

*На правах рукописи*

**РУДЕНКО**

**Татьяна Николаевна**

**ВОЗРАСТНЫЕ АСПЕКТЫ ВЛИЯНИЯ ЭПИТАЛАМИНА  
НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС ПРИ ГИПОКИНЕЗИИ  
И ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ**

**14.00.53. - геронтология и гериатрия**

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук**

**Санкт-Петербург - 2004**

**Работа выполнена на кафедре медико-педагогических дисциплин  
Ростовского государственного педагогического университета МО РФ**

**Научный руководитель:**

доктор биологических наук, профессор  
Арутюнян Александр Вартанович

**Научный консультант:**

кандидат биологических наук, доцент  
Лысенко Алла Викторовна

**Официальные оппоненты:**

доктор биологических наук  
Чалисова Наталия Иосифовна

доктор биологических наук  
Зыбина Наталия Николаевна

**Ведущее научное учреждение:**

Научно-исследовательский институт мозга РАМН (Москва)

Защита диссертации состоится « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2004 года в « \_\_\_\_ » часов на заседании специализированного Совета Д 601.001.01 в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН (197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо, .3).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2004 года

Ученый секретарь  
диссертационного Совета  
кандидат биологических наук



Козина Л.С.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

## Актуальность проблемы

Управление поведением организма в экстремальных условиях является одной из актуальных проблем современной биологии и медицины, причем особое значение придается возрастным особенностям поведенческих реакций на внешние воздействия [Коркушко О.В., Ярошенко Ю.Т., 2002]. Поведение во всей сложности его проявлений является продуктом непрерывных взаимоотношений организма с окружающей средой, поэтому существует тесная взаимосвязь поведенческих реакций со сдвигами гомеостаза, ускоренным старением и гибелью клеток при неблагоприятных внешних воздействиях [Хавинсон В.Х. и соавт., 1999].

Ускоренное старение, характерное для большинства представителей современной человеческой популяции, обусловлено истощением адапционных резервов организма в онтогенезе, протекающем в неблагоприятных природных условиях, при несбалансированном питании, возрастании психоэмоционального напряжения, информационных перегрузок и ограничении двигательной активности [Хавинсон В.Х., Морозов В.Т., 2001]. Систематические и оптимальные по продолжительности и интенсивности физические нагрузки способствуют повышению адапционных возможностей организма и замедлению возрастных нарушений структуры и функции органов и тканей [Коркушко О.В., Ярошенко Ю.Т., 1996]; тогда как чрезмерные приводят к развитию стресс-реакций [Вовк С.И., 2001]. Часто повторяющиеся стрессовые ситуации в значительной мере способствуют развитию преждевременного старения [Фролькис В.В. и соавт., 1998]. К общим нарушениям при стрессе и старении относят изменения поведения, ухудшение памяти, работоспособности, адаптивных возможностей и репродуктивных способностей [Хавинсон В.Х., 1996].

Важнейшими механизмами развития патологических состояний, связанных с возрастной инволюцией или стресс-индуцированным повреждением жизненно важных органов, являются изменение интенсивности процессов свободнорадикального окисления [Harman D., 1992], нарушение синтеза и секреции регуляторных пептидов, а также ослабление чувствительности к ним клеток-мишеней [Erlwander R. et al., 1999]. Именно поэтому современный период развития биологии и медицины характеризуется значительной концентрацией усилий в области создания биорегуляторов на основе пептидов, обладающих антиоксидантными свойствами, изучением возрастных особенностей их эффективности [Ашмарин И.П. и соавт., 1997; Хавинсон В.Х. и соавт., 2003].

Цитомедины, представляющие собой комплексные пептидные препараты, выделенные из различных органов и тканей, с молекулярной массой, в большинстве случаев не превышающей 10 кД, обладают высокой биологической активностью, включая влияние на репродуктивную, нейроэндокринную, иммунную систему, увеличите продолжительности жизни экспериментальных животных и антистрессорные свойства [Хавинсон В.Х., Кветной И.М. и соавт., 2003]. Однако их влияние на структуру поведенческих реакций и механизмы такого влияния остаются малоизученными.



### Цель и задачи исследования

Целью работы явилось изучение механизмов влияния комплексного полипептидного препарата эпифиза эпиталамина на формирование поведения в интактных условиях, при гипокинезии и физической нагрузке у крыс разного возраста, а также разработка биохимических основ его использования для повышения устойчивости организма и коррекции поведенческих сдвигов в условиях экстремальных воздействий.

В соответствии с поставленной целью были определены следующие задачи исследования:

1. Изучить влияние эпиталамина на основные формы поведения интактных и подвергнутых воздействию гипокинезии и физической нагрузки (плавание) животных с высоким уровнем тревожности
2. Исследовать влияние препарата на активность компонентов антиоксидантной защиты с одновременной оценкой функционального состояния мембран коры головного мозга и форменных элементов крови по изменениям параметров системы свободнорадикального окисления (СРО).
3. Выявить тип адаптационной реакции по соотношению форменных элементов белой крови в условиях нормально функционирующего организма и после введения эпиталамина перед началом гипокинезии или плавания.

Научная новизна работы. Впервые установлено, что изменения в структуре поведения и интенсивности СРО в ответ на воздействие гипокинезии скорее развиваются у молодых крыс, по сравнению со старыми. При плавании, напротив, стресс-реакция быстрее развивается у старых животных. Скорость восстановительных процессов после ограничения подвижности или интенсивной физической нагрузки у старых крыс была меньше, чем у молодых. Влияние эпиталамина на поведение животных осуществлялось через модуляцию интенсивности СРО и активности ферментов антиоксидантной защиты. Антистрессорное влияние эпиталамина на основные формы поведения, систему СРО и адаптивные возможности организма у молодых животных было более выражено в условиях истощающей физической нагрузки, тогда как у старых - при действии гипокинезии.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Введение эпиталамина повышает резистентность организма, способствуя развитию состояния «преадаптации» у интактных крыс разного возраста путем развития первой стадии реакции тренировки - ориентировки, что сопровождается увеличением продолжительности поведенческого сна и релаксированного бодрствования и уменьшением реализации всех «активных» форм поведения.
2. Повышение под влиянием эпиталамина адаптивных возможностей организма к действию гипокинезии и физической нагрузки сопровождается специфическими перестройками в реализации основных форм поведения, системе перекисного окисления липидов и формуле «белой» крови в зависимости от возраста животного.
3. Влияние эпиталамина на структуру поведения крыс разного возраста в условиях стрессорного воздействия тесно связано с его эффектом на интенсивность СРО и активность элементов системы антиоксидантной защиты, причем наиболее существенные корреляционные взаимосвязи показателей СРО и форм поведения

обнаружены для активности СОД, МДА, светосуммы и высоты быстрой вспышки хемилюминесценции.

**Теоретическое и практическое значение.** Результаты исследования эпиталамина, расширяют наши представления о молекулярных механизмах действия цитомединов и способствуют пониманию взаимосвязи их антистрессорного и геропротекторного эффекта с влиянием на характер поведения. Полученные данные дополняют ранее известные факты о роли пептидов в механизмах формирования адаптационной стратегии организма и возможности повышения эффективности адаптивного ответа у животных с высоким уровнем тревожности. Полученные в данной работе новые факты о роли свободнорадикальных процессов в реализации поведенческих эффектов эпиталамина являются основанием для эффективного применения препарата при управлении поведением организмов с высоким уровнем тревожности на различных этапах онтогенетического развития

Материалы работы используются при чтении лекций и проведении практических занятий в Ростовском государственном университете и Ростовском государственном педагогическом университете по общей и возрастной физиологии.

**Апробация работы.** Материалы диссертации докладывались на конференции «Актуальные проблемы валеологии, воспитания учащихся в условиях новой концепции физкультурного образования» (Нальчик, 2002), на конференции «Обмен веществ при адаптации и повреждении» (Ростов-на-Дону, 2003) По материалам диссертации опубликовано 5 печатных работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, разделов, содержащих результаты собственных исследований, обсуждения полученных результатов и выводов Библиографический указатель диссертации содержит 205 источников, из них 157 работ отечественных и 48 работ зарубежных авторов. Диссертация изложена на 154 страницах машинописного текста, содержит 22 таблицы и 14 рисунков.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследования проводились на 280 беспородных белых крысах-самцах разного возраста (3 месяца и 14-16 месяцев), содержащихся на стандартном рационе в условиях вивария. С помощью тестов "открытого поля" и вынужденного плавания отбирали животных с высоким уровнем тревожности, отличающихся наибольшей чувствительностью к внешним воздействиям [Буреш Л и соавт, 1991; Арушанян Э.Б , 1990] Животных помещали в индивидуальные экспериментальные камеры (40 x 50 x 50 см) Наблюдения за поведением проводили непрерывно в дневное (естественное освещение) и ночное (фотофонарь) время в весенне-летний период Каждая серия экспериментов начиналась в 9 часов утра после 3 суток адаптации в экспериментальной камере, и данные, полученные в течение третьих суток адаптации, принимали за контроль

Были поставлены следующие серии экспериментов:

1. Моделирование 24-часовой гипокинезии крыс разного возраста в пеналах из оргстекла [Федоров И.В., 1987].
2. Животных разного возраста помещали в условия вынужденного 30-минутного плавания при температуре воды 28-30°C [Усик С.В., Ленкова Н.В., 1981; Лысенко А.В. и соавт., 1997].
3. Введение молодым или старым крысам эпиталамина ежедневно в течение 5 дней через каждые 24 часа (последняя инъекция за сутки до декапитации)
4. Введение эпиталамина крысам разного возраста ежедневно в течение 5 суток, последняя инъекция перед началом гипокинезии
5. Введение эпиталамина крысам разного возраста ежедневно в течение 5 суток, последняя инъекция перед началом плавания
6. В качестве контрольных животных использовали молодых и старых крыс, которым по той же схеме вводили 0,9% NaCl.

Эпиталамин (предоставленный директором Института биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН, Санкт-Петербург, член-корр. РАМН В.Х. Хавинсоном) вводили внутривентрикулярно в 9 часов утра в дозе 0,15 мг/кг массы. Доза препарата и интервалы времени для изучения его действия отработаны в предыдущих исследованиях [Малинин В.В., 2001].

Поведенческий континуум в естественном цикле «активность-покой» состоял из 8 форм поведения: R1 - поведенческий сон, R2 - горизонтальная локомоторная активность, R3 - вертикальная локомоторная активность, R4 - питье воды, R5 - потребление пищи, R6 - разные виды мелкой двигательной активности (топтанье на месте, вздрагивание, принюхивание, поворот головы, движение хвостом и т.д.), R7 - груминг, R8 - релаксированное бодрствование. Длительность R1, R4 - R8 оценивали в минутах и процентах от времени наблюдения. Количественный учет R2 и R3 осуществлялся путем подсчета пройденных животным пронумерованных клеток (10 x 10 см) пола (40 x 50 см) или числа стоек в единицу времени, а затем подсчитывали количество времени, затраченного на горизонтальную и вертикальную локомоцию [Verbitzky E., 1998]

Интенсивность СРО оценивали в коре головного мозга, плазме крови и эритроцитарном лизате по следующим параметрам: активность супероксиддисмутазы (СОД) [Winterborn R. et al., 1975], каталазы [Королюк М.А. и соавт., 1988], церулоплазмينا (ЦП) [Колб В.Г., Камышников В.С., 1982], количество малонового диальдегида (МДА) [Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г., 1977], суммарная пероксидазная активность (СПА) [Покровский А.А., 1969], уровень внеэритроцитарного гемоглобина (ВЭГ) [Меньшиков В.В., 1987]. Интенсивность H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-люминолзависимой хемилюминесценции (ХЛ) определяли по светосумме свечения за 100 секунд (Sm) и высоте (H) быстрой вспышки [Шестаков В.А. и соавт., 1972]. Фиксацию мазков крови проводили раствором эозинметиленового синего по Маю - Грюнвальду, окраску - по Романовскому - Гимзе [Меньшиков В.В., 1987]. Количество форменных элементов в лейкоцитарной формуле выражали в процентах от общего числа лейкоцитов.

Полученные в экспериментах результаты подвергали статистической обработке [Лакин Г.Ф., 1990]. Анализ данных проводился в среде интегрированных пакетов статистических программ «Statistica» версия 5.5а. Использовали t-критерий Стьюдента для независимых выборок и корреляционный анализ

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### *Влияние эпиталамина на поведение и тип адаптационной реакции у крыс разного возраста*

При изучении типа адаптационной реакции по соотношению элементов лейкоцитарной формулы установлено (рис.1), что введение эпиталамина *молодым и старым* крысам с высоким уровнем тревожности повышает резистентность организма, способствуя формированию состояния «преадаптации» путем развития первой стадии реакции тренировки - ориентировки.

Для стадии ориентировки характерно повышение количества сегментоядерных нейтрофилов, смещение числа лимфоцитов до нижней половины зоны нормы (45-60%) при неизменном количестве эозинофилов, моноцитов и палочкоядерных нейтрофилов. При такой реакции действующий раздражитель воспринимается как слабый, а повышение резистентности происходит при незначительных сдвигах метаболизма и развитии в ЦНС превентивного торможения [Гаркави Л.Х. и соавт., 1990], что согласуется с обнаруженными нами изменениями в структуре поведения животных после введения эпиталамина.

Учитывая тип ответной реакции организма на введение эпиталамина (определенный по формуле «белой» крови), изменения продолжительности основных форм поведения молодых и старых крыс, зарегистрированные нами после 5-кратного введения изучаемого препарата, можно признать адаптивными. Наблюдаемое у крыс обеих возрастных групп увеличение продолжительности поведенческого сна и релаксированного бодрствования согласуется с данными о развитии на стадии ориентировки в ЦНС торможения с преобладанием в ЭЭГ медленных дельта-волн [Гаркави Л.Х. и соавт., 1990].

С развитием торможения и усилением влияния эпифиза на деятельность супрахиазматических ядер гипоталамуса и стриатума может быть связано и наблюдаемое уменьшение реализации всех «активных» форм поведения (R2-R7) после введения эпиталамина как у молодых, так и у старых животных. Особенно важным эффектом введения эпиталамина нам представляется преимущественное уменьшение продолжительности мелкой двигательной активности и груминга, реализация которых более выражена именно у «*высокотревожных*» животных (Батуев А.С., 1986; Новиков В.С. и соавт., 1995).

Однако необходимо отметить и возрастные особенности влияния эпиталамина на структуру поведения крыс с высоким уровнем тревожности

1. Если у молодых крыс продолжительность сна после введения эпиталамина увеличивалась и в дневной, и в ночной период, то у старых - только ночью.
2. Если вертикальная локомоторная активность у молодых была снижена на протяжении практически всего эксперимента (включая первые сутки после окончания инъекций), то у старых на третьи сутки после окончания инъекций препарата в ночное время она достоверно увеличивалась
3. Снижение продолжительности мелкой двигательной активности было более выражено у молодых крыс на протяжении практически всего эксперимента и только к его окончанию становилось равнозначным у молодых и старых крыс.
4. Продолжительность груминга снижалась только у старых крыс, причем лишь в дневной период.

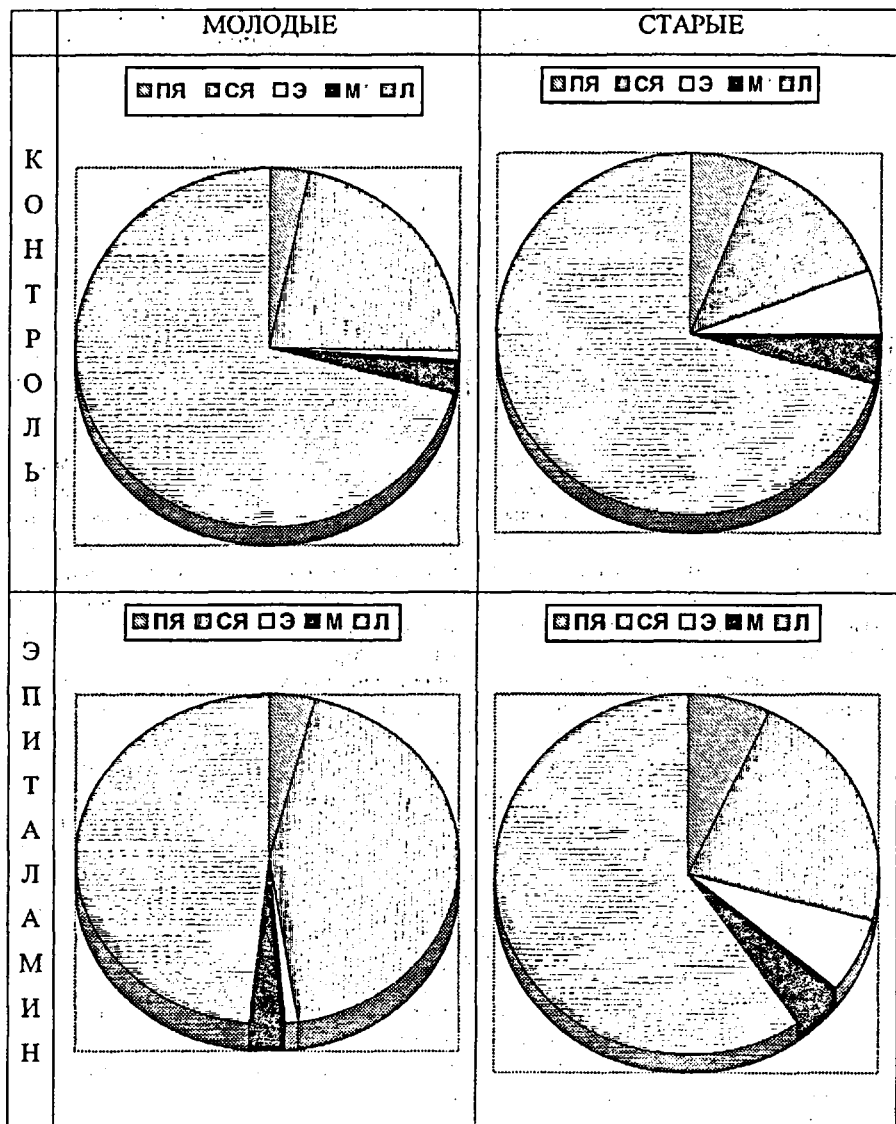


Рис.1. Лейкоцитарная формула крыс в % от общего числа лейкоцитов (А): ПЯ – палочкоядерные нейтрофилы, СЯ – сегментоядерные нейтрофилы, Э – эозинофилы, М – моноциты, Л – лимфоциты



5. Увеличение продолжительности релаксированного бодрствования у старых крыс начиналось позже, чем у молодых, но сохранялось до конца эксперимента, и было несколько более выражено по сравнению с молодыми животными.

Уменьшение продолжительности потребления пищи на фоне введения эпиталамина было практически равнозначным у крыс обеих возрастных групп. Вероятно, такой эффект может быть следствием обнаруженного снижения двигательной активности, а также может быть связан со способностью препарата (как и мелатонина) уменьшать температуру тела [Хавинсон В.Х., Голубев А.Г., 2002].

Известно, что геропротекторные свойства и влияние многих пептидных препаратов на структуру поведения и тип адаптационной реакции тесно связаны с их воздействием на интенсивность свободнорадикального окисления и активность системы антиоксидантной защиты [Коркушко О.В. и соавт., 2002; Лысенко А.В. и соавт., 2003].

Нами установлено, что повышение резистентности организма и формирование адаптивного поведения при введении эпиталамина интактным крысам было, в частности, обусловлено его антиоксидантными свойствами, что выразалось:

- у *молодых* снижением образования продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в коре головного мозга и плазме крови, на что указывало достоверное и довольно существенное уменьшение уровня МДА, светосуммы и высоты быстрой вспышки ХЛ, а также активацией СОД в мозге и эритроцитах;
- у *старых* уменьшением показателя светосуммы ХЛ в плазме крови и снижением уровня МДА в коре головного мозга, а также увеличением оксидантной активности церулоплазмينا в плазме крови и активацией СОД в мозге.

### ***Основные формы поведения и интенсивность про- и антиоксидантных систем у крыс разного возраста при гипокинезии***

У крыс разного возраста в условиях гипокинезии наблюдалась ответная реакция организма по типу стресса, однако скорость ее развития и продолжительность процессов восстановления, определенные по лейкоцитарной формуле, в значительной степени зависели от возраста экспериментальных животных, а в каждой возрастной группе от продолжительности и вида воздействия... .

Молодые крысы с высоким уровнем тревожности воспринимали ограничение подвижности как чрезвычайное воздействие, и их лейкоцитарная формула уже через час соответствовала стадии тревоги острого стресса, через 6 часов - стадии резистентности, а через 24 часа появлялись признаки перехода стресс-реакции в стадию истощения.

При ограничении подвижности у старых крыс по сравнению с молодыми развитие стресс-реакции происходило более медленно: только через 24 часа после начала гипокинезии лейкоцитарная формула свидетельствовала о развитии стадии

тревоги острого стресса. Возможно, именно поэтому во время гипокинезии наибольшие сдвиги в реализации основных форм поведения отмечались у молодых животных (рис. 2). Запаздывание стресс-реакции у стареющих животных многие авторы связывают со снижением содержания в структурах мозга биогенных аминов (Бажанова Е.Д., 1998) и уменьшением плотности аднерорецепторов (Burnett F. et al., 1990). О большем латентном периоде развития стресс-реакции у старых крыс свидетельствуют и результаты исследования активности про- и антиоксидантных систем при гипокинезии.

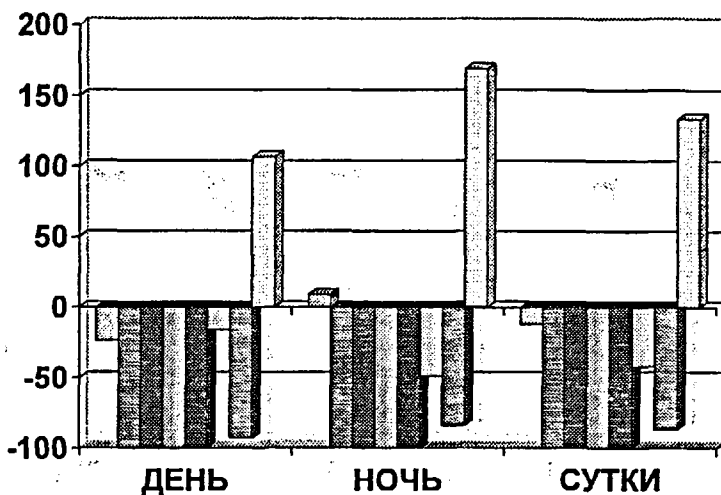
Если после окончания 24-часовой гипокинезии у молодых крыс наблюдается сдвиг равновесия в сторону интенсификации процесса ПОЛ, то у старых отмечается преимущественная активация ферментов антиоксидантной защиты (каталазы и СОД). Это согласуется с представлениями других авторов о том, что в первую стадию острого стресса наблюдается ингибирование ПОЛ, а активация происходит позже на фоне истощения компонентов антирадикальной защиты [Ерин А.Н., Гуляева Н.В., 1994]. При гипокинезии нами установлено и повышение количества пробуждений, особенно у старых крыс, что можно объяснить увеличением вероятности спонтанной внутренней десинхронизации, восстанавливающейся в процессе старения [Ашофф Ю., 1984]. Скорость восстановительных процессов после гипокинезии у старых крыс также была меньше, чем у молодых, о чем свидетельствовало соотношение форменных элементов в лейкоцитарной формуле. Если через сутки после гипокинезии у старых крыс регистрировалась реакция повышенной активации (по характеристикам близкой к стрессу), а через трое суток - реакция спокойной активации, то у молодых крыс через сутки после гипокинезии лейкоцитарная формула соответствовала реакции спокойной активации, а через трое суток - стадии ориентировки реакции тренировки.

Вероятно, более медленным развитием ответных реакций организма на воздействие гипокинезии объясняются более длительные изменения в структуре поведения старых крыс, сохраняющиеся даже по прошествии трех суток после окончания стрессорного воздействия. Так, на 1-е сутки после гипокинезии у *молодых* крыс при уменьшении продолжительности сна увеличивается реализация вертикальной и горизонтальной локомоции, пищевого и питьевого поведения, что может быть компенсаторной реакцией на снижение времени мелкой двигательной активности и груминга (рис. 2). На 3-й сутки после окончания стрессорного воздействия у молодых крыс большинство поведенческих изменений, вызванных гипокинезией, нормализуется. Но суммарно за 24 часа последнего дня эксперимента продолжительность груминга и мелкой двигательной активности остается сниженной, а релаксированного бодрствования повышенной (рис. 3).

Поскольку двигательные реакции непосредственно направлены на уменьшение напряжения вегетативных гомеостатирующих систем (кровообращения, дыхания и др.) и снижение отрицательного влияния неспецифических проявлений стресса [Батуев А.С., 1986], перестройки поведения молодых крыс после гипокинезии можно считать адаптивными.

По этим же причинам продолжающаяся редукция вертикальной и горизонтальной локомоции у *старых крыс* на протяжении трех суток после гипокинезии может привести к срывам высшей нервной деятельности, особенно у организмов с высоким уровнем тревожности.

А:



Б:

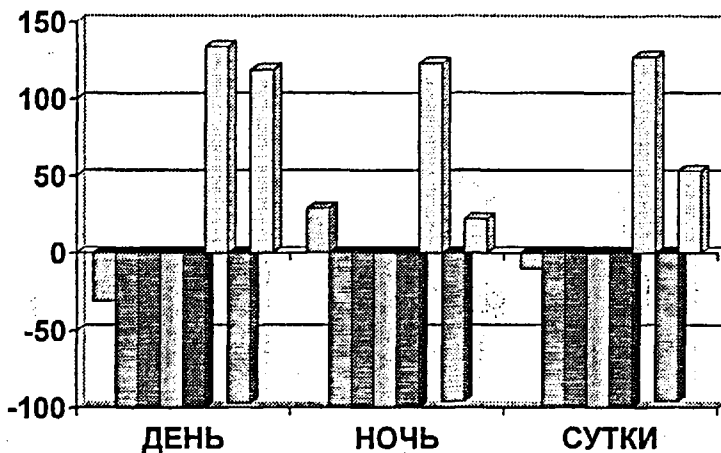
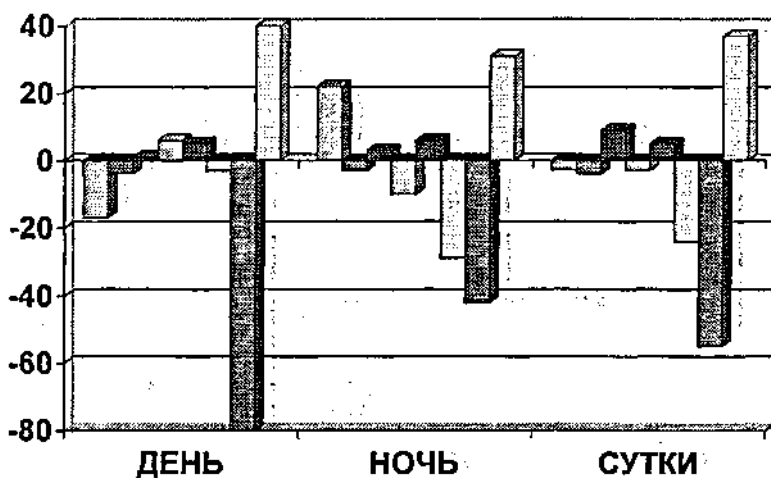


Рис. 2. Реализация основных форм поведения в цикле бодрствование-сон во время гипокинезии (в % к контрольному уровню). А - молодые крысы, Б - старые крысы. Очередность столбцов в каждой из групп (день, ночь, сутки) слева направо: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8.

А:



Б:

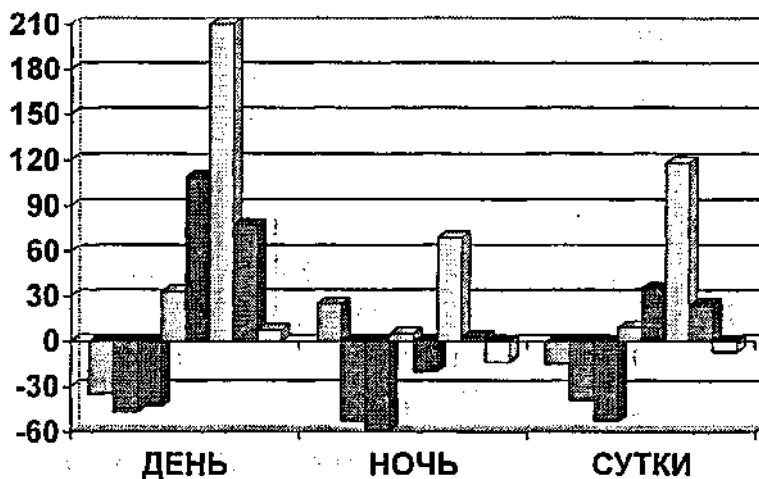


Рис. 3. Реализация основных форм поведения в цикле бодрствование-сон на третьи сутки после окончания гипокинезии (в % к контрольному уровню). А - молодые крысы, Б - старые крысы. Очередность столбцов в каждой из групп (день, ночь, сутки) слева направо: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8.

Именно снижение двигательной инициативы является характерным последствием акинезии из-за повреждения механизмов интеграции эмоционально-мотивационных и двигательных функциональных систем [Голубев В.Л., 1999].

В связи с этим увеличение продолжительности пищевого поведения и мелкой двигательной активности у *старых крыс* на 1-е (рис. 2) и 3-й сутки (рис. 3) после окончания обездвиживания (особенно в дневной период в 2,5 - 3 раза) может носить как компенсаторный характер, так и мотивироваться определенным уровнем страха и выступать помехой защитной деятельности. Повышение времени гриминга у старых крыс после обездвиживания, скорее всего, связано с его защитной функцией: снижением общего уровня возбуждения. Кроме того, одним из последствий гипокинезии явилась инверсия цикла «активность-покой», зарегистрированная у животных обеих возрастных групп и выражавшаяся не только в перераспределении различных форм двигательной активности между дневным и ночным временем суток, но и в увеличении продолжительности сна ночью и его уменьшении днем. Такая инверсия может быть результатом описанных нами ранее сдвигов баланса моноаминов в отделах головного мозга старых и молодых крыс и нарушений циркадной ритмики выброса серотонина, который не только сам участвует в регуляции смены отдельных стадий сна и бодрствования, но и является метаболическим предшественником мелатонина [Лысенко А.В. и соавт., 2001].

Таким образом, несмотря на то, что во время обездвиживания наиболее сильные поведенческие и метаболические нарушения регистрировались у молодых крыс, последствия гипокинезии оказались более тяжелыми для старых животных.

Такое утверждение можно сделать на основании более выраженных и продолжительных поведенческих и метаболических изменений у старых крыс. Это позволяет заключить, что молодые животные лучше, по сравнению со старыми животными, адаптировались к гипокинетическому стрессу.

Приспособительные возможности организмов в большой степени обеспечиваются высокой реактивностью ЦНС [Хайдарлиу С.Х., 1984] в основном за счет изменения эффективности синаптической передачи [Воронин Л.Л., 1982]. Снижение с возрастом пластических свойств нейрональных и глиальных компонентов в совокупности с изменением активности про- и антиоксидантных систем может быть причиной более сильных и длительных нарушений структуры поведения у старых крыс.

### *Основные формы поведения и интенсивность про- и антиоксидантных систем у крыс разного возраста при физической нагрузке*

В противоположность гипокинезии, многие авторы рассматривают систематическую и оптимальную по продолжительности и интенсивности физическую нагрузку как антистрессорный фактор, способствующий повышению адаптационных возможностей организма и замедлению возрастных нарушений структуры и функции органов и тканей [Hecht et al., 1973; Коркушко О.В., Ярошенко Ю.Т., 1996].

В нашем эксперименте после 30-минутного плавания у молодых и старых крыс наблюдалось развитие стресс-реакции. Лейкоцитарная формула молодых крыс сразу после плавания соответствовала стадии тревоги острого стресса, а у

старых указывала на истощение глюкокортикоидной функции коры надпочечников, что позволяет рассматривать данную нагрузку для старых крыс как истощающую.

Это подтверждалось и при наблюдении за поведением: у старых крыс во время плавания продолжительность активной горизонтальной локомоции была в 2 раза меньше, чем у молодых; старые животные много раз тонули, у 90% из них наблюдалось кровотечение из глаз и носа. Более того, 10% старых животных, принимавших участие в эксперименте, погибли или сразу после окончания плавания или 10 минут спустя.

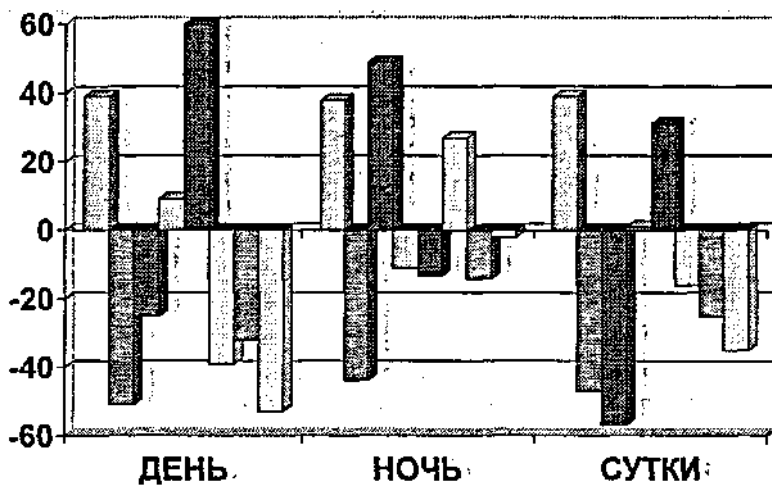
Таким образом, в противоположность гипокинезии, при плавании стресс-реакция быстрее развивается у старых животных. Вероятно, это связано с тем, что старые крысы воспринимают истощающую физическую нагрузку, которая, безусловно, содержит в себе элемент гипоксии [Бобков Ю. Г. и соавт., 1987] как системный стимул по классификации Nerman J.P., Cullinan W.E. [1997]. Напротив, для молодых и гипокинезия, и плавание являются процессивными стимулами, не содержащими в себе немедленной угрозы для выживания [Sapolsky P. et al., 1996; Альперович Д.В. и соавт., 1999]. В пользу такого предположения свидетельствуют результаты исследования интенсивности процессов ПОЛ в тканях крыс разного возраста после физической нагрузки. Активация свободнорадикального окисления наблюдалась преимущественно в крови животных обеих возрастных групп, а степень интенсификации ПОЛ была значительно выше у старых крыс по сравнению с молодыми и сопровождалась более существенной (судя по уровню ВЭГ и СПА) лабилизацией эритроцитарных и лейкоцитарных мембран.

Незначительное накопление МДА в коре головного мозга молодых крыс при плавании сопровождалось активацией СОД и каталазы. Умеренная активация ПОЛ в мозге может быть направлена на увеличение адаптивной пластичности нервной ткани [Matson M., 1998], так как способствует появлению в микроокружении интегральных мембранных белков лизоформ липидов, обладающих детергентным действием, что вызывает увеличение подвижности полипептидной цепи и повышение каталитической активности мембранносвязанных ферментов [Архипенко Ю.В. и соавт., 1982].

Известно, что при плавании интенсификация ПОЛ отмечается преимущественно в митохондриальных мембранах [Лысенко А.В. и соавт., 1999]. Поэтому на основании участия интермедиатов ПОЛ в сопряжении окисления и фосфорилирования [Мажуль Л.М. и соавт., 1990] можно предположить, что наблюдаемые изменения направлены на улучшение снабжения нервной ткани кислородом в условиях преимущественной его поставки в работающие мышцы.

Умеренная активация ПОЛ в крови *молодых крыс* при физической нагрузке сопровождалась увеличением содержания церулоплазмينا, повышением активности СОД в эритроцитах и каталазы в плазме крови и эритроцитах. В литературе описано [Волчегорский И.А. и соавт., 1996] положительное влияние циркулирующих в крови липопероксидов на гемодинамику спортсменов, а также наличие отрицательной корреляции между уровнем всех циркулирующих продуктов ПОЛ и минимальным артериальным давлением и положительной связи с минутным объемом кровообращения и максимальным потреблением кислорода (МПК).

А:



Б:

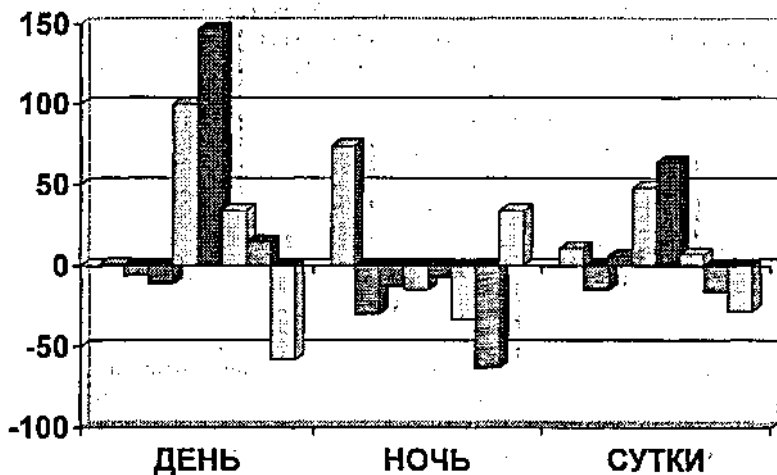


Рис.4. Реализация основных форм поведения в цикле бодрствование-сон на третьи сутки после окончания плавания (в % к контрольному уровню). А - молодые крысы, Б - старые крысы. Очередность столбцов в каждой из групп (день, ночь, сутки) слева направо: R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8.

Такие взаимосвязи свидетельствуют о вазодилаторном эффекте липопероксидов, который наблюдается после кратковременного вазоконстрикторного действия продуктов ПОЛ на сосудистую стенку [Hodgson C. et al., 1977]. Увеличение МПК считают показателем усиления аэробных возможностей организма и роста работоспособности, поэтому усиление ПОЛ в крови *молодых крыс* при плавании следует рассматривать как элемент срочной адаптации, а активацию антиоксидантной системы как предупреждение превращения адаптивного эффекта стресса в повреждающий.

Интенсификация ПОЛ в тканях *старых крыс* при физической нагрузке сопровождалась активацией ферментов антиоксидантной защиты, степень которой была недостаточной, что проявлялось в установленных нами более сильных и длительных нарушениях структуры поведения у старых крыс после физической нагрузки (рис.4).

### *Влияние эпиталамина на поведение крыс разного возраста и активность и активность их про- и антиоксидантных систем при гипокинезии и физической нагрузке*

Введение *эпиталамина* перед началом гипокинезии и плавания препятствовало развитию стресс-реакции и способствовало ее замене на менее расточительные в энергетическом и структурном плане (без повреждения) варианты резистентной стратегии адаптации:

- у *молодых крыс* в условиях *24-часовой гипокинезии* на фоне введения эпиталамина развивалась наименее интенсивная разновидность резистентной стратегии адаптации - реакция тренировки и лейкоцитарная формула соответствовала ее первой стадии - ориентировки, что свидетельствовало о переходе данного чрезвычайного раздражителя в разряд слабых. Поведенческим проявлением этого типа адаптационной реакции было преобладание сна и релаксированного бодрствования в цикле бодрствование-сон при гипокинезии на фоне предварительного введения эпиталамина:

- у *старых крыс* при *гипокинезии* на фоне введения эпиталамина лейкоцитарная формула соответствовала реакции первичной активации, то есть организм старых крыс после инъекций эпиталамина отвечал на воздействие гипокинезии как на раздражитель средней силы. Умеренное физиологическое возбуждение в ЦНС, характерное для реакции активации, проявлялось и в изменении структуры поведения старых животных: во время ограничения подвижности в клетках-пеналах на фоне введения эпиталамина значительно усиливалась мелкая двигательная активность;

- при *плавании* на фоне введения эпиталамина лейкоцитарная формула *молодых крыс* соответствовала стадии первичной активации, а у старых - реакции повышенной активации, которая по характеристикам близка к реакции стресса.

Изменение типа адаптационной реакции на фоне введения эпиталамина нашло свое отражение и в более быстром восстановлении структуры поведения после стрессорного воздействия (рис. 5):

1. - к концу третьих суток после окончания *гипокинезии* у *молодых крыс* остается повышенной реализация поведенческого сна при нормализации доли релаксированного бодрствования и остается сниженной продолжительность



мелкой двигательной активности Нормализуется представленность груминга и потребления пищи, вероятно, за счет пониженной реализации вертикальной и горизонтальной локомоции;

2. - на третьи сутки после окончания гипокинезии все показатели поведенческой активности *старых крыс* возвращались к уровню контроля, за исключением сниженной реализации вертикальной локомоции и повышенной продолжительности мелкой двигательной активности;
3. - введение эпиталамина способствовало восстановлению структуры поведения *молодых крыс* на третьи сутки после окончания физической нагрузки за исключением сохранения повышенного уровня реализации пищевого поведения ночью и суммарно за 24 часа, тогда как днем продолжительность потребления пищи не отличалась от контроля;
4. - на третьи сутки после плавания на фоне инъекций эпиталамина наблюдалось практически полное восстановление характера поведения *старых крыс* за исключением остающейся повышенной реализации релаксированного бодрствования.

Влияние эпиталамина на поведение крыс разного возраста в условиях стрессорного воздействия было тесно связано с его влиянием на интенсивность ПОЛ и активность элементов системы антиоксидантной защиты (рис. 6). Введение эпиталамина перед гипокинезией способствовало нормализации интенсивности ХЛ в плазме крови молодых и коре головного мозга старых крыс. Содержание МДА в коре головного мозга крыс обеих возрастных групп при гипокинезии на фоне инъекций эпиталамина не только не увеличивалось (как при стрессе), но даже снижалось по сравнению с уровнем контроля. Введение эпиталамина, не влияя на уровень ВЭГ и СПА в плазме крови старых крыс, препятствовало нарушению структуры и проницаемости мембран эритроцитов и лейкоцитов молодых крыс, судя по нормализации содержания ВЭГ и уменьшению СПА в их плазме крови по сравнению с показателями при гипокинезии без введения препарата.

Антистрессорный (определенный по лейкоцитарной формуле), мембраностабилизирующий (по уровню ВЭГ и СПА) и адаптогенный (по влиянию на структуру поведения) эффект эпиталамина при гипокинезии был обусловлен следующими сдвигами в интенсивности антиоксидантных процессов по сравнению с показателями в условиях ограничения подвижности без введения препарата:

1. активацией церулоплазмينا в плазме крови крыс обеих возрастных групп,
2. повышением активности СОД в эритроцитах молодых крыс,
3. поддержанием активности каталазы и СОД в мозге крыс обеих возрастных групп на высоком уровне (ниже, чем при стрессе, но выше по сравнению с уровнем контроля).

Введение эпиталамина перед началом плавания способствовало возвращению до уровня контрольных величин показателей ХЛ в коре головного мозга крыс обеих возрастных групп. В плазме крови нормализация интенсивности ХЛ наблюдалась только у молодых крыс, а у старых достоверно снижалась по сравнению с уровнем при плавании, но оставалась выше контрольных величин (рис 6)

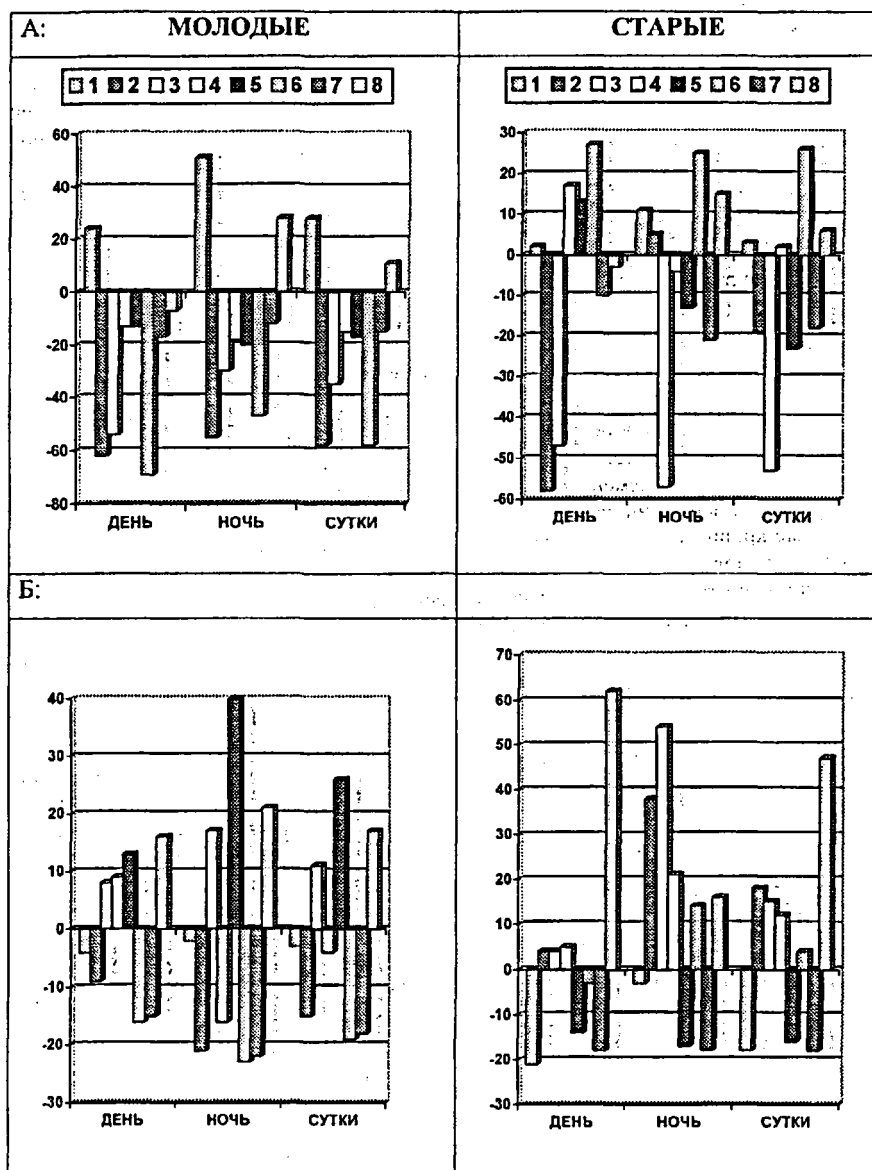


Рис. 5. Влияние этилгамма на реализацию основных форм поведения в цикле бодрствование-сон на третьи сутки после окончания гипокнезии (А) и плавания (Б). Очередность столбцов в группах (день, ночь, сутки) слева направо: 1- R1, 2 - R2, 3- R3, 4- R4, 5 - R5, 6 - R6, 7 - R7, 8 - R8.

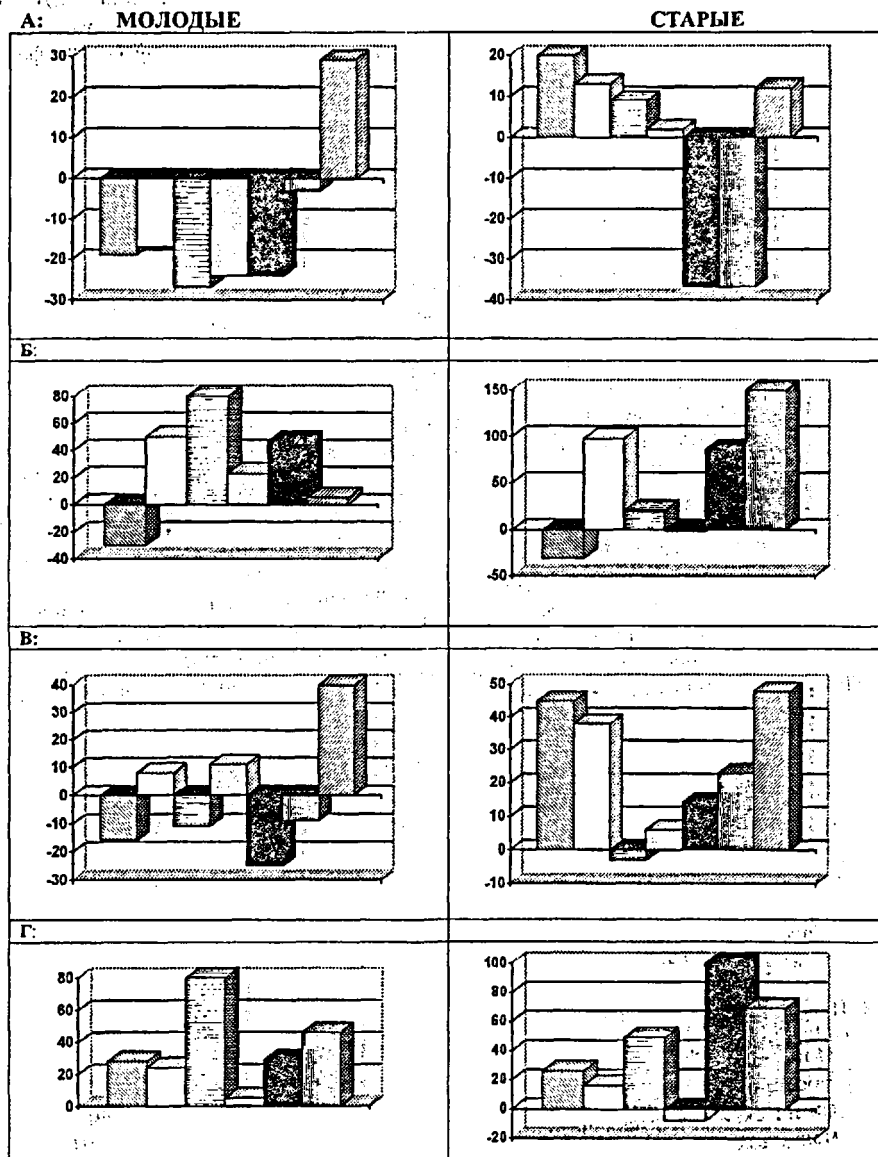


Рис.6. Влияние эпиталамина на интенсивность ПОЛ (А, В) и активность антиоксидантной защиты (Б, Г) при гипокнезии (А, Б) и плавании (В, Г). Очередность столбцов(слева направо) в А, В: *Sm ХЛ* в плазме, *Н ХЛ* в плазме, *Sm Хл* в мозге, *Н ХЛ* в мозге, *МДА*, *ВЭГ*, *СПА*; в Б,Г: *ЦП*, *СОД* (мозг), *СОД* (эритроциты), *каталаза* (плазма), *каталаза* (мозг), *каталаза* (эритроциты)

Кроме того, введение эпиталамина препятствовало накоплению МДА в ткани коры головного мозга старых и молодых животных, вызванного стрессорной физической нагрузкой. Содержание ВЭГ при физической нагрузке на фоне инъекций эпиталамина полностью возвращалось к уровню контрольных значений у молодых крыс и несколько уменьшалось у старых по сравнению с уровнем при плавании. Нарастание СПА при плавании на фоне введения эпиталамина было также менее интенсивным по сравнению со значениями, определенными у животных обеих возрастных групп при стрессорной физической нагрузке без предварительного введения препарата, однако у молодых и старых крыс уровень СПА еще превышал контрольные значения.

Торможение вызванного стрессорной физической нагрузкой усиления процессов ПОЛ в тканях крыс разного возраста при плавании на фоне предварительных инъекций эпиталамина было обусловлено:

1. у молодых активацией каталазы в гемолизате эритроцитов по сравнению с уровнем при плавании без предварительного введения препарата и сохранением повышенного содержания церулоплазмينا в плазме крови;
2. у старых усилением активности каталазы в коре больших полушарий головного мозга и сохранением повышенной активности фермента в гемолизате эритроцитов и увеличенного содержания церулоплазмينا в плазме крови

Таким образом, на основании проведенного исследования можно заключить, что антистрессорный эффект эпиталамина более выражен при гипокинезии, особенно у старых животных. На это указывает не только тип адаптационной реакции (определенный по соотношению элементов в лейкоцитарной формуле), мембраностабилизирующий эффект и уровень МДА, но и сохранившиеся на третьи сутки после окончания стрессорного воздействия адаптивные перестройки в характере поведения (пониженная реализация мелкой двигательной активности). Эффективность эпиталамина в условиях физической нагрузки была ниже, но стресс-протекторное действие лучше проявлялось у молодых животных, по сравнению со старыми животными.

## ВЫВОДЫ

1. Введение эпиталамина повышает резистентность организма, способствует развитию состояния «преадаптации» у интактных крыс разного возраста путем развития первой стадии реакции тренировки - ориентировки. Это сопровождается уменьшением реализации вертикальной и горизонтальной локомоторной активности и потребления пищи. На снижение уровня тревожности указывает увеличение продолжительности поведенческого сна и релаксированного бодрствования, сокращение времени, затраченного на мелкую двигательную активность и гриминг.
2. Изменения в характере поведения и интенсивности ПОЛ в ответ на воздействие гипокинезии быстрее развиваются у молодых крыс по сравнению со старыми. При плавании стресс-реакция быстрее развивается у старых животных. Восстановительные процессы после ограничения подвижности или интенсивной физической нагрузки протекали у старых крыс с меньшей скоростью, чем у молодых.

3. В условиях гипокинезии и физической нагрузки предварительное введение эпиталамина препятствовало развитию стресс-реакции, способствуя ее замене на более эффективные и экономичные варианты резистентной стратегии адаптации. Об этом свидетельствует формула «белой» крови, стабилизация мембран эритроцитов и лейкоцитов (судя по величине ВЭГ и СПА), снижение уровня продуктов ПОЛ, активация антиоксидантной защиты и перестройки в реализации основных форм поведения, специфичность и интенсивность которых зависела от возраста животного.
4. Антистрессорное влияние эпиталамина на основные формы поведения, систему ПОЛ и адаптивные возможности организма у молодых животных было более выражено в условиях истощающей физической нагрузки, тогда как у старых - при действии гипокинезии. Влияние эпиталамина на поведение животных осуществлялось через модуляцию интенсивности ПОЛ и активности ферментов антиоксидантной защиты.
5. Полученные результаты позволяют рассматривать эпиталамин в качестве перспективного препарата для управления поведенческими реакциями в условиях экстремальных воздействий на организм.

#### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Взаимосвязь антиоксидантного и антимутагенного эффектов эпиталамина и коротких пептидов / Килинкарлова Н.Н., Руденко Т.Н., Менджерицкая Л.Г. // Материалы 2-й конференции молодых ученых «Обмен веществ при адаптации и повреждении» - Ростов-на-Дону: РГМУ, 2003.- С. 54-55.
2. Действие пирасетама на интенсивность свободнорадикальных процессов как механизм реализации антимутагенного и антистрессорного эффекта/ Лысенко А.В., Менджерицкий А.М., Фатеева Л.В., Руденко Т.Н., Менджерицкая Л.Г. // Нейрохимия. - 2003.- Т. 20, №2.- С. 127-132.
3. Применение пептидов для коррекции структурно-функциональных нарушений при гипокинезии/ Лысенко А.В., Килинкарлова Н.Н., Руденко Т.Н., Фатеева Л.В., Менджерицкий А.М. // Нейрохимия.- 2003.- Т. 20, №3.- С. 218 - 227.
4. Цитомедины и их роль в регуляции физиологических функций в онтогенезе/ Руденко Т.Н., Лысенко А.В., Елфимова Н.К. // Наука и образование.- 2003.- №2.- С. 247-252.
5. Эффективность ноотропов при физической нагрузке/ Лысенко А.В., Бондин В.И., Руденко Т.Н., Островская Р.У. // В сб.: Актуальные проблемы валеологии, воспитания учащихся в условиях новой концепции физкультурного образования. - Нальчик, изд-во КБГУ, 2002.-С. 100-101.

*Руденко Т.Н.* Возрастные аспекты влияния эпиталамина на поведение крыс при гипокинезии и физической нагрузке // Автореф. дис. канд. биол. наук: 14.00.53.-СПб.,2004.-21с.

---

Формат 60x84 1/8. Объем 1,0 усл. п.л.

Тираж 100 экз. Заказ 03-08. Бесплатно.

Подписано к печати 20.12.2003.

Отпечатано с готового оригинал-макета

Издательство «Система».



№ 1552

РНБ Русский фонд

2004-4

26991