

*На правах рукописи*

**КРАСНОВА**

**Наталья Александровна**

**ВОЗРАСТНЫЕ АСПЕКТЫ СТРЕСС-ПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ  
ТЕТРАПЕПТИДА У КРЫС С ВЫСОКИМ УРОВНЕМ ТРЕВОЖНОСТИ**

**14.00.53 - геронтология и гериатрия**

**А в т о р е ф е р а т**

**диссертации на соискание ученой степени**

**кандидата медицинских наук**

**Санкт-Петербург - 2005**

Работа выполнена в лаборатории возрастной клинической патологии  
Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии  
Северо-Западного отделения РАМН,  
на кафедре анатомии, физиологии и гигиены Ростовского государственного  
педагогического университета Министерства образования и науки РФ

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук  
Рыжак Галина Анатольевна

кандидат биологических наук, доцент  
Лысенко Алла Викторовна

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук  
Малинин Владимир Викторович

доктор медицинских наук, профессор  
Горанчук Валерий Валентинович

**Ведущее научное учреждение:**

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН (Санкт-Петербург)

Защита диссертации состоится 28 02 2005 года в 13 часов  
на заседании диссертационного Совета Д 601.001.01 в Санкт-Петербургском  
институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН  
по адресу: 197110, Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3.

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

Автореферат разослан 28 02 2005 г.

Ученый секретарь  
диссертационного Совета,  
кандидат биологических наук, доцент



Козина Л.С.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Актуальность проблемы**

Издавна человечество применяло различные лекарственные средства (растительного, животного происхождения, а с развитием науки и медицины – синтетические препараты) для лечения и предупреждения заболеваний, повышения физической подготовленности и сопротивляемости организма к действию неблагоприятных факторов, что способствовало сохранению человека как вида [Кузнецов И.Н., Купрейчик С.К., 2001].

Использование здоровыми людьми лекарственных препаратов увеличилось в последние 30-40 лет в связи с резким усложнением условий существования человека, особенно в сферах деятельности, требующих высоких нервно-психических и физиологических напряжений: космос, авиация, военные конфликты, горные, подземные и подводные работы, экспедиции, современный спорт [Новиков В.С. и соавт., 1998].

Ускоренное старение, характерное для большинства населения развитых стран, обусловлено истощением адаптационных резервов организма в онтогенезе, протекающем в неблагоприятных природных условиях, при несбалансированном питании, возрастании психоэмоционального напряжения, информационных перегрузок и ограничении двигательной активности [Хавинсон В.Х, Анисимов В.Н., 2003].

Индивидуальная устойчивость организма в экстремальных ситуациях и преимущественные типы адаптационных реакций на внешние раздражения являются генетически детерминированными и передаются по наследству [Гуляева Н.В., Степаничев М. Ю., 1997]. Существует прямая взаимосвязь вышеуказанных параметров с индивидуально-типологическими особенностями поведения, типом высшей нервной деятельности, уровнем тревожности и др. [Вербичий Е.В., 2003].

При резком ухудшении психической и физиологической адаптации у особей с низкой устойчивостью к экстремальным воздействиям возможно глубокое нарушение функций всех систем организма, что является причиной стремления некоторых индивидов искусственным способом улучшить свое психическое и физическое состояние. Использование с этой целью лекарственных веществ требует особой осторожности, так как многие препараты могут обладать опасными побочными эффектами (в том числе такими, как привыкание и зависимость).

Отсюда вытекает огромная роль профилактики и своевременной коррекции метаболических и психологических нарушений, возникающих в организме при экстремальных воздействиях, физическом или психическом утомлении. В связи с этим вполне объясним повышенный интерес к использованию средств, нормализующих и ускоряющих восстановительные процессы, но не приводящих к развитию болезни или зависимости. В этом плане перспективным является использование биологически активных пептидов, адаптогенный эффект которых при экстремальных воздействиях на организм хорошо известен [Хавинсон В.Х. и соавт., 2003]. Кроме того, есть

данные о способности пептидов влиять на уровень тревожности и выбор организмом адаптационной стратегии при экстремальном воздействии [Лысенко А.В. и соавт., 2001; Фатеева Л.В., 2002; Демьяненко С.В., 2003; Руденко Т.Н., 2004].

Короткие пептиды (от 2 до 10 аминокислотных остатков) обладают более высокой биологической активностью (влияние на репродуктивную, нейроэндокринную, иммунную системы, увеличение продолжительности жизни экспериментальных животных и антистрессорные свойства) по сравнению с их высокомолекулярными предшественниками [Хавинсон В.Х., Мыльников С.В., 2000; Малинин В.В., 2001]. Однако сведения относительно возрастных особенностей их влияния на адаптационные возможности организмов с различным уровнем тревожности остаются фрагментарными.

В связи с вышеизложенным **целью работы** явилось изучение механизмов стресс-протекторного действия короткого олигопептида кортагена при ограничении подвижности у молодых и старых крыс с высоким уровнем тревожности.

В соответствии с поставленной целью были определены следующие **задачи исследования**:

1. Изучить влияние кортагена на основные формы поведения интактных и подвергнутых воздействию гипокинезии 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.
3. Выявить тип адаптационной реакции по соотношению форменных элементов белой крови после введения кортагена до начала гипокинезии и в условиях нормально функционирующего организма.
4. Изучить влияние кортагена на уровень хромосомных aberrаций в роговице глаза и костном мозге крыс разного возраста.
5. Исследовать действие кортагена на фагоцитарную активность лейкоцитов в норме и при стрессе.

**Научная новизна работы.** Впервые установлено, что короткий пептид кортаген повышает резистентность организма при введении интактным и помещенным в условия 24-часовой гипокинезии молодым и старым животным с высоким уровнем тревожности, что сопровождается адаптивными перестройками в структуре поведения. В условиях ограничения подвижности антистрессорное и адаптогенное действие кортагена более выражено проявляется у старых крыс. Изменение интенсивности свободнорадикального окисления и активности ферментов антиоксидантной защиты является общим механизмом реализации антистрессорного, антимуtagenного и иммуностимулирующего действия кортагена при гипокинезии, а также обеспечивает развитие адаптивного поведения

животных во время и после ограничения подвижности, способствуя снижению уровня тревожности.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Повышение резистентности организма при введении кортагена интактным крысам разного возраста (развитие состояния «преадаптации») сопровождается усилением локомоторной активности и угнетением пищевого поведения.

2. В условиях гипокинезии введение кортагена препятствует развитию стресс-реакции за счет снижения уровня тревожности и перехода на более эффективные и экономичные варианты резистентной стратегии адаптации.

3. Ограничение интенсивности свободнорадикального окисления и активация ферментов антиоксидантной защиты на фоне введения кортагена в норме и при гипокинезии обеспечивает усиление фагоцитарной активности лейкоцитов, снижение уровня хромосомных aberrаций в роговице глаза и костном мозге и формирование адаптивного поведения у крыс разного возраста.

Теоретическое и практическое значение. Результаты исследования кортагена расширяют теоретические представления о роли коротких пептидов в механизмах коррекции экстремальных состояний организма в онтогенезе. Новые факты о взаимосвязи антистрессорного действия кортагена с индивидуально-типологическими особенностями организма открывают перспективы его практического применения не только как антимутагенного и иммуностимулирующего средства, но и как препарата, улучшающего адаптивный ответ у молодых и старых животных с высоким уровнем тревожности.

Материалы работы используются в учебном процессе в Ростовском государственном университете и Ростовском государственном педагогическом университете по курсам: «Физиология регуляторных пептидов», «Общая и возрастная физиология».

**Апробация работы.** Материалы диссертации докладывались на 2-й межвузовской конференции молодых ученых, специалистов и студентов «Обмен веществ при адаптации и повреждении» (Ростов-на-Дону, 2003) и на конференции молодых ученых РГПУ (Ростов-на-Дону, 2004).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 5 научных работ.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, разделов, содержащих результаты собственных исследований, обсуждения полученных результатов и выводов. Библиографический указатель содержит 156 источников, из них 122 работы отечественных и 36 работ зарубежных авторов. Диссертация изложена на 127 страницах машинописного текста, содержит 23 таблицы и 8 рисунков.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на 190 беспородных белых крысах-самцах в возрасте 3 и 16-18 месяцев, содержащихся на стандартном рационе в условиях вивария. Считают, что трехмесячные крысы соответствуют молодым половозрелым особям, а 16-18-месячные соответствуют возрасту 55-60 лет у человека, который в настоящее время в нашей стране является критическим для продолжительности жизни (особенно у мужчин). В эксперимент отбирали животных с высоким уровнем тревожности с помощью тестов «открытого поля» и «вынужденного плавания», так как именно они более чувствительны к внешним воздействиям [Арушанян Э.Б. и соавт., 1990; Буреш Л. и соавт., 1991]. Были поставлены следующие серии экспериментов:

1. Введение крысам разного возраста ежедневно в течение 5 суток кортагена в дозе 2,5 мкг/кг массы тела, последняя инъекция за 24 ч до декапитации
  2. Действие на крыс разного возраста 24-часовой гипокинезии, которую моделировали путем помещения животных в пластиковые пеналы из органического стекла, ограничивающие подвижность [Федоров И.В., 1982].
  3. Введение крысам разного возраста ежедневно в течение 5 суток кортагена в дозе 2,5 мкг/кг массы тела (последняя инъекция за 24 ч до начала гипокинезии)
- В качестве контрольных использовали животных, которым вводили 0,9% раствор NaCl.

Выбор гипокинезии в качестве экспериментального воздействия обусловлен тем, что она является одним из стрессорных факторов, приводящих к ускоренному старению [Charlton, Crowell, 1995]. Препарат вводили внутривентриально в 10 часов утра через каждые 24 часа. Доза пептида и интервалы времени для изучения его действия отработаны в предыдущих исследованиях [Малинин В.В., 2001]. Применяли тетрапептид кортаген, синтезированный в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН.

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 % от времени наблюдения (в сутках 1440 минут). Количественный учет R2 и R3 осуществляли 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 [Вербицкий Е.В., 2003].

Для проведения биохимических исследований животных декапитировали, мозг извлекали при температуре 2-4 °С, кровь собирали в пробирки с антикоагулянтом. Интенсивность ПОЛ оценивали по количеству малонового диальдегида (МДА) [Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г., 1977] в гомогенате коры головного мозга, а также по светосумме свечения за 100 секунд (Sm) и высоте (H) быстрой вспышки H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-индуцированной люминолзависимой хемидюминесценции (ХЛ) в плазме крови и водорастворимой фракции коры головного мозга [Шестаков В.А. и соавт., 1972]. Определяли активность ферментов антиоксидантной защиты супероксиддисмутазы (СОД) [Арутюнян А.В. и соавт., 2000] и каталазы [Королюк М.А. и соавт., 1988] в мозге, плазме крови и эритроцитарном лизате, а также оксидазную активность белка плазмы крови церулоплазмينا (ЦП) [Колб В.Г., Камышников В.С., 1982]. О состоянии эритроцитарных и лейкоцитарных мембран судили по количеству внеэритроцитарного гемоглобина (ВЭГ) [Меньшиков В.В. и соавт., 1987] и суммарной пероксидазной активности (СПА) [Покровский А.А., 1969]. Фиксацию мазков крови проводили раствором эозинметилового синего по Маю - Грюнвальду, окраску - по Романовскому - Гимзе [Меньшиков В.В. и соавт., 1987]. Количество форменных элементов в лейкоцитарной формуле выражали в процентах от общего числа лейкоцитов. Для исследования структурных нарушений хромосом был проведен цитогенетический анализ в клетках костного мозга и роговицы глаза анафазным методом по стандартной методике на временных препаратах [Гостимский С.А. и соавт., 1974]. Для изучения влияния пептида на фагоцитарную активность лейкоцитов измеряли интенсивность люминолзависимой ХЛ цельной крови [Фролова В.М. и соавт., 1992]. Измерения проводили на спектрофотометре Beckman DU-7 (США) и хемилуминометре, состоящем из блока фотометрирования с детектором ФЭУ-37 в составе сцинтиляционного измерительного зонда VA-S-968 (RTF) и базового сцинтиляционного спектрофотометра 22028 (RTF).

Результаты исследования подвергали статистической обработке [Лакин Г.Ф., 1990] с использованием t-критерия Стьюдента.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

При изучении типа адаптационных реакций по соотношению элементов лейкоцитарной формулы установлено, что введение кортагена повышает резистентность организма, способствуя развитию состояния «преадаптации» у интактных крыс разного возраста путем формирования реакции активации у молодых и тренировки у старых животных [Гаркави Л.Х. и соавт., 1991]. В условиях гипокинезии введение кортагена препятствовало развитию стресс-реакции за счет замены ее на менее расточительные варианты резистентной стратегии адаптации.

Повышение резистентности интактных животных разного возраста на фоне введения изучаемого препарата не сопровождалось достоверными изменениями в количестве aberrаций хромосом в роговице глаза и костном

мозге, тогда как в условиях ограничения подвижности кортаген проявил существенные антимутагенные свойства, выраженность которых у старых животных незначительно превосходила таковые у молодых (рис. 1).

Антимутагенный эффект кортагена является весьма важным доказательством его геропротекторных свойств, поскольку согласно теории соматических мутаций старение является результатом взаимодействия различных эндогенных и экзогенных повреждающих агентов с генетическим материалом клетки и постепенного накопления случайных мутаций в геноме соматических клеток [Розенфельд С.В., 2001; Morley A., 1995]. Накопление с возрастом таких мутаций в различных органах и тканях является основным фактором, определяющим развитие возрастной патологии, включая рак [Vijg J., Dolle M., 2002].

О геропротекторных свойствах препарата можно говорить, когда под его влиянием происходит уменьшение биологического или функционального возраста, повышается физическая и умственная работоспособность, нормализуются параметры метаболизма, иммунитета и нейроэндокринной регуляции, повышаются адаптационные возможности организма и др. [Никитин В.Н., 1991; Анисимов В.Н., 2000]. При исследовании показателей ХЛ цельной крови был обнаружен стимулирующий эффект кортагена на степень подготовленности фагоцитирующей системы к ответу на чужеродный агент (по длительности латентного периода ХЛ), на уровень метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов (по светосумме) и на количество фагоцитирующих клеток (по высоте медленной вспышки) у животных обеих возрастных групп (рис. 2). Указанное действие изученного пептида было более выражено при гипокинезии у крыс всех возрастов, особенно у старых животных.

Общим молекулярным механизмом проявления антимутагенных и иммуностимулирующих эффектов, а также повышения резистентности<sup>TM</sup> организма при развитии описанных адаптационных реакций на фоне введения кортагена явилось изменение интенсивности про- и антиоксидантных реакций. При этом в механизме и степени реализации эффектов каждого из препаратов имелись зависящие от возраста особенности (рис. 3-6).

Повышение резистентности организма после введения кортагена *молодым* интактным крысам по типу реакции активации (для которой характерна повышенная интенсивность тканевого дыхания, аэробного и анаэробного окисления) было, в частности, обусловлено активацией СОД и каталазы в эритроцитах и СОД в коре головного мозга, что обеспечило снижение скорости образования радикальных и молекулярных продуктов перекисного окисления липидов в мозге (светосумма ХЛ и МДА) и крови (высота быстрой вспышки ХЛ).

В повышение резистентности организма по типу реакции тренировки после введения кортагена *старым* интактным крысам внесла существенный вклад активация СОД и каталазы в эритроцитах (рис. 5, 6).



При помещении *молодых* крыс в условия гипокинезии стресс-протекторный эффект профилактического введения кортагена обеспечивался следующими достоверными изменениями по сравнению с соответствующими показателями у животных, которым пептид не вводили:

- уменьшением уровня МДА в коре головного мозга и интенсивности ХЛ в плазме крови с  $34,46 \pm 0,84$  до  $25,85 \pm 0,25$  нмоль/г ткани/20 мин ( $p < 0,1$ ) и с  $52,91 \pm 2,01$  до  $31,75 \pm 3,49$  мм ( $p < 0,05$ ), соответственно;
- стабилизацией мембран эритроцитов (судя по снижению уровня ВЭГ с  $26,35 \pm 0,37$  до  $20,61 \pm 0,89$  мг гемоглобина/100 мл ( $p < 0,05$ ));
- активацией СОД в коре головного мозга с  $15,17 \pm 1,01$  до  $18,59 \pm 1,09$  ед./г белка/10 мин ( $p < 0,05$ ) и каталазы в эритроцитах с  $9,22 \pm 0,074$  до  $13,88 \pm 0,92$  усл. ед./мл плазмы ( $p < 0,05$ ).

При воздействии гипокинезии на *старых* крыс индуцированная профилактическим введением кортагена замена стресс-реакции на более эффективную адаптационную стратегию обеспечивалась поддержанием повышенной активности СОД и каталазы в мозге и каталазы в эритроцитах и уменьшением стресс-индуцированного ингибирования оксидазной активности церулоплазмينا (рис. 4-6).



Рис. 1. Количество aberrаций хромосом е опителии роговицы и костном мозге крыс разного возраста: 1 - кортаген, молодые; 2- гипокинезия, молодые; 3 - кортаген + гипокинезия, молодые, 4 — кортаген, старые; 5 — гипокинезия, старые; б - кортаген+гипокинезия, старые (% к контрольному уровню); \* - достоверно по сравнению с контролем.

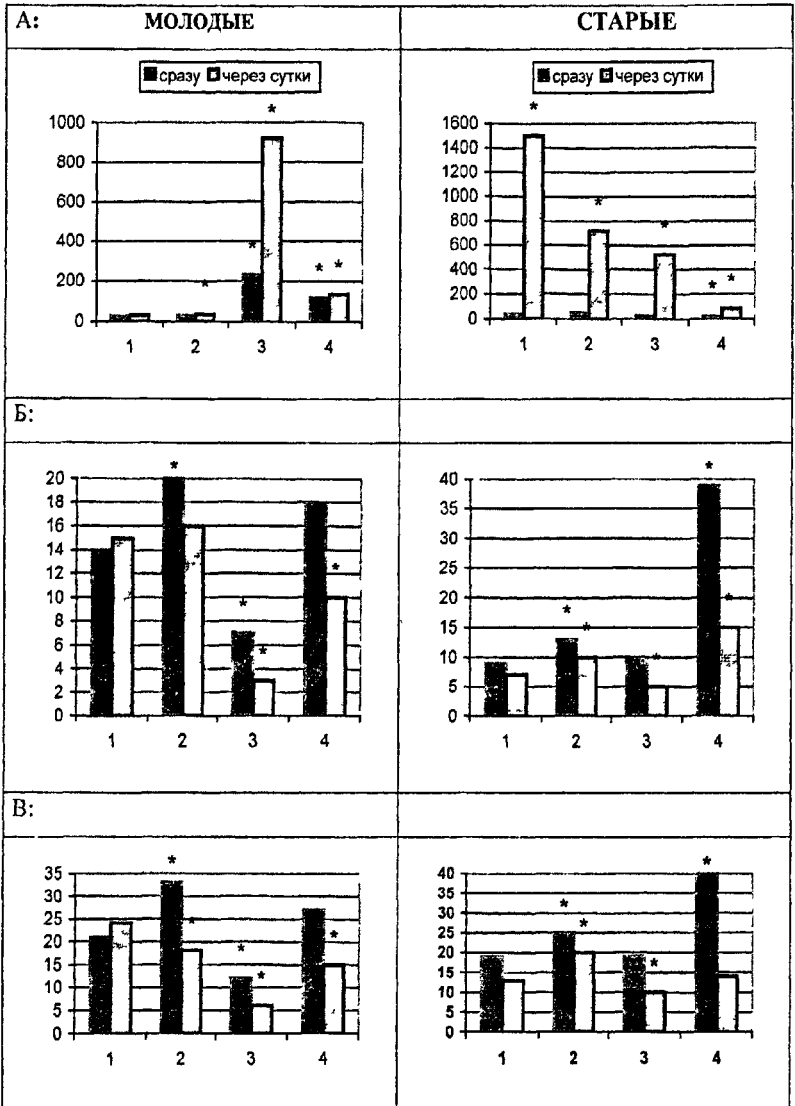


Рис. 2 Влияние кортагена на фагоцитарную активность лейкоцитов по показателям ХПцельной крови А - латентный период (мм), Б - светосумма (кочичево импульсов), В - высота медленной вспышки (мм) / - контроль, 2 - кортаген, 3 - гипокinezия, 4 - кортаген + гипокinezия, \* - достоверно по сравнению с контролем.

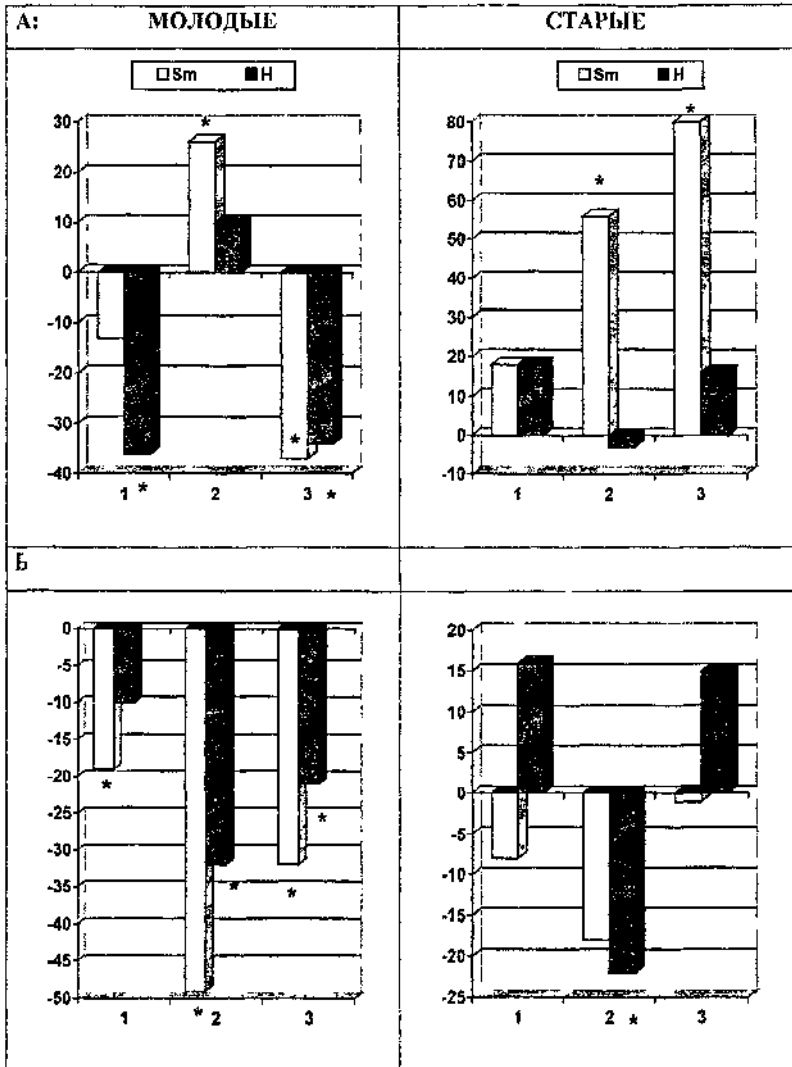


Рис. 3 Сеетосумма (Sm) и высота быстрой вспышки (H) ХЛ плазмы крови (А) и водорастворимой фракции коры головного мозга (Б) крыс в норме и условиях гипокинезии 1 - кортаген, 2 - гипокинезия, 3 - кортаген + гипокинезия (в % к контрольному уровню), \* - достоверно по сравнению с контролем

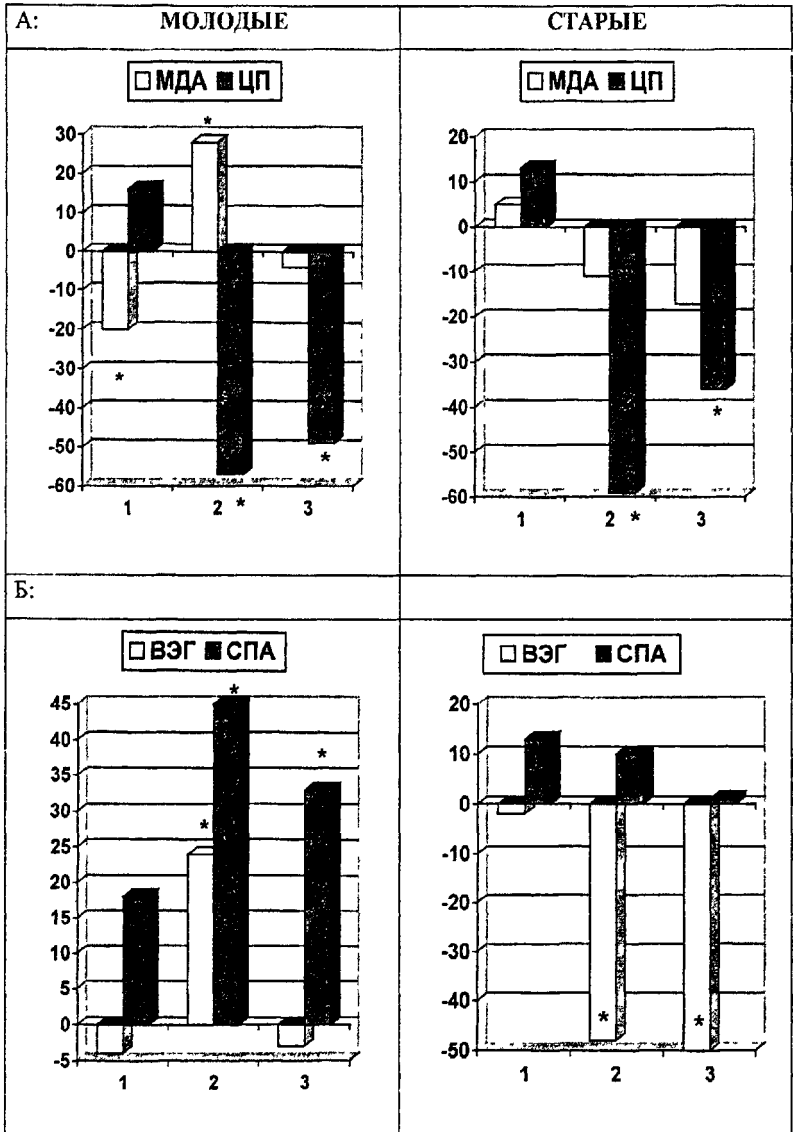


РИС. 4. Внутріє кортагена на содержание маюнового диальдегида в коре головного мозга и активность церулоплазмينا (А), содержание виеэритроцитарного гемоглобина и суммарную пероксидазную активность (Б) в плазме крови крыс разного возраста (в % к уровню контроля): 1 - кортаген, 2 - гипокинезия, 3 - кортаген + гипокинезия; \* - достоверно по сравнению с контролем.

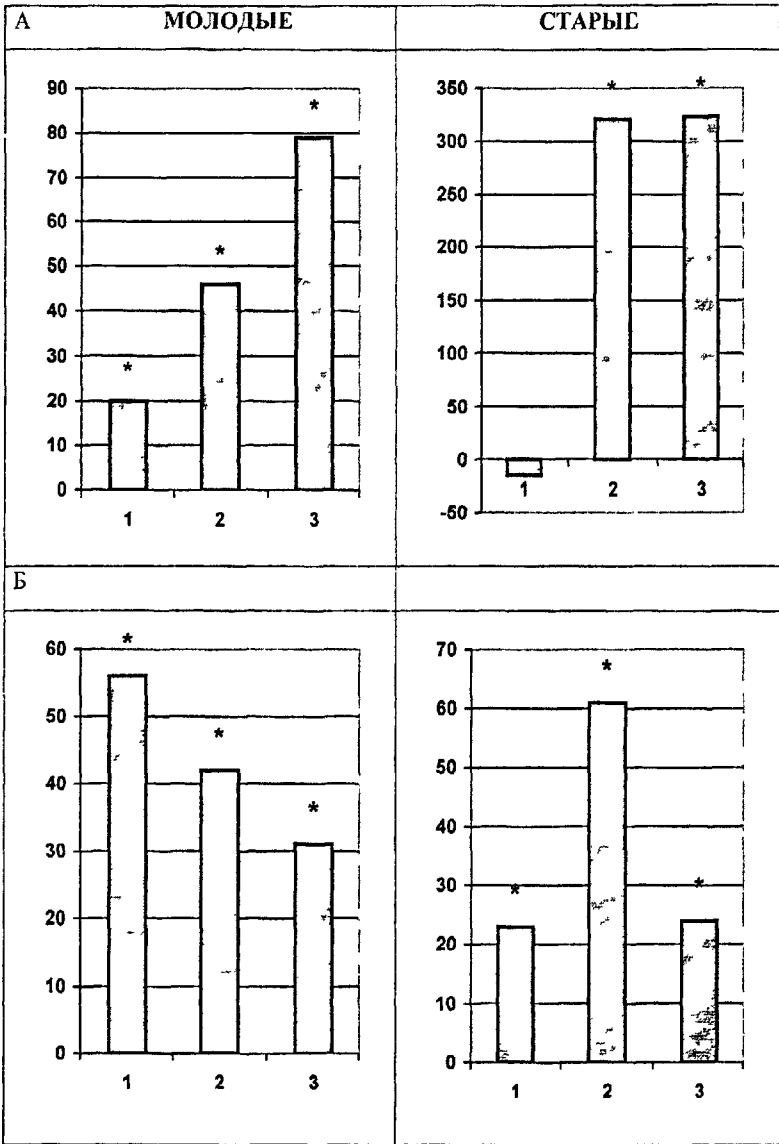


Рис. 5 Влияние кортагена на активность супероксиддисмутазы в коре головного мозга (А) и гемоглине эритроцитов (Б) у крыс разного возраста (в % к уровню контроля) 1 - кортаген 2 — гипокинезия, 3 - кортаген - гипокинезия \* - достоверно по сравнению с контролем

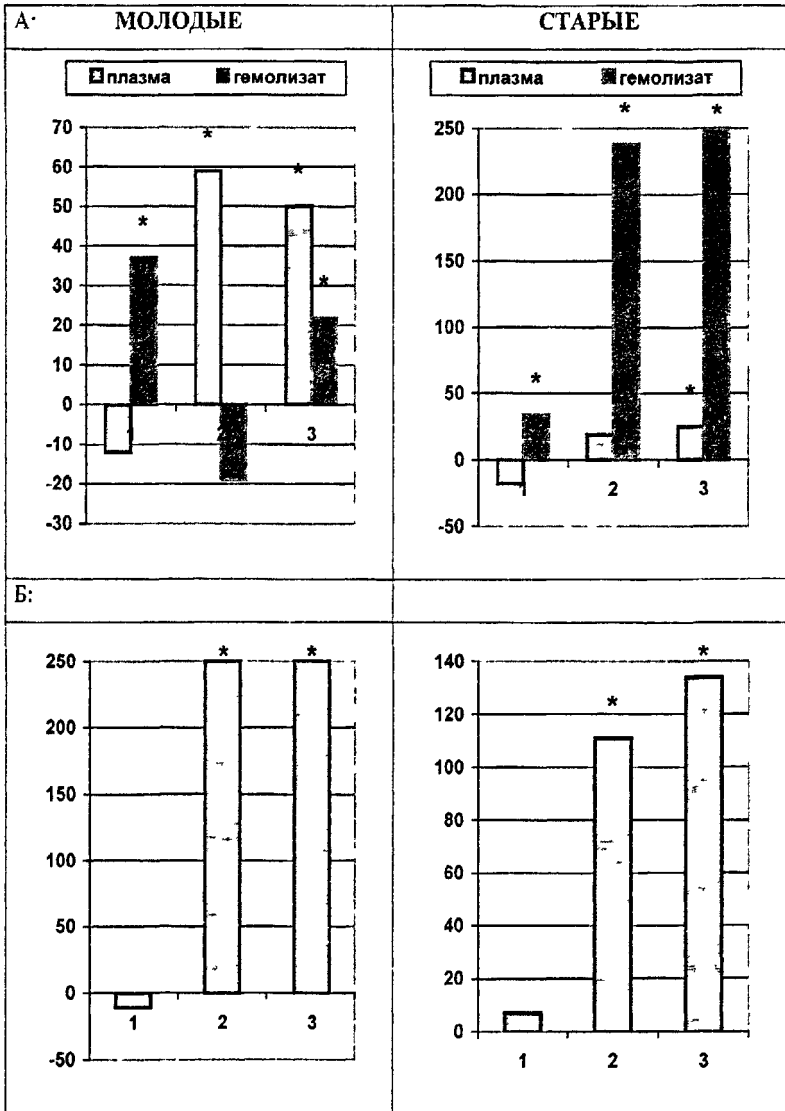


Рис. 6 Влияние кортигена на активность каталазы в гемоллизате эритроцитов, плазме крови (А) и коре головного мозга (Б) у крыс разного возраста (в % к уровню контроля) 1 - кортиген, 2 - гипокинезия, 3 - кортиген + гипокинезия, \* - достоверно по сравнению с контролем

Сдвиги в структуре поведения животных после введения кортагена *молодым* интактным крысам коррелировали с результатами исследования лейкоцитарной формулы, поскольку известно, что при реакции спокойной активации в центральной нервной системе (ЦНС) развивается умеренное физиологическое возбуждение, проявляющееся в повышении общей двигательной активности [Гаркави Л.Х. и соавт., 1990]. Во время введения кортагена и в течение суток (а для некоторых форм поведения и трех суток) после его окончания наблюдалось снижение продолжительности потребления пищи и мелкой двигательной активности при усилении реализации вертикальной и горизонтальной локомоции, питьевого поведения, груминга и редактированного бодрствования (рис. 7).

У интактных *старых* крыс во время введения кортагена зарегистрировано снижение реализации вертикальной и горизонтальной локомоции, питьевого и пищевого поведения и мелкой двигательной активности при увеличении продолжительности груминга и релаксированного бодрствования, что согласуется с типом адаптационной реакции, определенном нами по формуле «белой» крови. Известно, что для стадии ориентировки реакции тренировки характерно некоторое преобладание тормозных процессов в ЦНС [Гаркави Л.Х. и соавт., 1990]. На *1-е сутки* после окончания введения кортагена *старым* крысам во все периоды наблюдения отмечался повышенный уровень реализации груминга при сниженной продолжительности пищевого поведения и мелкой двигательной активности, а также достоверное усиление горизонтальной локомоции за счет ночного периода наблюдений. Необходимо отметить, что усиление горизонтальной локомоции у старых крыс на фоне введения кортагена сохранялось и на 3-и сутки после окончания введения пептида.

Таким образом, введение кортагена интактным крысам разного возраста с высоким уровнем тревожности приводило к активации локомоторной активности при уменьшении продолжительности потребления пищи. Учитывая тип ответной реакции организма на введение кортагена, изменения продолжительности основных форм поведения крыс разного возраста, зарегистрированные после введения изучаемого препарата, можно признать адаптивными. Активация груминга и высокие значения релаксированного бодрствования во все сроки наблюдения позволяют рассматривать эффект пептида как релаксирующий и способствующий развитию комфортного состояния животного, что в совокупности с уменьшением реализации мелкой двигательной активности может указывать на снижение уровня тревожности у исследованных групп крыс. Уменьшение продолжительности потребления пищи на фоне введения кортагена было практически равнозначным у крыс обеих возрастных групп. Вероятно, такой эффект может быть следствием обнаруженного снижения двигательной активности. Кроме того, уменьшение продолжительности потребления пищи может быть еще одним подтверждением геропротекторных свойств кортагена, поскольку известно, что ограничение калорийности питания

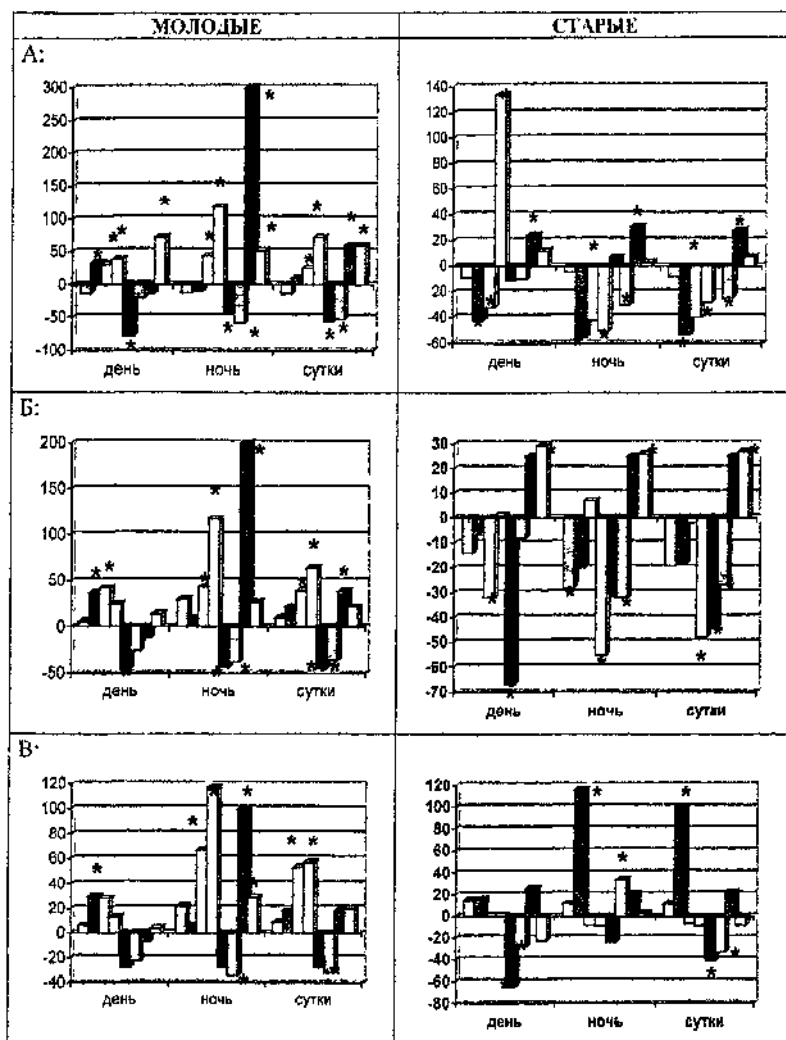
способствует уменьшению скорости старения и увеличению средней продолжительности жизни [Masoro H., 2000].

При гипокинезии наблюдалась ответная реакция организма по типу стресса, однако скорость ее развития и степень поведенческих сдвигов в значительной степени зависели от возраста экспериментальных животных. Во время гипокинезии наибольшие сдвиги в реализации основных форм поведения отмечались у молодых животных (рис. 8, А). Вероятно, это связано с установленным ранее фактом, что лейкоцитарная формула молодых крыс с высоким уровнем тревожности уже через 1 ч после начала ограничения подвижности соответствует стадии тревоги острого стресса, через 6 ч - стадии резистентности, а через 24 ч появляются признаки перехода стресс-реакции в стадию истощения [Руденко Т.Н., 2004]

При ограничении подвижности у старых крыс по сравнению с молодыми развитие стресс-реакции происходило более медленно: только через 24 ч после начала гипокинезии лейкоцитарная формула свидетельствовала о развитии стадии тревоги острого стресса. Запоздывание стресс-реакции у стареющих животных многие авторы связывают со снижением содержания в структурах мозга биогенных аминов [Бажанова Е.Д., 1998] и уменьшением плотности адгенорецепторов [Burnett A. et al., 1990]. О большем латентном периоде развития стресс-реакции у старых крыс свидетельствуют и результаты исследования активности про- и антиоксидантных систем при гипокинезии (рис. 3-6). Если после 24-часовой гипокинезии у молодых крыс наблюдался сдвиг равновесия в сторону интенсификации процесса ПОЛ, то у старых животных отмечалась преимущественная активация ферментов антиоксидантной защиты (каталазы и СОД). Это согласуется с представлениями других авторов о том, что в первую стадию острого стресса происходит ингибирование ПОЛ, а активация происходит позже на фоне истощения компонентов антирадикальной защиты [Ерин А.Н., Гуляева ЫВ., 1994]. Во время гипокинезии нами установлено и повышение количества пробуждений, особенно у старых крыс, что можно объяснить увеличением вероятности спонтанной внутренней десинхронизации, развивающейся 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 регистрировали реакцию повышенной активации (по характеристикам близкой к стрессу), а через 3 суток - реакцию спокойной активации, то у молодых крыс через 1 сутки после гипокинезии лейкоцитарная формула соответствовала реакции спокойной активации, а через 3 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 3-х суток после окончания стрессорного воздействия (рис. 8, Б, В).





*Рис. 7. Реализация основных форм поведения животных в цикле бодрствование-сон после введения кортигона крысам разного возраста (% к контрольному уровню, определенному на 3-и сутки адаптации). А - 3-и сутки после начала введения, Б - 5-е сутки после начала введения, В - 1-е сутки после окончания введения. Очередность столбцов в диаграмме: 1 - R1, 2 - R2, 3 - R3, 4 - R4, 5 - R5, 6 - R6, 7 - R7, 8 - R8. \* - достоверно по сравнению с контролем.*

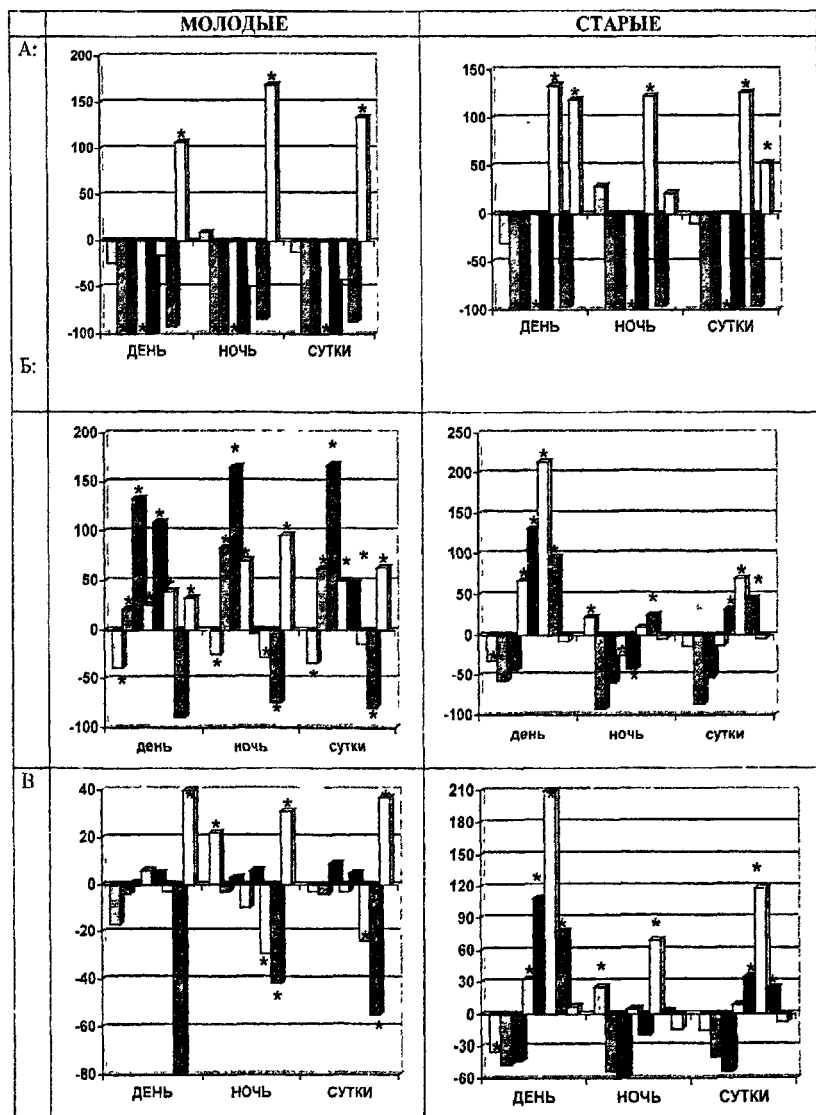


Рис. 8. Реализация основных форм поведения лабиринтных в цикле бодрствования-сои у крыс в условиях гипокинезии ( $Y_0$  к контрольному уровню, определенному на 3-й сутки адаптации) А - во время ограничения подвижности, Б - 1-е сутки после окончания гипокинезии, В - 3-и сутки после окончания гипокинезии. Очередность столбцов в диаграмме: 1 - R1.2-R2.3~ R3. 4 - R4, 5 - R5, 6 - R6, 7 - R', 8- R8; \* - достоверно по сравнению с контролем.

Так, на 1-е сутки после гипокинезии у *молодых* крыс при уменьшении продолжительности сна увеличивалась реализация вертикальной и горизонтальной локомоции, пищевого и питьевого поведения, что может быть компенсаторной реакцией на снижение времени мелкой двигательной активности и груминга. На 3-и сутки после окончания стрессорного воздействия у молодых крыс большинство поведенческих изменений, вызванных гипокинезией, нормализуется.

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. Это предположение подтверждается мнением О.С. Адрианова [1980], считающего одним из основных проявлений адаптивных процессов такую реорганизацию систем, которая приводит к компенсации или восстановлению нарушенных функций.

По этим же причинам продолжающаяся редукция вертикальной и горизонтальной локомоции у *старых крыс* на протяжении 3-х суток после гипокинезии может привести к срывам высшей нервной деятельности, особенно у организмов со слабым типом нервной системы, в частности, у животных с высоким уровнем тревожности,

Именно снижение двигательной инициативы является характерным последствием акинезии из-за повреждения механизмов интеграции эмоционально-мотивационных и двигательных функциональных систем [Голубев В.Л., 1999; Rossi F., 1977]. В связи с этим увеличение продолжительности пищевого поведения и мелкой двигательной активности на 1-е и 3-и сутки 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 груминга 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 ее 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 мы делаем на основании более выраженных и продолжительных поведенческих и метаболических изменений у старых крыс (рис. 3-8). Это позволяет заключить, что молодые животные лучше 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.

Стресс-протекторное действие кортагена на крыс разного возраста в условиях гипокинезии нашло свое отражение и во влиянии пептида на структуру их поведения в цикле бодрствование-сон.

Изменения в поведении *молодых* крыс при гипокинезии на фоне предварительного введения кортагена были сходны с таковыми при стрессе без введения пептида за исключением менее значительного снижения продолжительности мелкой двигательной активности и груминга и менее выраженного усиления реализации релаксированного бодрствования, что согласуется с результатами определения типа адаптационной реакции, указывающего на развитие реакции спокойной активации.

Профилактическое введение кортагена *старым* крысам предотвратило усиление реализации мелкой двигательной активности во время обездвиживания (и, следовательно, повышение уровня тревожности) при повышении продолжительности релаксированного бодрствования по сравнению с показателями при ограничении подвижности без предварительного введения пептида. Наибольшее влияние кортагена на поведение молодых и старых крыс в условиях гипокинезии проявилось на 1-е и 3-и сутки после ее окончания.

Особенностью антистрессорного эффекта кортагена у *молодых* крыс явилось увеличение продолжительности сна и груминга (вместо преобладания релаксированного бодрствования) и более выраженная компенсаторная активация горизонтальной локомоции, особенно в дневной период на 1-3-и сутки после окончания обездвиживания.

Введение кортагена *старым* крысам также способствовало преобладанию поведенческого сна (особенно в ночное время) и препятствовало усилению мелкой двигательной активности в течение 3-х суток после окончания стрессорного воздействия.

Таким образом, на основании анализа данных физиологических и биохимических исследований можно заключить, что введение кортагена повышало резистентность организма, способствуя развитию состояния «преадаптации» у интактных крыс путем развития реакции активации у молодых и тренировки у старых животных, что сопровождалось

адаптивными перестройками в структуре поведения, иммуностимулирующим эффектом и сдвигом баланса в интенсивности про- и антиоксидантных процессов в сторону активации некоторых компонентов системы антиоксидантной защиты в мозге и крови.

Мощный антистрессорный и адаптогенный эффект кортагена в условиях гипокинезии проявлялся более выражено у старых крыс. Изменение интенсивности про- и антиоксидантных реакций явилось общим молекулярным механизмом реализации антистрессорного, антимутагенного и иммуностимулирующего эффектов кортагена в условиях гипокинезии, а также обеспечивало развитие адаптивного поведения во время и после ограничения подвижности, способствуя снижению уровня тревожности, что проявлялось в уменьшении продолжительности мелкой двигательной активности.

### ВЫВОДЫ

1. Введение кортагена повышает резистентность организма животных, способствуя развитию состояния «преадаптации» у интактных крыс путем развития реакции активации у молодых и реакции тренировки у старых животных. Это сопровождается усилением локомоторной активности и уменьшением реализации пищевого поведения.
2. В условиях гипокинезии предварительное введение кортагена препятствует развитию стресс-реакции, способствуя ее замене на более эффективные и экономичные варианты резистентной стратегии адаптации. Об этом свидетельствуют изменение формулы «белой» крови, стабилизация мембран эритроцитов (судя по величине ВЭГ), снижение уровня МДА и интенсивности ХЛ, активация антиоксидантной защиты и перестройки в реализации основных форм поведения, специфичность и интенсивность которых зависит от возраста животного.
3. При введении кортагена интактным и помещенным в условия гипокинезии животным разного возраста происходит снижение уровня тревожности, на что указывает увеличение продолжительности поведенческого сна и релаксированного бодрствования и сокращение времени, затраченного на мелкую двигательную активность.
4. Антистрессорное влияние кортагена на основные формы поведения и адаптивные возможности организма в условиях гипокинезии осуществляется через модуляцию интенсивности СРО и активности ферментов антиоксидантной защиты и более выражено у старых животных.
5. Составной частью стресс-протекторного действия кортагена является его антимутагенный и иммуностимулирующий эффекты, что подтверждает геропротекторные свойства препарата.
6. Полученные результаты открывают широкие перспективы использования кортагена для управления поведенческими реакциями индивидов с высоким уровнем тревожности в условиях экстремальных воздействий.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью повышения эффективности использования кортагена как антистрессорного и адаптогенного препарата при проведении экспериментального и клинического изучения препарата рекомендуется проводить предварительное исследование уровня тревожности индивида.
2. С целью профилактики индуцированных гипокинезией нарушений на различных этапах онтогенетического развития рекомендуется использование кортагена.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Взаимосвязь интенсивности ПОЛ и поведения у крыс разного возраста при введении пептидов / А.В. Лысенко, Л.Г. Менджерицкая, Н.К. Елфимова, Н.А. Краснова // Известия ВУЗов, Северо-Кавказский регион, Естественные науки. - 2005. - № 1. - С. 49-56.

*Краснова Н.А.* Механизмы «преадаптивного» действия коротких пептидов у крыс разного возраста/ Н.А. Краснова, Е.В. Моргуль// Матер. 2-й межвузовской конференции молодых ученых, специалистов и студентов «Обмен веществ при адаптации и повреждении». - Ростов-на-Дону: Изд-во РГМУ, 2003. - С. 60-61.

*Краснова Н.А.* Возрастные аспекты антистрессорных эффектов олигопептида кортагена при гипокинезии и физической нагрузке / Н.А. Краснова// Сб. тезисов студенческой научной конференции. - Ростов-на-Дону: Изд-во РГПУ, 2004. - Ч. 2. - С. 96.

*Лысенко А. В.* Возрастные аспекты структурно-функциональных нарушений при гипокинезии и физической нагрузке/ А.В. Лысенко, Н.А. Краснова // Сб: «Общетеоретические и методические проблемы физической культуры». - Ростов-на-Дону: Изд-во РГПУ, 2004. - С. 175-183.

*Лысенко А.В.* Применение пептидов для коррекции нарушений в системе крови при стрессе/ А.В. Лысенко, А.М. Менджерицкий, Н.А. Краснова // Наука и образование. - 2003. - № 2. - С. 253-257.

*Краснова Н.А.* Возрастные аспекты стресс-протекторного действия тетрапептида у крыс с высоким уровнем тревожности // Автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.53 - СПб., 2005. - 22 с.

---

Формат 60x84 1/8. Объем 1,0 усл. п.л.  
Тираж 100 экз. Заказ 03-08. Бесплатно.  
Подписано к печати 17.01.2005  
Отпечатано с готового оригинал-макета  
Издательство «Система»

PA.

502

16 DEC 2005

