

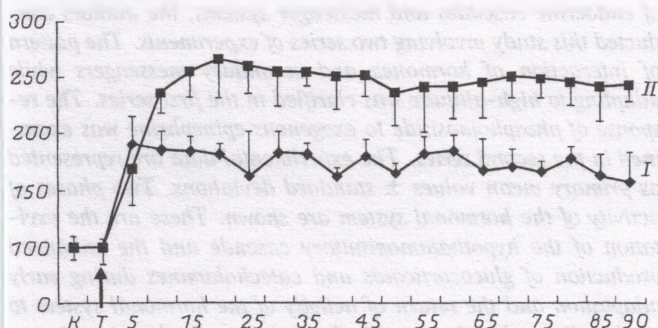


Рис. 3. ДПП, индуцируемая электрической тетанизацией латерального обонятельного тракта и аппликацией КРФ (10^{-8} М) в течение 90 мин.

По оси абсцисс: К — контроль, Т и стрелка — тетанизация латерального обонятельного тракта и введение КРФ соответственно. I — тетанизация ($n = 19$); II — КРФ ($n = 7$).

ривать как электрофизиологическую основу тех процессов, которые разворачиваются в мозге при стрессовых ситуациях. Можно полагать, что КРФ, способствуя формированию стрессовой реакции организма, может стимулировать развитие некоторых пластических изменений в ЦНС, тем более что известно модулирующее влияние КРФ на некоторые процессы поведенческого обучения и памяти [11]. Кроме того, КРФ активировал АМПА- и НМДА-компоненты ВПСР в наших опытах и вызывал повышение уровня внутриклеточного кальция [4].

Для того, чтобы проверить это предположение, срезы мозга перфузировали с КРФ в течение 90 мин. Возбуждающий эффект КРФ проявлялся через 1–1,5 мин, достигал своего максимума через 15–20 мин и сохранялся в течение 90 мин (время наблюдения), причем величина декремента амплитуды НМДА ВПСР составляла к концу наблюдения примерно 20% (рис. 3). Эти данные свидетельствуют о том, что КРФ самостоятельно индуцировал в клетках срезов мозга явление, аналогичное долговременной посттетанической потенциации (ДПП). Ход ее развития несколько отличался от электрически-вызванной ДПП (см. рис. 3). Эти отличия проявлялись в фазе индукции тем, что КРФ-вызванная ДПП развивалась более медленно, но в фазу сохранения была более устойчивой. Это еще раз доказывает, что эндогенные пептиды принимают активное участие в развитии пластических процессов в мозге, способствуя трансформации кратковременных базисных процессов возбудимости в длительно сохраняющиеся [1].

Полученные данные раскрывают основные нейрофизиологические механизмы вовлечения возбуждающей (глутаматергической) и тормозной (ГАМКергической) систем мозга в ответ на действие КРФ, секреция которого при стрессе быстро возрастает не только в гипоталамусе, но и во многих структурах мозга. Длительная активация возбуждающих процессов при синхронном подавлении тормозных в нервных клетках, возникновение в них явления устойчивого возбуждения, аналогичного ДПП, индукция спорадических эпилептогенных разрядов — вот те

электрофизиологические механизмы, которые, по всей вероятности, лежат в основе реакций мозга на разнообразные стрессы.

Выводы

1. Перфузия переживающих срезов обонятельной коры мышей срезой с КРФ (10^{-9} , 10^{-8} М) вызывала увеличение амплитуды и длительности АМПА- и НМДА-компонентов ВПСР. Напротив, амплитуда ТПСР_м угнеталась.

2. При действии КРФ в большей концентрации (10^{-8} М) в срезах возникали эпилептоподобные разряды.

3. Длительная (90 мин) перфузия срезов раствором с КРФ индуцировала в них процессы, аналогичные электрически-вызванной долговременной посттетанической потенциации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мокрушин А. А. Пептид-зависимые механизмы нейрональной пластичности в обонятельной коре: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — СПб., 1997. — С. 3–42.
2. Шалыпина В. Г., Рыбникова Е. А., Ракицкая В. В. // Рос. физиол. журн. — 1998. — Т. 84, № 10. — С. 1146–1151.
3. Aldenhoff J. B., Gruol D. L., Rivier J. et al. // Science. — 1983. — Vol. 221, N 4613. — P. 875–877.
4. Aldenhoff J. B. // Psychoendocrinology. — 1986. — Vol. 11, N 2. — P. 231–236.
5. Chaimers D. T., Lovenberg T. W., De Souza E. B. // J. Neurosci. — 1995. — Vol. 15. — P. 6340–6350.
6. Curtis A. L., Lechner S. M., Pavcovich L. A. // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1997. — Vol. 281. — P. 163–172.
7. De Souza E. B. // J. Neurosci. — 1987. — Vol. 7. — P. 88–100.
8. Dunn A. J., Berridge C. W. // Brain Res. Rev. — 1990. — Vol. 15, N 2. — P. 71–100.
9. Eberly L. B., Dudley C. A., Moss R. L. // Peptides. — 1983. — Vol. 4. — P. 837–841.
10. Ehlers C. L., Henriksen S. J., Wang M. et al. // Brain Res. — 1983. — Vol. 278. — P. 332–336.
11. Koob G. F., Bloom F. E. // Fed. Proc. — 1985. — Vol. 44. — P. 259–263.
12. Koob G. F., Markou A., Weiss F. // Semin. Neurosci. — 1993. — Vol. 5. — P. 351–358.
13. Koob G. F., Heinrichs S. C. // Brain Res. — 1999. — Vol. 848, N 1–2. — P. 141–152.
14. Marrosu F., Mereu G., Fratta W. // Ibid. — 1987. — Vol. 408. — P. 394–398.
15. Perrin M., Donaldson C., Chen R. et al. // Endocrinology. — 1993. — Vol. 133. — P. 3058–3061.
16. Perrin M., Donaldson C., Chen R. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1995. — Vol. 92. — P. 2969–2973.
17. Swanson L. W., Sawchenko P. E., Rivier J. et al. // Neuroendocrinology. — 1983. — Vol. 36. — P. 165–186.
18. Valentino R. J., Foote S. L., Aston-Lones G. // Brain Res. — 1983. — Vol. 270, N 2. — P. 363–367.
19. Valentino R. J., Foote S. L. // Neuroendocrinology. — 1987. — Vol. 45. — P. 28–36.

Поступила 16.01.01

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2003

УДК 612.275.1.014.49.018.084

А. А. Вишневский, Д. З. Закиров, В. М. Яковлев, Л. Ы. Жолдубаева, Г. А. Захаров

ЭНДОКРИННЫЕ И МЕССЕНДЖЕРНЫЕ СИСТЕМЫ ПРИ АДАПТАЦИИ К УСЛОВИЯМ ВЫСОКОГОРЬЯ

Лаборатория молекулярных механизмов адаптации и лаборатория нейроэндокринных механизмов адаптации Института физиологии и экспериментальной патологии высокогорья НАН Кыргызской Республики, Бишкек

Снижение активности гормональной системы во второй фазе адаптации к условиям высокогорья (3200 м) является переходом на новую ступень регуляции, обусловленную изменением чувствительности клеток-мишеней. Эта чувствительность определяется динамическим балансом активности двух основных систем вторичных мессенджеров —

Decreased hormonal activities in the second phase of adaptation to high-altitude (3200 m) is show transition to a new regulation stage caused by a change in the sensitivity of target cells. This sensitivity is determined by the dynamic balance of the activities of two major systems of secondary messengers — phosphoinositide and adenylate cyclase ones. To elucidate the pattern of interaction

фосфоинозитидной и аденилатциклазной. С целью выяснения характера взаимодействия эндокринных каскадов и мессенджерных систем выполнено исследование, включавшее две серии экспериментов. В первой серии выясняли характер взаимодействия гормонов и вторичных мессенджеров при адаптации к высокогорью. Во второй серии исследовали фосфоинозитидный ответ при экзогенном введении норадреналина. Экспериментальные данные представлены как средние первичные значения $\pm$ стандартные отклонения. Продемонстрированы две фазы активности гормональной системы: возбуждение гипоталамо-гипофизарного каскада и усиленная продукция глюкокортикоидов и катехоламинов в раннем периоде адаптации, возврат активности гормональной системы к исходному уровню к 14-м суткам адаптации. К этому сроку перестройки в фосфоинозитидной мессенджерной системе заключались в повышении доли полифосфоинозитидов (poly-PI) в общей мембранной фракции инозитолсодержащих фосфолипидов, причем у адреналэктомированных животных — в большей степени. Указанные события ведут к возникновению новых координационных отношений между гормонами и системами вторичных мессенджеров. Сделан вывод об участии фосфоинозитидной мессенджерной системы в формировании защитных механизмов, снижающих деструктивные эффекты избыточного количества норадреналина.

При действии на клетку-мишень гормональных и нейромедиаторных стимулов наблюдается активация либо ингибирование всех клеточных процессов — от энергетических до деления и дифференцировки [5, 8]. Основой механизмов сопряжения во многих случаях являются низкомолекулярные вторичные мессенджеры, образование которых индуцируется в клетке при воздействии внешних, т. е. гормональных, стимулов [11].

Нейроэндокринные механизмы активно участвуют в адаптации организма к физическим факторам гор — высотной гипоксии и холоду [2, 8]. При этом в динамике адаптационного процесса можно выделить две фазы изменения уровня гормонов в организме. В начальном периоде адаптации происходит активация гормональной системы, которая сопровождается повышением количества вырабатываемых гормонов. По достижении адаптации наступает вторая фаза, которая характеризуется снижением активности гормональной системы до исходного и даже более низкого уровня. Это снижение не связано с истощением желез внутренней секреции, так как при действии другого адаптирующего фактора их активность вновь возрастает [8].

Причина такого возврата к исходному уровню остается невыясненной. Вероятно, это изменение активности связано с соответствующей перестройкой чувствительности клеточных мишеней, что в случае повышения их чувствительности должно закономерно вести к возврату активности гормональной системы к исходному уровню. При этом необходимо иметь в виду, что чувствительность клеток-мишеней определяется динамическим балансом активности двух основных систем вторичных мессенджеров — фосфоинозитидной и аденилатциклазной [9]. Вот почему наблюдаемое в позднем периоде адаптации снижение активности гормональной системы — это не возврат к старым координационным отношениям между гормонами и клетками-мишенями, а своеобразный переход на новую ступень регуляции, обусловленную соответствующими перестройками в системах вторичных мессенджеров. С целью проверки этих логических построений была выполнена настоящая работа.

Материалы и методы

Первая серия экспериментов была посвящена выяснению характера взаимодействия гормонов и вторичных мессенджеров при адаптации к условиям высокогорья. Крысы находились в горах (3200 м) в течение 30 дней. Для провокации нарушений гормональных элементов резистентности животных одной группы предварительно адреналэктомировали путем удаления правого надпочечника [10]. Во второй серии опытов исследовали фосфоинозитидный ответ при экзогенном введении норадреналина.

В плазме крови крыс определяли содержание адреналина и норадреналина с помощью флуориметрического метода на спектрофлуориметре "Хитачи" MPF-4. В качестве стандартов использованы препараты фирмы "Реанал" (Венгрия). Уровни

of endocrine cascades and messenger systems, the authors conducted this study involving two series of experiments. The pattern of interaction of hormones and secondary messengers while adapting to high-altitude was clarified in the first series. The response of phosphoinositide to exogenous epinephrine was examined in the second series. The experimental data are represented as primary mean values $\pm$ standard deviations. Two phases of activity of the hormonal system are shown. These are the excitation of the hypothalamopituitary cascade and the enhanced production of glucocorticoids and catecholamines during early adaptation and the return of activity of the hormonal system to the baseline values by day 14 of adaptation. By that time the rearrangements in the phosphoinositide messenger system consists in increasing the proportion of polyphosphoinositides in the total membranous fraction of inositol-containing phospholipids, in adrenalectomized animals to a greater extent. The above events give rise to new coordination relations between hormones and secondary messengers. It is concluded that the phosphoinositide messenger system is involved in the formation of defense mechanisms that reduce the destructive effects of large amounts of epinephrine.

адренокортикотропного гормона (АКТГ), кортикостерона и тироксина — радиоиммунологическим методом [2].

Фосфоинозитиды — фосфатидилинозитол (PI); фосфатидилинозитол-4-фосфат (PIP) и фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат (PIP₂) выделяли из полушарий мозга крыс и разделяли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках Silufol UV-254 (Чехия). Идентифицировали фракции с помощью стандартных свидетелей "Sigma" (США). Количественное определение проводили по содержанию инозитидного фосфора (в микрограммах фосфора на 1 г ткани) [3]. Циклический аденозинмонофосфат (сАМР) в гомогенате мозга определяли после осаждения белков 6% трихлоруксусной кислотой с применением ТСХ и идентификации радиоиммунологическими наборами "Institute for research, production and applications" (Чехия) [6]. Продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активность ферментов антиоксидантной защиты определяли по общепринятым методикам [3]. Данные для конкретных экспериментальных точек в каждом независимом определении проводили в 5-кратной повторности. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью критерия *t* Стьюдента. Экспериментальные данные представлены как $M \pm m$.

Результаты и их обсуждение

Наиболее важными физиологическими механизмами адаптации к физическим факторам гор, как известно, являются возбуждение гипоталамо-гипофизарной системы и усиленная продукция глюкокортикоидов и катехоламинов [8]. Полученные результаты продемонстрировали подтверждение этой модели: в течение первых 3 сут адаптации к высокогорью в плазме крови крыс уровни кортикостерона и адреналина повысились в 2,6—2,9 раза (рис. 1), содержание норадреналина повысилось на 7-е сутки. Отмечено достоверное увеличение концентрации АКТГ на 3-и сутки ($p < 0,02$).

Помимо указанных эндокринных каскадов, физические факторы гор в ранние сроки (до 3 сут) вызывали выраженный секреторный ответ щитовидной железы. Содержание тироксина в этот период превышало контрольный уровень в 1,3—1,5 раза.

Гормональный ответ адреналэктомированных крыс был однотипным с реакциями интактных животных, однако уступал последним по амплитуде на 22—29% ($p < 0,05$). У животных этой группы в отличие от интактных крыс на 7-е сутки наблюдалось компенсаторное увеличение массы оставшегося надпочечника с $12,2 \pm 0,4$ до $18,3 \pm 0,8$ мг.

Поскольку важнейшие эффекты гормонов и катехоламинов опосредуются системами вторичных мессенджеров, на следующем этапе реализации гормонального сигнала в клетке начинается образование сАМР и инозитолфосфатов [9, 11]. При этом не обнаружено пропорциональной зависимости образования сАМР от концентрации агониста. В течение исследуемого периода содержание сАМР в полушариях мозга колебалось от 107 до 122%. Вероятно, обратные связи в системах вторичных мес-

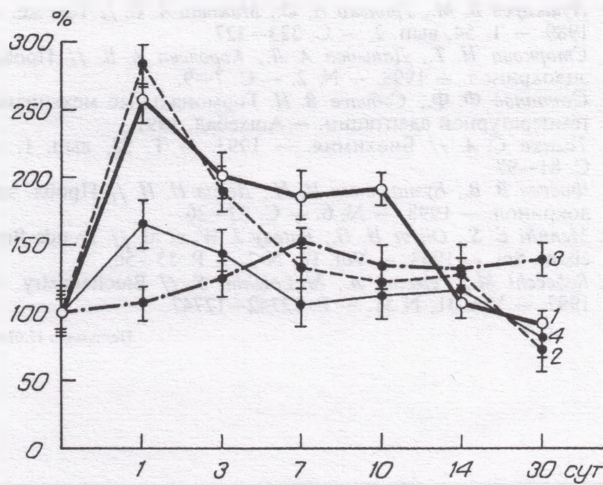


Рис. 1. Уровень гормонов в плазме крови крыс при 30-дневной адаптации к условиям высокогорья (3200 м).

По оси абсцисс — срок адаптации, дни; по оси ординат — содержание гормонов (в % от контроля). 1 — кортикостерон, 2 — адреналин, 3 — норадреналин, 4 — АКТГ.

сенджеров приводят к тому, что аденилатциклазный каскад стремится вернуться к начальному стационарному состоянию при отклонениях от него, возможны также временные переходы на новые устойчивые уровни [9]. Исходя из этих соображений, говорить о дозозависимом эффекте здесь следует с большей осторожностью (если вообще следует).

Перестройки в фосфоинозитидной мессенджерной системе заключались в повышении доли полифосфоинозитидов (poly-PI) PIP и PIP₂ в общей мембранной фракции инозитолсодержащих фосфолипидов, причем у адреналэктомированных животных — в несколько большей степени (см. таблицу). Сдвиг от PI к poly-PI развивался во времени и достигал максимума к 14-м суткам, когда активность эндокринных систем снижалась и наступала вторая фаза в динамике адаптационного процесса. Известно, что именно poly-PI являются основными источниками вторичных мессенджеров — диацилглицерола и инозитолфосфатов [12]. Это значит, что повышение чувствительности мембран в процессе адаптации может обеспечиваться за счет возникновения других количественных соотношений между PI и poly-PI. Кроме того, не исключается возможность адаптивных перестроек на рецепторном уровне [9]. Синергические процессы в этих звеньях передачи гормонального сигнала способны изменить масштаб чувствительности клеток-мишеней. Следовательно, указанные события ведут к переходу на новую ступень регуляции, обусловленную изменением характера взаимодействия между эндокринными и мессенджерными системами.

Что произойдет на участке сопряжения эндокринных сигналов, если гормональная активность будет не снижаться, а нарастать? Для ответа на этот вопрос применили модель с поддержанием высокого уровня норадреналина путем инъекций в возрастающих дозах. Препарат вводили в течение 14 дней (общая

Содержание полифосфоинозитидов (в мкг Р на 1 г ткани мозга) в полушариях мозга интактных и адреналэктомированных крыс (n = 5) при 30-дневной адаптации к условиям высокогорья (3200 м)

Срок адаптации, дни	Интактные животные		Адреналэктомированные животные	
	PIP	PIP ₂	PIP	PIP ₂
Контроль	9,4 ± 1,8	21,3 ± 2,6	9,6 ± 2,2	20,2 ± 1,7
1	9,1 ± 2,0	21,2 ± 2,7	9,2 ± 1,6	24,4 ± 2,5
7	9,3 ± 1,5	23,8 ± 2,6	13,5 ± 2,1*	22,1 ± 2,2
14	9,8 ± 1,5	23,0 ± 2,2	10,2 ± 2,2	26,7 ± 2,7*
30	10,5 ± 1,3	23,7 ± 2,0	10,5 ± 1,7	24,0 ± 2,3

Примечание. Звездочка — $p < 0,05$.

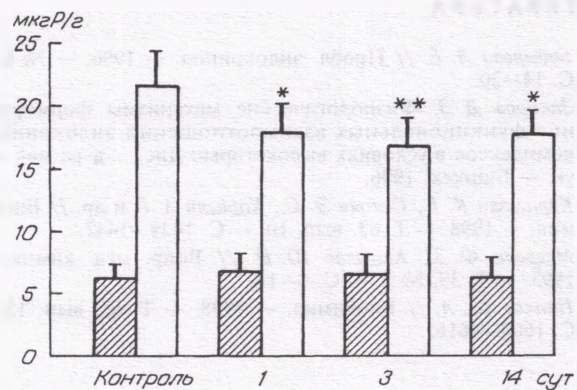


Рис. 2. Содержание полифосфоинозитидов в полушариях мозга крыс при 14-дневном введении норадреналина.

По оси абсцисс — дни инъекций, по оси ординат — концентрация инозитидного фосфора (в мкг Р на 1 г ткани мозга). Суммарная доза 35 мг/кг. Штрихованные столбики — PIP, столбики без штриховки — PIP₂. Одна звездочка — $p < 0,05$, две — $p < 0,02$ по сравнению с контролем.

доза 35 мг/кг). К концу этого периода содержания норадреналина в крови повышалось в 4–6 раз.

Как и следовало ожидать [1, 4], эффект подобных нагрузок норадреналином выразился в инициации свободнорадикальных процессов и в повреждении миокарда. После 7 дней введения отмечались полнокровие и спазм сосудов, отек стромы, наблюдали очаги гипертрофированных кардиомиоцитов с частичной ишемией и некрозом. Содержание продуктов ПОЛ — диеновых конъюгатов и оснований Шиффа повысилось на 36–55% ($p < 0,02$). Однако к 14-м суткам, несмотря на продолжение введения препарата в возрастающих дозах, отмечены нормализация уровня продуктов ПОЛ и усиление активности ферментов антиоксидантной защиты, особенно супероксиддисмутазы — на 25–32% ($p < 0,02$).

Высокий уровень норадреналина в крови привел к снижению содержания мембранного PIP₂ на 3-и сутки с $21,8 \pm 2,4$ мкг Р на 1 г ткани мозга (в контроле) до $16,8 \pm 2,0$ мкг Р/г ($p < 0,02$). Эта динамика сохранялась до конца эксперимента (рис. 2). Уровень PIP существенно не изменялся.

Наблюдавшаяся для свободнорадикальных процессов тенденция к восстановлению исходной интенсивности свидетельствовала о включении защитных систем, причем динамика содержания poly-PI наводила на мысль об участии фосфоинозитидов в формировании этих лимитирующих механизмов, снижающих деструктивные эффекты повреждающего агента — норадреналина. При этом, кроме функциональной регуляции в виде активации ферментов антиоксидантной защиты [1], отрицательное действие фактора, несмотря на его нарастание, могло блокироваться на участке проведения сигнала в клетку за счет снижения доли poly-PI.

Пока еще не дифференцированы пороговые диапазоны концентраций гормонов и нейромедиаторов, при которых происходит адаптивное повышение или снижение содержания poly-PI, изменяющую чувствительность клеточных мембран. В то же время ясно, что фосфоинозитидная мессенджерная система может функционировать в различных "режимах". Находясь в одном из них, система обеспечивает определенную ступень регуляции, адекватную силе гормонального сигнала. Если этот сигнал становится больше некоторой пороговой величины, то в системе (очевидно, благодаря механизмам обратной связи) формируется новый стационарный уровень, изменяющий чувствительность клеточных мембран.

Выводы

1. Снижение активности эндокринных каскадов во второй фазе адаптации к высокогорью сопровождается увеличением доли полифосфоинозитидов в мембранах, что определяет возникновение новых координационных отношений между гормонами и вторичными мессенджерами.

2. Деструктивные эффекты норадреналина при его введении в возрастающих дозах могут снижаться в результате активации ферментов антиоксидантной защиты и блокады сигналов в клетку, обусловленной снижением содержания фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бобырева Л. Е. // Пробл. эндокринол. — 1996. — № 6. — С. 14—20.
2. Закиров Д. З. Физиологические механизмы формирования функциональных взаимоотношений эндокринных комплексов в условиях высокогорья: Дис. ... д-ра мед. наук. — Бишкек, 1996.
3. Карагезян К. Г., Секоян Э. С., Караган А. Г. и др. // Биохимия. — 1998. — Т. 63, вып. 10. — С. 1439—1447.
4. Меерсон Ф. З., Копылов Ю. Н. // Вопр. мед. химии. — 1993. — Т. 39, № 3. — С. 6—13.
5. Панков Ю. А. // Биохимия. — 1998. — Т. 63, вып. 12. — С. 1600—1616.
6. Пушкарев В. М., Тронько Н. О., Микоша А. С. // Там же. — 1989. — Т. 54, вып. 2. — С. 323—327.
7. Старкова Н. Т., Давыдов А. Л., Королева А. В. // Пробл. эндокринол. — 1998. — № 2. — С. 7—9.
8. Султанов Ф. Ф., Соболев В. И. Гормональные механизмы температурной адаптации. — Ашхабад, 1991.
9. Талако С. А. // Биохимия. — 1993. — Т. 58, вып. 1. — С. 81—97.
10. Фадеев В. В., Бузиашвили И. И., Дедов И. И. // Пробл. эндокринол. — 1998. — № 6. — С. 22—26.
11. Menniti E. S., Oliver H. G., Putney J. W. et al. // Trends Biochem. Sci. — 1993. — Vol. 18, N 2. — P. 53—56.
12. Rebecchi M., Peterson A., McLaughlin S. // Biochemistry. — 1992. — Vol. 31, N 51. — P. 12742—12747.

Поступила 17.07.01

◆ НЕКРОЛОГ

УДК 616.43:92 Грановская-Цветкова

ПАМЯТИ АЛЕКСАНДРЫ МИХАЙЛОВНЫ ГРАНОВСКОЙ-ЦВЕТКОВОЙ



Безвременно ушла из жизни наша любимая коллега, друг, учитель — доцент кафедры эндокринологии и диабетологии Грановская-Цветкова Александра Михайловна.

Александра Михайловна окончила в 1956 г. II ММИ им. Н. И. Пирогова. Обучалась в ординатуре на кафедре эндокринологии Центрального института усовершенствования врачей с 1956 по 1959 г., в 1962—1965 гг. выполнила и успешно защитила кандидатскую диссертацию "Функциональное состояние почек при сахарном диабете у детей" на базе ВЭНЦ.

С 1965 г. работала ассистентом, а с 1971 г. до последних дней — доцентом на кафедре эндокринологии и диабетологии Российской медицинской академии последилового образования (РМАПО). Александра Михайловна была талантливым педагогом, воспитавшим за 36 лет педагогической деятельности не одно поколение врачей-эндокринологов и преподавателей высшей школы, блестящим врачом, обладавшим громадным клиническим опытом и интуицией.

В течение многих лет Александра Михайловна Грановская-Цветкова являлась членом специализированного ученого совета РМАПО.

А. М. Грановская-Цветкова — автор 6 монографий и более 160 научных работ, опубликованных в отечественных и зарубежных изданиях. Она активно участвовала в международных конгрессах, конференциях, съездах.

Сотрудники кафедры эндокринологии и диабетологии РМАПО, ученики и коллеги понесли невосполнимую утрату, лишившись чуткого, отзывчивого, жизнелюбивого человека, всегда готового прийти на помощь.

Память об Александре Михайловне Грановской-Цветковой навсегда останется в наших сердцах.