

Реактивность стресс-реализующей системы в условиях изменения светового режима в эксперименте

© О.В. Злобина, С.С. Пахомий[✉], И.О. Бугаева, А.Н. Иванов, А.О. Москвина, Е.М. Костромина

ФГБОУ ВО „Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского“,
410012 Саратов, Россия

[✉] e-mail: spakhomy03@gmail.com

Поступила в редакцию 20.12.2021 г.

В окончательной редакции 14.01.2022 г.

Принята к публикации 22.03.2022 г.

Исследовано влияние длительности светового воздействия (модели 18 : 6) на гормональные показатели стресс-реализующей системы в крови лабораторных животных. Активность центрального звена стресс-систем оценивали на основании данных о концентрации адренкортикотропного гормона, мелатонина и β -эндорфина в сыворотке крови, полученных при иммуноферментном анализе. Реакцию периферического звена стресс-реализующей системы оценивали в мазках крови по результатам количественного подсчета гранул катехоламинов в эритроцитах. Установлено, что колебания гормональных показателей стресс-систем у лабораторных животных зависят от сроков действия триггерного фактора. При увеличении длительности эксперимента до 21 суток в сыворотке крови отмечается наиболее выраженное снижение мелатонина, β -эндорфина и повышение концентраций адренкортикотропного гормона, а также резкое нарастание уровня катехоламинов. Данные гормональные изменения развиваются в результате срыва механизмов компенсации стресс-реализующих систем на фоне нарушения мелатониновых ритмов, что свидетельствует об этапности развития общего адаптационного синдрома.

Ключевые слова: гормональный фон, стресс-реализующая система, общий адаптационный синдром, биоритмы, световой десинхроноз.

DOI: 10.21883/OS.2022.06.52631.35-22

Введение

Функционирование живого организма подвержено цикличности и регулируется в результате взаимной работы нервной, эндокринной и иммунной систем [1]. На поддержание постоянства внутренней среды организма большое влияние оказывают внешней факторы. Естественная смена дня и ночи, солнечная активность, климатические условия и другие параметры оказывают постоянное воздействие на формирование циркадианных ритмов в организме [2,3]. Циркадианные ритмы принимают участие в регуляции различных физиологических и поведенческих процессов: синтез гормонов, интенсивность обменных процессов, продолжительность сна и бодрствования и т. д.

В современном мире человек все чаще находится в условиях постоянного влияния различных стрессорных факторов внешней среды, которые приводят к нарушению гомеостаза и вызывают развитие дисфункциональных и морфологических изменений в органах. При воздействии стрессорного раздражителя индуцируется развитие общего адаптационного синдрома и запускается каскад неспецифических нейрогуморальных реакций, направленных на активацию гомеостатических механизмов для адаптации организма к деятельности в новых условиях. Одним из таких стрессорных факторов является световое воздействие. Изменения светового режима, возникающее, например, в результате нарушения

периодов наступления дня и ночи во время трансмеридианных перелетов (jet lag) или при работе в ночное время суток, приводит к десинхронизации биоритмов организма [2,4,5].

Степень выраженности изменений физиологических функций в организме зависит от продолжительности аномального воздействия, мощности внешнего осциллятора и варианта светового режима. В работах [6–12] было показано, что на фоне постоянного длительного светового воздействия у грызунов происходит снижение времени бодрствования, ухудшается продолжительность и качество сна, развиваются функциональные и структурные изменения в органах, ожирение и сахарный диабет второго типа. Однако до настоящего времени остаются недостаточно изученными вопросы активности секреции гормонов стресс-реализующей системы в условиях удлиненного фотопериода, сопровождающегося чередованием светового и темного режимов освещения. В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение стресс-реализующей системы и изменения концентрации мелатонина (гормонального „водителя ритмов“) в ответ на действие раздражителя в условиях изменения светового режима в эксперименте.

Материалы и методы

Экспериментальное исследование было выполнено на базе научных лабораторий кафедр гистологии и нор-

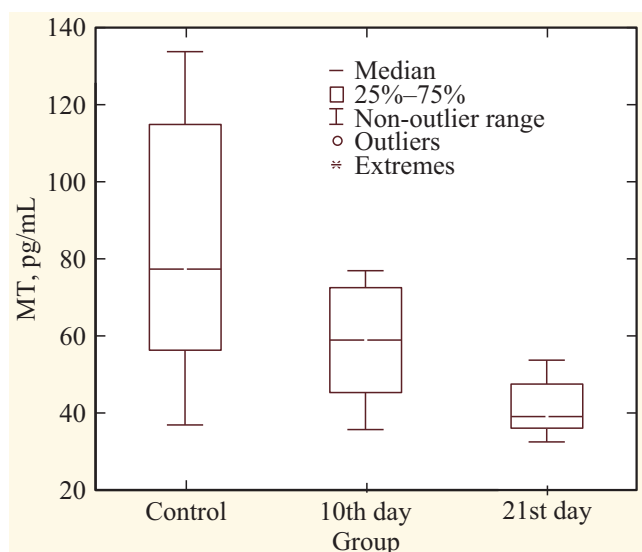


Рис. 1. Динамика концентрации мелатонина в сыворотке крови, pg/mL.

мальной физиологии им. И.А. Чуевского Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского. Эксперимент проводили в соответствии с международными этическими нормами Европейской конвенции защиты позвоночных животных для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986) и „International Guiding principles for Biomedical Research Involving Animals“ (2012), а также на основании рекомендаций комитета по этике ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава РФ (протокол № 4 от 06.12.2016 г.).

Моделирование длительного светового воздействия осуществляли с использованием дифференцированного подхода к чередованию светового и темного режимов Light-Dark (18:6). Модель Light-Dark предполагает 18 h непрерывного светового воздействия с интенсивностью освещения 50 w и 6 h режима темного времени. Эксперимент проводили на 36 белых беспородных крысах-самцах массой 225 ± 25 g, которые были распределены на 3 группы: две — опытные, одна — контрольная. Первая опытная группа животных находилась в условиях удлиненного светового режима в течение 10 суток, вторая — в течение 21 суток. Животные контрольной группы находились в условиях естественного освещения в течение 21 суток. Длительность временных периодов в эксперименте определена на основании сведений о стадийности формирования стрессорных реакций в организме: 10-е сутки характеризуются развитием стадии общего адаптационного синдрома, 21-е сутки — срывом адаптационных механизмов [13]. Эксперимент проводился в осенний период. Животные всех экспериментальных групп имели свободный доступ к воде и пище.

Животные выводились из эксперимента в первой половине дня (с 9.00 до 13.00) путем передозировки препаратов для наркоза. Для проведения манипуляций использовали внутримышечную комбинацию телазола

(Zoetis Inc, США) в дозе 8 mg/kg и ксиланита (Нита-Фарм, Россия) в дозе 8 mg/kg.

Исследование центрального звена стресс-реализующей системы лабораторных животных проводили с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов реактивов ELISA Kit For Melatonin (MT), ELISA Kit For Adrenocorticotrophic Hormone (ACTH) производства CLOUD-CLONE CORP. (США) на автоматическом микропланшетном спектрофотометре „EpochBioTek Instruments“ (США). Забор крови для ИФА производили пункцией из правых отделов сердца в пластиковые пробирки BD Vacutainer SSTTM II Advance REF с желтой крышкой Brand Vacutainer в объеме 5 ml. Для биохимического исследования получали сыворотку крови путем центрифугирования в течение 20 min и не позднее, чем через 3 h с момента получения образцов. С помощью ИФА проводилось определение в сыворотке крови концентраций мелатонина, аденокортикотропного гормона (АКТГ) и β -эндорфина (β EP).

Реакцию периферического звена стресс-реализующей системы на длительное влияние светового воздействия оценивали с помощью цитохимического метода А.И. Мардарь и Д.П. Кладиенко [14]. Мазки крови наносили на покрытые альбумином предметные стекла и фиксировали 2%-водным раствором калия бихромата при температуре 37° в течение 2 h. Далее мазки промывали в дистиллированной воде и окрашивали 5%-водным раствором нитрата серебра. Через 5 min мазки промывали в дистиллированной воде и окрашивали 1%-спиртовым раствором эозина. Количественную оценку содержания гранул катехоламинов, сорбированных на эритроцитах в мазках крови, проводили с помощью микровизора медицинского μ Vizo-101 ЛОМО (ООО „ЛОМО ФОТОНИКА“ РФ). При исследовании подсчитывали количество гранул на 100 эритроцитов в поле объектива $\times 40$.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы Statistica 10.0 (Stat Soft Inc, США). В случае отличия распределения значений в выборке от нормального вычисляли медиану и квартили. Достоверность различий (p) рассчитывали с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Значимыми считали изменения при $p < 0.05$.

Результаты исследования

Установлено, что у лабораторных животных, находившихся в условиях светового воздействия, колебания гормональных показателей стресс-систем зависели от длительности действия триггерного фактора. В результате проведения ИФА в сыворотке крови обнаружены изменения в концентрациях гормонов мелатонина, β -эндорфина и АКТГ в ответ на увеличение продолжительности светового воздействия (рис. 1–3).

В группе животных, находившихся в условиях эксперимента в течение 10 суток, отмечалось незначительное

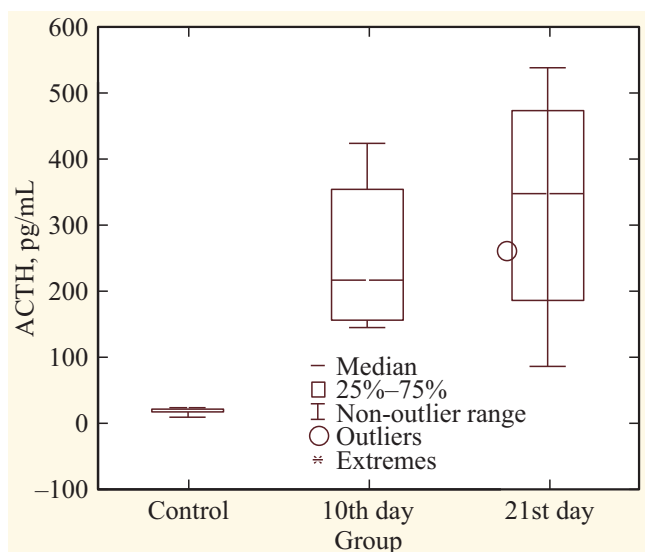


Рис. 2. Динамика концентрации АКТГ в сыворотки крови, pg/mL.

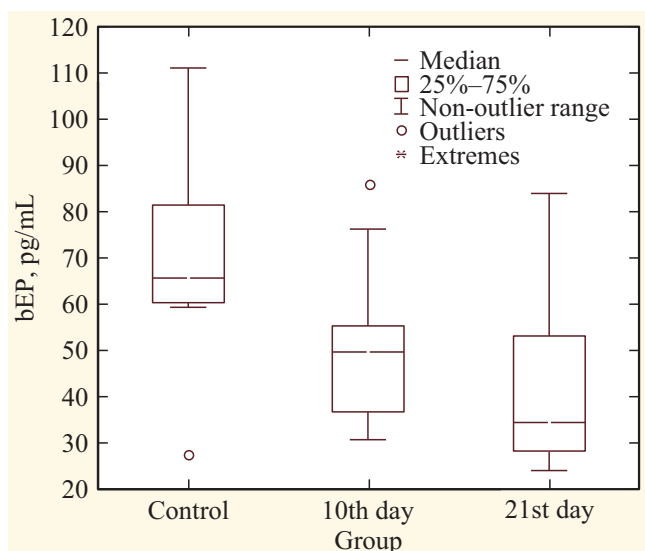


Рис. 3. Динамика концентрации β -эндорфина в сыворотки крови, pg/mL.

снижение концентрации мелатонина в сыворотке крови до 59 pg/mL [49; 68], при значениях в контрольной группе — 77 pg/mL [64; 113]. Увеличение продолжительности воздействия до 21 суток сопровождалось снижением значений данного показателя в два раза по сравнению с результатами, полученными в контрольной группе — до 39 pg/mL [37; 47].

Изменения концентрации в сыворотке крови гормона АКТГ носило обратный характер и проявлялось резким повышением значений. На 10-е сутки эксперимента обнаружено увеличение данного показателя до 215 pg/mL [158; 336], при значениях в контрольной группе 20 pg/mL [17; 22]. Увеличение продолжительности

эксперимента до 21 суток сопровождалось дальнейшим нарастанием титра АКТГ до 346 pg/mL [242; 445], что в 17.3 раза превысило результаты в контрольной группе.

На фоне повышения содержания кортикотропина было зарегистрировано снижение уровня β -эндорфина в крови лабораторных животных во всех опытных группах: на 10-е сутки эксперимента до 49.6 pg/mL [39.1; 54.9] и на 21-е сутки до 34.5 pg/mL [28.1; 48.7].

При анализе содержания катехоламинов в эритроцитах на 10-е сутки эксперимента количество гранул катехоламинов статистически значимо не отличалось от контрольной группы и составило 33 [26; 43]. Следует отметить, что на 21-е сутки светового воздействия отмечалось резкое увеличение данного показателя до 483 [455; 525], что в 20 раз превысило значения в контрольной группе.

Адаптивный ответ организма определяется интенсивностью воздействия триггерного фактора и может быть представлен как простой ограниченной реакцией, так и развитием генерализованного системного ответа. Определение уровня мелатонина и гормонов стресс-систем позволяет оценить развивающуюся реакцию в организме и проследить сроки срыва регуляторных механизмов [16].

В эксперименте при использовании модели Light-Dark (18:6) изменения титров гормонов мелатонина, β -эндорфина и АКТГ в крови лабораторных животных зависели от длительности светового воздействия и развивались в соответствии со стадиями формирования общего адаптационного синдрома. Главным критерием нарушения биоритмов в организме является уменьшение выработки мелатонина, которое обратно пропорционально длительности светового воздействия. Снижение значений мелатонина в сыворотке в крови на 10-е сутки эксперимента является физиологической реакцией на длительное воздействие света и носит преимущественно регуляторный характер. При увеличении продолжительности эксперимента на фоне удлиненного фотопериода происходит активация светочувствительных супрахиазматических ядер гипоталамуса, что сопровождается повышением синтеза тропных гормонов гипофиза и дальнейшим снижением темновой секреции мелатонина эпифизом [16]. В результате уровень мелатонина на 21-е сутки воздействия снижается в два раза по сравнению с контрольной группой, что приводит к устойчивой активации стресс-реализующих компонентов и снижению стресс-лимитирующих факторов, развитию десинхронизации биоритмов и запуску хронической стрессорной реакции. Одним из основных звеньев стресс-лимитирующей системы является β -эндорфин, который ограничивает влияние стресс-реализующей системы, предупреждая повреждение тканей живого организма [17]. На 21-е сутки эксперимента отмечается наибольшее снижение концентрации β -эндорфина, что свидетельствует об уменьшении резистентности к действию триггерного фактора. Данная реакция сопровождается увеличением концентрации гормонов центрального генеза (АКТГ), а также нарастающим повышением

уровня нейромедиаторов (катехоламинов) — общепризнанных маркеров интенсивного действия стрессорного агента [18].

Таким образом, длительное световое воздействие оказывает выраженное негативное влияние на гормональное состояние организма и ведет к срыву механизмов стресс-систем. Несомненно это обуславливает развитие неблагоприятных последствий светового воздействия, проявляющихся отклонениями как в поведенческих реакциях животных, так и морфофункциональными изменениями во внутренних органах [3–5].

Заключение

В результате настоящего исследования установлено, что при длительном световом воздействии с использованием дифференцированного подхода к чередованию светового и темного режимов Light-Dark (18:6) происходит снижение уровня мелатонина, β -эндорфина и повышение концентрации АКТГ и катехоламинов. Выраженность гормональных нарушений нарастает с увеличением длительности эксперимента и свидетельствует о последовательном развитии стадий общего адаптационного синдрома.

Финансирование работы

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБОУ ВО „Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского“ Министерства здравоохранения РФ по теме „Разработка математической модели для оценки скорости трансформации функциональных изменений в целостном организме при световом десинхронозе в необратимые морфологические изменения органов-мишеней в эксперименте“.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- [1] A. Kalsbeek, I.F. Palm, S.E. La Fleur, F.A.J.L. Scheer, S. Perreau-Lenz, M. Ruiters, F. Kreier, C. Cailotto, R.M. Buijs. *J. Biol. Rhythms*, **21** (6), 458–469 (2006). DOI: 10.1177/0748730406293854
- [2] T.A. LeGates, D.C. Fernandez, S. Hattar. *Nat Rev Neurosci.*, **15** (7), 443–454 (2014). DOI: 10.1038/nrn3743
- [3] J. Cedernaes, N. Waldeck, J. Bass. *Genes Dev.*, **33** (17–18), 1136–1158 (2019). DOI: 10.1101/gad.328633.119
- [4] В.А. Снежинский, Н.Ф. Побиванцева. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*, **1**, 9–13 (2013).
- [5] C.E. Koch, B. Leinweber, B.C. Drenth et al. *Neurobiol. Stress.*, **6**, 57–67 (2017). DOI: 10.1016/j.ynstr.2016.09.001
- [6] С.И. Рапопорт, С.М. Чибисов, М.Л. Благонравов. *Клиническая медицина*, **9**, (71–73) (2013).
- [7] О.В. Злобина, С.С. Пахомий, И.О. Бугаева, Г.Н. Маслякова, А.Н. Иванов. *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание*, **5**, 245–249 (2018).
- [8] О.В. Злобина, И.О. Бугаева, С.С. Пахомий, А.Н. Иванов, Ю.А. Слюсаренко, Е.Д. Усольцева. *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание*, **5**, 250–254 (2018).
- [9] L.K. Fonken et al. *PNAS*, **107**, 18664–18669 (2010).
- [10] C.P. Coomans et al. *FASEB journal*, **27** (4), 1721–1732 (2013). DOI: 10.1096/fj.12-210898
- [11] L.P. Casiraghi, A. Alzamendi, A. Giovambattista, J. Chiesa, A.D. Golombek. *Physiological Reports*, **4** (8), 12743 (2016). DOI: 10.14814/phy2.12743
- [12] D.J. Phillips, M.I. Savenkova, I.N. Karatsoreos. *Brain, Behavior, and Immunity*, **47**, 14–23 (2015). DOI: 10.1016/j.bbi.2014.12.008
- [13] В.Н. Морозов, А.А. Хадарцев. *Вестник новых медицинских технологий*, **1**, 15–17 (2010).
- [14] А.И. Мардарь, Д.П. Кладиенко. *Лаб. дело*, **10**, 586–588 (1986).
- [15] О.В. Злобина, А.О. Москвина, А.Н. Иванов, И.О. Бугаева. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*, **107** (3), 312–320 (2021). DOI: 10.31857/S0869813921030109
- [16] А.И. Крупаткин. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*, **13** (1), 83–99 (2014).
- [17] Т.В. Ласукова, С.В. Низкодубова, Е.Ю. Мухтобарова. *Вестник ТГПУ*, **140** (12): 215–221 (2013).
- [18] Г.В. Порядин, Л.И. Зеличенко. *Стресс и патология. Методическое пособие* (Рос. гос. мед. универ, 2009).