

© В.В. Киселев, В.С. Пикалюк, К.А. Варочкин, В.В. Ткач (мл.)

УДК 612.824.1:611.451:577.175.534:599.323.4-(011.891.5)

В.В. Киселев, В.С. Пикалюк, К.А. Варочкин, В.В. Ткач (мл.)

ЭФФЕКТ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ КСЕНОГЕННОЙ СПИНОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО МОДЕЛИРОВАННОМ ГИПОКОРТИЦИЗМЕ У БЕЛЫХ КРЫС

**ГУ «Крымский государственный медицинский университет
им. С.И. Георгиевского МЗО Украины» (г. Симферополь)**

В рамках исследования влияния СМЖ на структуру и функцию различных органов млекопитающих (№ государственной регистрации – 0108U002090, шифр темы – 06/08) наш интерес вызвало упоминание о способности ликвора оказывать активирующее влияние на функциональное состояние гипофизарно-надпочечниковой системы при экспериментальном нейродистрофическом процессе [4].

Вступление. В специальной литературе имеются данные о способности спинномозговой жидкости (СМЖ) воздействовать на функциональное состояние органов и тканей животных, находящихся в различных физиологических состояниях, как естественных, так и смоделированных в условиях эксперимента [1, 3, 5]. В то же время, не вызывает сомнения возможность влияния спинномозговой жидкости на рабочее состояние эндокринной системы в норме и при различного рода изменениях ее функционального статуса [3].

Целью данного исследования явилось установить факт и направленность влияния парентерально введенной ксеногенной СМЖ крупного рогатого скота на функциональное состояние надпочечников при экспериментальном угнетении функции их коры, в частности при снижении продукции глюкокортикоидов.

Объект и методы исследования. Исследование проводили на 24 половозрелых белых крысах линии Wistar, массой от 150г до 180г, каждая из которых была промаркирована с присвоением номера от одного до двадцати четырех и которые были разделены по признаку пола на две группы по 12 животных в каждой (группа 1 – самцы, группа 2 – самки). Внутри обе группы были разделены каждая на опытную (О) и контрольную (К) подгруппы, по 6 животных в каждой. Поскольку основным объектом исследования должны были стать надпочечники белых крыс и продуцируемые ими вещества, для моделирования функционального гипокортицизма был выбран метод химического угнетения функции коркового вещества надпочечников. В качестве вещества, уменьшающего активность продуцирования стероидных гормонов корой надпочечников, использовали фунгицидный препарат итраконазол («Итракон», Фармак, Украина). Выбор препарата был обусловлен из соображений способности производных азолов оказывать выраженное ингибирующее действие на синтез стероидных гормонов вследствие угнетения активности цитохрома P-450

и торможения метаболизма холестерина [6, 9, 13]. Подобный «антистероидный» эффект производных азолов используется в медицинской и ветеринарной практике для лечения состояний, связанных с повышенной выработкой стероидных гормонов коры надпочечников или половых желез. Для достижения стойкого ингибирующего эффекта на синтез стероидных гормонов производные азолов назначают в дозировках в несколько раз превышающих таковые при антифунгальной терапии [6]. В то же время, действие азоловых дериватов на синтез стероидных гормонов обратимо и не сопровождается нарушением структурной целостности клеток коры надпочечников, что соответствует задаче моделирования функциональной корковой недостаточности.

Результаты исследований и их обсуждение. Как показали исследования стероидогенеза в монокультуре клеток опухоли коры надпочечника мыши, после прекращения введения азолов и при отсутствии иных ингибирующих влияний, функция стероидогенеза постепенно восстанавливается до исходного уровня в течение 24-48 часов [13]. Кроме того, итраконазол не оказывает влияния на уровень адренкортикотропного гормона и, следовательно, может изменять уровень синтеза глюкокортикоидов лишь на органном уровне, т.е. за счет непосредственного угнетения функциональной активности кортикоцитов надпочечников [10]. Все перечисленные условия, а также доступность препаратов итраконазола в аптечной сети, послужили основой для его выбора в качестве ингибирующего агента, а также определили кратность введения препарата 1 раз в сутки. Все животные получали итраконазол в дозировке 30мг/кг массы тела ежедневно натошак. Препарат вводился перорально в виде водной взвеси через гастральный зонд. Животных содержали в стандартных условиях вивария. По истечении 10 суток с момента начала введения итраконазола животным контрольных подгрупп вводили внутримышечно ксеногенную спинномозговую жидкость в дозировке 2мл/кг массы тела животного 1 раз в 3 суток. СМЖ для введения получали путем субокципитальной пункции коров, с последующей криоконсервацией полученного ликвора и его гамма-стерилизацией [3]. Всего было произведено 10 инъекций СМЖ в течение 30 суток. Животные контрольных подгрупп получали аналогичным образом внутримышечно физиологический раствор. В течение всего периода, когда животным вводили СМЖ

или физраствор, они продолжали получать итраконазол перорально в дозировке 30 мг/кг для поддержания угнетающего влияния на стероидогенез. Через 3 суток после последнего введения СМЖ или физраствора (на 40 сутки эксперимента) животных декапитировали натошак под эфирным наркозом, их надпочечники и другие внутренние органы извлекали для дальнейшего гистологического и ультрамикроскопического исследования, а образцы крови направляли в лабораторию для биохимического исследования. Учитывая суточную динамику содержания кортизола в крови, все описанные манипуляции (введение итраконазола, введение спинномозговой жидкости или физраствора, взятие крови для исследования на содержание кортизола) проводили в одно и то же время суток (между 15 и 16 часами).

Во время проведения эксперимента ежедневно проводили измерение массы животных. Масса животных за время эксперимента незначительно увеличивалась в первые 7-10 дней, затем прирост массы останавливался, сохраняя ее незначительные колебания в пределах ± 7 грамм. В ходе эксперимента зафиксировано также определенное изменение внешнего вида крыс. Так, отмечали пожелтение шерсти у некоторых животных, неряшливый внешний вид, что более характерно для животных предстарческого и старческого возрастов, а не для используемых в эксперименте взрослых половозрелых крыс.

С целью оценки функционального статуса коры надпочечников определение содержания кортизола в крови крыс проводили методом иммуно-ферментного анализа на базе Центра лабораторной диагностики животных «Бальд», г. Киев. Также, в рамках исследования определяли содержание эстрадиола в крови животных 2 группы, с целью оценки смешанной функции яичников и коры надпочечников.

Полученные результаты подвергали статистической обработке. При этом, у самцов опытной

подгруппы 1(О), отмечали достоверное увеличение содержания кортизола в крови, по сравнению с животными контрольной подгруппы 1(К) ($p > 95\%$). В то же время у самок отметили наоборот уменьшение содержания кортизола в крови животных опытной подгруппы 2(О), по сравнению с животными контрольной подгруппы 2(К) ($p > 99\%$). При статистической обработке данных содержания эстрадиола в крови животных II группы достоверных различий выявлено не было.

Выводы. Результаты, полученные в группе 2 (самки) не поддаются однозначной оценке. Необходимо учитывать разницу сроков эстральных циклов у подопытных животных. Также, способность азоловых производных к конкурентному вытеснению эстрадиола из его транспортных белковых связей [6], могла способствовать изменению баланса взаимоотношений стероидных гормонов и смещению спектра полифункционального влияния спинномозговой жидкости в пользу стимуляции гонадотропной активности, в ущерб глюкокортикоидогенезу. В группе 1 (самцы), лишенной влияния указанных выше циклических механизмов, отмечено увеличение содержания кортизола в крови животных, что можно связать с прямым стимулирующим действием СМЖ коров на функциональную активность коры надпочечников за счет содержания в ней кортикотропных веществ [2, 3, 5, 7], а также за счет активации гипофизарно-адреналовой системы [4].

Таким образом, данные эксперимента позволяют констатировать наличие влияния ксеногенной СМЖ на функцию коры надпочечников, что представляет собой перспективу дальнейшего изучения характера и направленности подобного влияния.

Перспективы дальнейших исследований. Интерес также представляет характер морфологических преобразований в зонах коры надпочечников, которые сопровождают указанные выше изменения функционального статуса.

Список литературы

1. Биологические эффекты спинномозговой жидкости как гуморальной среды центральной нервной системы / В.С. Пикалюк, Е.Ю. Бессалова, М.А. Кривенцов и др. // Материалы IX Международного конгресса Международной ассоциации морфологов. Морфология. – 2008. – Т. № 2. – С 166-167.
2. Клуша В. Е. Пептиды – регуляторы функций мозга / В.Е. Клуша. – Рига: Зинатне, 1984. – 182 с.
3. Пикалюк В.С. Ликвор как гуморальная среда организма / В.С. Пикалюк, Е.Ю. Бессалова, В.В. Ткач (мл.), М.А. Кривенцов, В.В. Киселев, Л.Р. Шаймарданова – Симферополь, ИТ «АРИАЛ», 2010. – 192 с.
4. Топало В.Г. Изменение физиологической активности цереброспинальной жидкости при нервных дистрофиях и влияние гетеро- и гомогенной цереброспинальной жидкости на трофическое и функциональное состояние органов и тканей: автореф. дис. канд. мед. наук: 03.00.13./ В.Г. Топало. – М., 1986. – 223 с.
5. Фридман А.П. Основы ликворологии. (Учение о жидкости мозга) / А. П. Фридман. – Л.: Медицина, 1971. – 648 с.
6. Фармакокоррекция гиперадренокортицизма у собак / О. Н. Ершова, Л. Ю. Карпенко // Ветеринарная клиника, Екатеринбург. – 2008. – №12. – С. 15-16.
7. Цветанова Е.М. Ликворология: Пер. с болгар. / Е.М. Цветанова. – К.: Здоров'я, 1986. – 372 с.
8. Adrenal Response to Corticotropin during Therapy with Itraconazole / P. Phillips, J. R. Graybill, R. Fetchick, J.F. Dunn // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 1987. – Vol. 31, № 4. – P. 647-649
9. Comparative effects of ketoconazole on rat, dog and human testicular steroidogenesis / De Coster R., Coene M.C., Van Camp C., Van Camp K., Beerens D., Cools W. // Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. – 1989. – Vol. 2, № 4. – P. 261-268
10. Iatrogenic adrenal insufficiency as a side-effect of combined treatment of itraconazole and budesonide / M. Skov, K.M. Main, I.B. Sillesen, J. Muller, C. Koch, S. Lanng // Eur. Respir. Journal. – 2002. – №20. – P. 127-133

11. Ketoconazole Blocks Adrenal Steroidogenesis by Inhibiting Cytochrome P450-dependent enzymes / D.S. Loose, P.B. Kan, M.A. Hirst, R.A. Marcus, D. Feldman // J. Clin. Invest. – 1983. – Vol. 71, №5. – P. 1495-1499
12. Steroid Synthesis Inhibition with Ketoconazole and its Effect upon the Regulation of the Hypothalamus–Pituitary–Adrenal System in Healthy Humans / M. Deuschle, O. Lecei, G.K. Stalla, R. Landgra, B. Hamann, F. Lederbogen, M. Uhr, P. Lippa, A. Maras, M. Colla, I. Heuser // Neuropsychopharmacology. – 2003. – №28. – P.79–383
13. The effect of ketoconazole on steroidogenesis in cultured mouse adrenal cortex tumor cells / Jerome Kowal // Endocrinology. – 1983. – 112. – P. 1541-1543

УДК 612.824.1:611.451:577.175.534:599.323.4-(011.891.5)

ЕФЕКТ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ КСЕНОГЕННОЇ СПИНОМОЗКОВОЇ РІДИНИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО МОДЕЛЬОВАНОМУ ГІПОКОРТИЦИЗМУ У БІЛИХ ЩУРІВ

Кисельов В.В., Пікалюк В.С., Варочкін К.А., Ткач В.В. (мл)

Резюме. У статті наведено дані експериментального дослідження щодо вивчення впливу ксеногенної спинномозкової рідини на функціональну активність кори наднирників білих щурів. В умовах експериментально змодельованого гіпокортицизму тварини отримували спинномозкову рідину корів у якості стимулюючого агента. Після закінчення експерименту досліджували вміст гормонів кори наднирників у крові щурів та проводили статистичний аналіз отриманих даних.

Ключові слова: спинномозкова рідина, наднирники, кортизол, лабораторні тварини.

УДК 612.824.1:611.451:577.175.534:599.323.4-(011.891.5)

ЭФФЕКТ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ КСЕНОГЕННОЙ СПИНОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО МОДЕЛИРОВАННОМ ГИПОКОРТИЦИЗМЕ У БЕЛЫХ КРЫС

Киселев В.В., Пикалюк В.С., Варочкин К.А., Ткач В.В. (мл.)

Резюме. В статье описаны данные экспериментального исследования по изучению влияния ксеногенной спинномозговой жидкости на функциональную активность коры надпочечников белых крыс. В условиях экспериментально смоделированного гипокортицизма животные получали спинномозговую жидкость коров в качестве стимулирующего агента. По окончании эксперимента исследовали содержание гормонов коры надпочечников в крови крыс и полученные данные подвергали статистической обработке.

Ключевые слова: спинномозговая жидкость, надпочечники, кортизол, лабораторные животные.

UDC 612.824.1:611.451:577.175.534:599.323.4-(011.891.5)

Effect Of Parenterally Introduction Of Ksenogennoy Neurolymph At Experimentally Designed Gipokortizime For White Rats

Kiselev V.V., Pikalyuk V.S., Varochkin K.A., Tkach V.V. (jun.)

Summary. An article contains an experimental study data of cerebrospinal fluid influence to suprarenal gland's of white rats cortical activity. Animals had got cow's cerebrospinal fluid injected as a stimulating agent in conditions of laboratory induced hypocorticoisidism. Finally suprarenal gland's steroid hormones content within a rat's blood was evaluated and the obtained data were statistically analyzed.

Key words: cerebrospinal fluid, suprarenal glands, cortisol, laboratory animals.

Стаття надійшла 9.07.2011 р.