ИНДЕКС.....439

Научное издание

**ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА
В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ**

Сборник научных трудов

Отвественный за выпуск *А. В. Сидоров*

Редакторы: *Н. С. Касюк, Е. И. Корсунская*

Компьютерная верстка *О. П. Дуль, Н. М. Лазар*

Корректор *Н. В. Боярова*

Подписано в печать 16.10.2008. Формат 84×108/32.

Бумага офсетная. Гарнитура «Таймс».

Усл. печ. л. 23,8. Уч.-изд. л. 27,2. Тираж 150 экз. Зак. 421.

Государственное учреждение образования
«Республиканский институт высшей школы»

ЛИ № 02330/0133359 от 29.06.2004 г.

220007, Минск, ул. Московская, 15

Отпечатано в РУП «Издательский дом «Белорусская наука».

220141, Минск, ул. Ф. Скорины, 40.

