

2. Фомина Е. В. Функциональная асимметрия мозга и адаптация к экстремальным спортивным нагрузкам / Е. В. Фомина. – Омск: СибГУФК, 2005. – 196 с.
3. Шарова Е. В. Асимметрия когерентности ЭЭГ при посткаматозных бессознательных состояниях после тяжелой черепно-мозговой травмы / Функциональная межполушарная асимметрия: хрестоматия. – М.: Научный мир, 2004. – С. 378 – 386
4. Погадаева О.В. Влияние электроэнцефалографического биоуправления на двигательные функциональные асимметрии спортсменов / О. В. Погадаева, В. Г. Тристан // Бюллетень СО РАМН. – 2004. – № 3(113). – С. 110-112.
5. Николаенко Н.Н Организация моторного контроля и особенности асимметрии мозга у борцов / Н. Н. Николаенко, С. В. Афанасьев, М. М. Михеев // Физиология человека. – 2001. – Т. 27, № 2. – С. 68 - 75.
6. Аганянц Е. К. Функциональные асимметрии в спорте: место, роль и перспективы исследования / Е.К. Аганянц, Е. М. Бердичевская // Теория и практика физической культуры. – 2004. – № 8. – С. 22 – 24.
7. Бетелева Т. Г. Функциональная специализация полушарий при сопоставлении наличного и предыдущего стимулов / Т. Г. Бетелева // Физиология человека. – 2000. – Т. 26, № 3. – С. 21 – 30.
8. Кураев Г. А. Форирование функциональной межполушарной асимметрии мозга в динамике обучения / Г.А. Кураев, И.В. Соболева, Л.Г. Сороколетова // Функциональная межполушарная асимметрия: хрестоматия. – М.: Научный мир, 2004. – С. 125 – 162.
9. Operational Guidelines for Ethics Committee that Review Biomedical Research, World Organization. – Geneva, 2000. – 31 p.

УДК 576.3:591.1/48

ЗМІНИ ВМІСТУ ЦИНКУ В ГІПОКАМПІ ТА ГІПОТАЛАМУСІ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ СТРЕС-ФАКТОРІВ РІЗНОЇ ПРИРОДИ

Кучковський О.М., викладач

Запорізький національний університет

У досліджах на щурах було показано, що стресування, викликане голодуванням, іммобілізацією, введенням глюкози та інсуліну, викликало порушення вмісту хелатоутворюючого цинку в нейронах гіпокампу та гіпоталамусу. Ці зміни були одночасними, але протилежними за напрямом, що свідчить про функціональний зв'язок цих структур у механізмах реалізації стрес-реакцій.

Ключові слова: гіпокамп, гіпоталамус, стрес, хелатуєчий агент, цинк

Кучковский О.Н. ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЦИНКА В ГИППОКАМПЕ И ГИПОТАЛАМУСЕ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕСС-ФАКТОРОВ РАЗНОЙ ПРИРОДЫ / Запорожский национальный университет, Украина

В опытах на крысах было показано, что стрессирование, вызванное голодовкой, иммобилизацией, введением глюкозы и инсулина, вызывало нарушение содержания хелатообразующего цинка в нейронах гиппокампа и гипоталамуса. Эти изменения были одновременные, но противоположны по направлению, что может свидетельствовать о функциональной взаимосвязи данных структур в механизмах реализации стресс-реакций.

Ключевые слова: гиппокамп, гипоталамус, стресс, хелатирующий агент, цинк

Kuchkovsky O.M. CHANGES OF MAINTENANCE OF ZINC IN HIPPOCAMPUS AND HYPOTHALAMUS OF RATS AT ACTION OF STRESS-FACTORS OF DIFFERENT NATURE / Zaporizhzhya national university, Ukraine

In experiments it was shown on rats, that a stress influence, caused by starvation, immobilization, violation of maintenance of chelating zinc caused introduction of glucose and insulin in the neurons of hippocampus and hypothalamus. These changes were attended, but opposite to direction, that can testify to functional intercommunication of these structures in the mechanisms of realization a stress reaction.

Keywords: hippocampus, hypothalamus, stress, chelating agent, zinc

ВСТУП

Регуляція гомеостазу значною мірою визначається лімбічною системою і гіпоталамусом [1-5]. Одні дослідники включають гіпоталамус у лімбічну систему, інші розглядають гіпоталамус як самостійне утворення, виділяють його з лімбічної системи. Проте всі визнають, що саме через гіпоталамус здійснюються численні регуляторні впливи з лімбічної системи на вегетативні функції організму, через гіпоталамус йде зв'язок між ними та емоційними і поведінковими реакціями [6,7].

При руйнуванні та подразненні структур лімбічної системи спостерігаються порушення реакцій кровообігу, дихання, травлення, зміни статевих, оборонних, орієнтовних, харчових реакцій, істотні зрушення емоцій, поведінки, пам'яті та ін. [6,7].

Слід врахувати й те, що стимуляція ряду структур лімбічної системи істотно впливає на функцію гіпоталамуса, а також те, що стимуляція ряду структур лімбічної системи впливає на функцію ендокринних залоз, у яких знаходяться рецептори до багатьох гормонів [8]. Існують і впливи з лімбічної системи, що здійснюються через бульбарні, спинальні, структури, за симпатичними і парасимпатичними нервами. Гіпоталамус входить і в нервеве коло переднього мозку, і в лімбічну систему середнього мозку. У лімбічну систему входять утворення старої і древньої кори, зокрема гіпокамп, тощо [1,6,8].

Гіпокамп розташовується в медіальній частині скроневої долі. Він отримує аферентні входи від гіпокампальної звивини (отримує входи майже від усіх областей неокортексу та інших відділів головного мозку), від зорової, нюхальної і слухової систем. Найбільшою сигнальною системою гіпокампу є зведення, яке зв'язує гіпокамп із гіпоталамусом. Ушкодження гіпокампу призводить до характерних порушень пам'яті і здатності до навчання. Також виявлені дегенеративні ушкодження гіпокампу у хворих на алкоголізм (синдром Корсакова) [3-6]. Комплекс «гіпокамп-гіпоталамус» можна умовно вважати центром висунення гіпотез, систем і різних комбінацій слідів і стимулів [6,8].

Значну роль у функціонуванні клітин обох структур (гіпокампу і гіпоталамусу) відіграє хелатоутворювальний цинк, який накопичується в нейронах обох структур у високих концентраціях. Тому зміни вмісту цього металу можуть слугувати показником змін функціональної активності клітин цих підкіркових структур як наслідок ряду хімічних реакцій у них [4,9].

Метою роботи було проведення дослідження змін вмісту цинку в нейронах гіпокампу і гіпоталамусу щурів при дії стресорів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Досліди виконано на білих щурах лінії Вістар. Усі тварини утримувалися на стандартному раціоні харчування віварію, при природній зміні дня і ночі. Усі експериментальні процедури здійснювали відповідно до "Положення про використання тварин у біомедичних дослідженнях".

У досліджах було використано 69 щурів, серед яких 16 тварин були контрольними, 14 – голодували, 14 – отримували глюкозу, 12 – піддавалися іммобілізації і 13 тварин отримували ін'єкції інсуліну.

Вплив іммобілізації на організм тварин оцінювали шляхом прив'язування їх м'якими пов'язками до станка в положенні на спині на 6 год. У досліджах з голодуванням мишей на 12 годин позбавляли їжі.

Дослідження впливу інсуліну та глюкози на зміни вмісту цинку в нейронах гіпокампу та гіпоталамусу проводили за такою схемою. Ін'єкції інсуліну робили підшкірно в дозі 0,2 мл (20 ОД/кг). Для цього щурам вводили гормон, розбавлений у 2 рази. Розчин глюкози вводили у хвостову вену в дозі 10 г/кг.

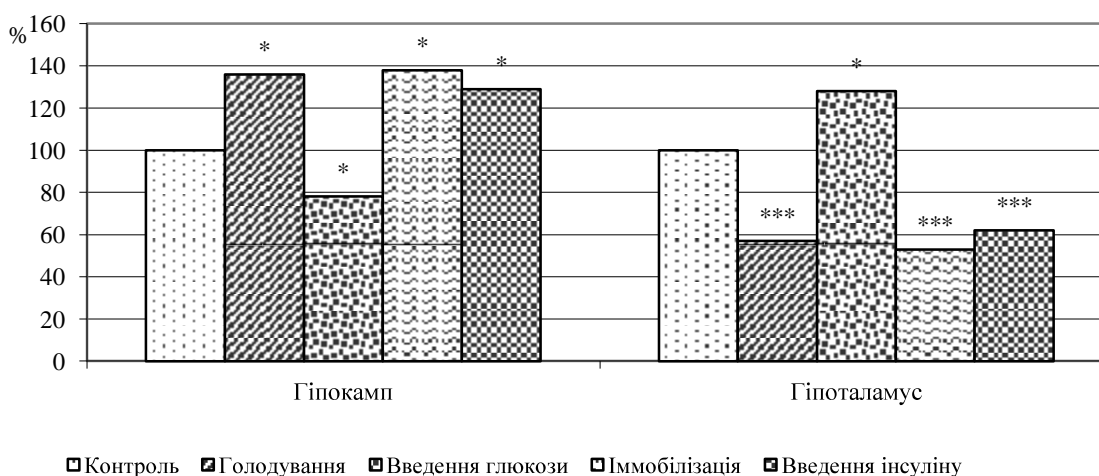
При цьому визначення цинку проводили за допомогою забарвлення зрізів тканин хелатором 8-ТСХ згідно з методикою [10, 11]. Для цього з головного мозку готували заморожені зрізи товщиною 30-60 мкм. Зрізи поміщали в гліцерин і розглядали під люмінесцентним мікроскопом. Для збудження люмінесценції використовували світлофільтр ФС-1, а як захисний (окулярний) – світлофільтр із скла ЖС-18.

Вміст цинку в нейронах досліджуваних підкоркових структур визначали в мкг/г.

Цифрові зображення препаратів отримували за допомогою люмінесцентного мікроскопу Мікмед-2, варіант 11 (виробництво ЛОМО, Росія). Отримані за допомогою цифрової камери знімки зберігали на жорсткому диску ПЕОМ у форматі tiff (Tagged Image File Format), який призначений для зберігання цифрових зображень без втрат їхньої якості. Вимірювання інтенсивності флуоресценції на цифрових знімках проводили за допомогою растрового графічного редактора GIMP, версія 2.6.10. У вікні "Гістограма" отримували основні статистичні параметри (кількість пікселів у зоні виділення, медіану, середнє значення яскравості пікселів у зоні виділення та стандартне відхилення), за якими характеризували ступінь інтенсивності люмінесцентної реакції 8-ТСХ на цинк.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Враховуючи, що в основі реагування на стресорні подразники лежить діяльність гіпоталамуса, для з'ясування його можливої участі в змінах вмісту цинку і взаємовідносин його із гіпокампом визначали вміст цього елемента в нейронах цих підкоркових структур щурів при різних стресових впливах і модифікації стану підшлункової залози, яка є одним із важливих ефекторів стресу, що забезпечує енергією перебіг стрес-реакції (рис. 1).



Примітка: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Рис. 1. Вміст цинку в гіпокампі та гіпоталамусі щурів при дії стресорів та модифікації стану підшлункової залози.

Отримані результати вмісту цинку в гіпокампі та гіпоталамусі інтактних тварин довели, що нейрони гіпоталамусу містили хелатуючого цинку на 40% менше ніж нейрони гіпокампу ($53,1 \pm 4,2$ мкг/г). Негативний вірогідний коефіцієнт кореляції ($r = -0,49$) з помірною його щільністю вказує на певний зв'язок цих показників, але з різноспрямованою тенденцією до змін.

За результатами проведеного дослідження було встановлено, що у тварин, яких піддавали іммобілізації, вміст цинку в гіпокампі дорівнював $73,0 \pm 6,5$ мкг/г, що на 37% ($p < 0,05$) вище контрольних значень. При цьому вміст цинку в гіпоталамусі в них знизився на 53% ($p < 0,001$) і склав $11,3 \pm 0,9$ мкг/г, на відміну від контролю – $21,2 \pm 1,6$ мкг/г. Негативний коефіцієнт кореляції ($r = -0,49$) між змінами вмісту цинку в нейронах гіпокампа та гіпоталамусу в іммобілізованих тваринах вказує на їх різноспрямованість.

Проведене дослідження щодо голодування тварин дозволило встановити вірогідне зменшення вмісту цинку на 56% у клітинах гіпоталамусу ($12,0 \pm 0,7$ мкг/г) та підвищення його вмісту на 35% ($p < 0,05$) у гіпокампі ($72,1 \pm 6,5$ мкг/г). Проведений кореляційний аналіз змін вмісту цинку в досліджуваних структурах головного мозку при голодуванні тварин, показав також різноспрямованість змін ($r = -0,41$) цього біометалу.

Отже, наведені вище результати дослідження впливу іммобілізації та голодування тварин на вміст цинку в нейронах гіпокампа та гіпоталамусу відбуваються на тлі активації стрес-реалізуючої системи. Відомо, що внаслідок впливу на організм будь-якого стресуючого агенту відбувається активація гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи, це в свою чергу призводить до збільшення у крові гормонів надниркових залоз – катехоламінів [12]. Підвищений рівень стресових гормонів у крові активують α - і β -рецептори, що сприяє транспорту біометалів [13, 14] у клітини та спричиняє зниження концентрації інсуліну та як наслідок – збільшення вмісту глюкози [12]. Але зміни вмісту цинку в підкоркових структурах головного мозку при різних станах активності підшлункової залози мало дослідженні.

Для встановлення можливого зв'язку вмісту цинку в гіпокампі та гіпоталамусі з різним станом підшлункової залози був проведений кореляційний аналіз отриманих результатів. Аналіз показав, що введення інсуліну тваринам призвело до вірогідного підвищення вмісту цинку в нейронах гіпокампа на 28%, що складає $68,4 \pm 5,5$ мкг/г, та зниження його вмісту в клітинах гіпоталамусу на 38% ($p < 0,001$), що склало $13,1 \pm 1,0$ мкг/г. Висока достовірність негативного коефіцієнта кореляції при помірній його щільності ($r = -0,47$) вказує на існування певного зв'язку між змінами вмісту цинку в нейронах досліджуваних підкоркових структур, але одночасність змін має різноспрямований напрям.

Підвищений рівень глюкози призвів до вірогідного зменшення вмісту цинку в гіпокампі на 22% і його підвищення на 29% та склав $41,2 \pm 3,3$ мкг/г й $27,1 \pm 1,5$ мкг/г відповідно.

Отже, голодування, іммобілізація та введення інсуліну підвищували вміст цинку в клітинах гіпокампа на 28-39% та знижували на 38-48% в клітинах гіпоталамуса. Уведення глюкози призводило до зниження вмісту цього металу в амоновому розі та підвищення цього показника в клітинах гіпоталамуса. При цьому спостерігали негативну кореляцію середньої сили ($-0,46 < r < -0,72$) між змінами вмісту цинку в клітинах гіпокампа та гіпоталамуса.

Отже, визначення вмісту цинку в гіпокампі та гіпоталамусі при дії таких стресорів, як голодування й іммобілізація, показало, що в них відбуваються одночасні, але протилежні за характером, зміни. При цьому вміст цинку в гіпокампі був підвищений при дії чинників, які гальмують секреторну активність його нейронів, а при дії факторів,

які стимулюють його секреторну активність, їх вміст знижувався, що в сукупності з визначеними кореляційними зв'язками свідчить про пов'язаність кількості цинку в клітині з їх функціональною активністю.

ВИСНОВКИ

1. У гіпокампі та гіпоталамусі спостерігаються одночасні, але протилежні за характером зміни вмісту цинку при дії таких стресорів, як голодування, іммобілізація та введення інсуліну. А саме голодування, іммобілізація та введення інсуліну підвищували вміст цинку в клітинах гіпокампу на 28-39% та знижували на 38-48% в клітинах гіпоталамуса.
2. Введення глюкози викликає протилежні зміни вмісту цинку в обох структурах-ефекторах стресу та призводило до зниження вмісту цього металу в амоніумовому розі на 22% та підвищення цього показника в клітинах гіпоталамуса на 29 %.
3. Негативна кореляція середньої сили ($-0,46 < r < -0,72$) між змінами вмісту цинку в клітинах гіпокампу та гіпоталамуса свідчить на користь зв'язку між нейронами цих структур.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абрамець І.І. Метаботропные глутаматные рецепторы нейронов головного мозга и участие в долгосрочных изменениях эффективности межнейронных синаптических связей (обзор литературы и собственных исследований) / И.И. Абрамець // Журнал АМН України. – 1999. – Т. 5, № 1. – С. 3-18.
2. Влияние антител к глутамату на развитие стресс-реакций и содержание нейромедиаторов в гиппокампе и гипоталамусе крыс с разной поведенческой активностью / [Л.А. Ветрилэ, И.А. Захарова, В.С. Кудрин и др.] // Бюл. эксп. биол. и мед. – 2013. – Т. 155, №3. – С. 318-323.
3. Григорян Р.Д. Самоорганизация гомеостаза и адаптации / Р.Д. Григорян. – К.: Академперіодика, 2004. - 501 с.
4. Єщенко Ю.В. Стрес і метаболізм металів / Ю.В. Єщенко. – Запоріжжя: ЗНУ, 2010. – 268.
5. Harvey J. Leptin regulation of neuronal morphology and hippocampal synaptic function / J. Harvey // Front Synaptic Neurosci. – 2013; 5:03. DOI: 10.3389.
6. Мурик С.Э. Общие нейрональные механизмы мотиваций и эмоций. / С.Э. Мурик. – Иркутск: Иркутского государственного университета, 2006. – 358 с.
7. Volumetric Analysis of the Hypothalamus, Amygdala and Hippocampus in Non-Suicidal and Suicidal Mood Disorder Patients - A Post-Mortem Study / [Bielau H., Brisch R., Goset T. et. al.]. // CNS Neurol Disord Drug Targets. – 2013. – [Epub ahead of print]. PMID: 24040806.
8. McGuire M.T. Moralistic aggression, processing mechanisms and the brain / M.T. McGuire // The Sense of Justice. Biological Foundations of Law / Ed. R.D. Masters, M. Gruter. Newbury Park, L., New Delhi: SAGE Publications. – 1992. – P. 31 – 46.
9. Ашмарин И.П. Нейрохимия в таблицах и схемах / Ашмарин И.П., Ещенко Н.Д., Каразеева Е.П. – М.: Экзамен, 2007. – 144 с.
10. Ещенко В.А. Гистохимическое исследование цинка / В.А. Ещенко // Цитология. – 1978. – Т. 20, №8. – С. 927-933.

11. Патент 30999 Україна, МПК G01N 1/30. Спосіб оцінки функціонального стану гіпокампу / В.О. Туманський, В.Д. Бовт, В.А. Єщенко, О.М. Кучковський, Ю.В. Єщенко; Запорізький державний університет. – № 98063393; Опубл. 15.12.2003 Бюл. №12 – 2 с.
12. Гаркави Л.Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. – Ростов-на-Дону: Ростовский университет, 1990 – 224 с.
13. Никонов В.В. Стресс: Современный патофизиологический подход к лечению / В.В. Никонов – Х.: Консул, 2002. – 240 с.
14. Райцес В.С. Нейрофизиологические основы действия микроэлементов / В.С. Райцес – Л.: Медицина, 1981. – 152 с.

УДК 611.36:569.32:57.034:577.152.1

ЦИРКАДНИЙ РИТМ АКТИВНОСТІ ДЕГІДРОГЕНАЗ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТІ В ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ І КРОЛИКІВ

Омельянчик В.Н., к.м.н., доцент, Новикова К.В., ст. лаборант,

Колесник Н.В., д.б.н., профессор

Запорожский национальный университет

В грубых гомогенатах печени мышей и кроликов, которых содержали в условиях естественного освещения в мае, без ограничения доступа к пище. Отбор проб у 6-7 животных производили через каждые 6 часов, исследовали влияние времени суток на активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (G6PD) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6PGD). С помощью косинор-анализа установлено, что активность обоих ферментов в печени мышей и кроликов изменяется с периодом, близким к 24 часам. Акрофаза активности ферментов в печени мышей наблюдается в первой половине дня с максимумом в 13-14 часов, а в печени кроликов – в первой половине ночи с максимумом в 23-24 часа. Параметры индивидуальных синусоид активности ферментов в печени нелинейных мышей и кроликов имеют широкий диапазон колебаний.

Ключевые слова: *мыши, кролики, печень, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, 6-фосфоглюконатдегидрогеназа, суточный ритм*

Омельянчик В.М., Новикова К.В., Колесник Н.В. ЦИРКАДНИЙ РИТМ АКТИВНІСТЬ ДЕГІДРОГЕНАЗ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТІ В ПЕЧІНЦІ МЫШЕЙ І КРОЛИКІВ / Запорізький національний університет, Україна.

У грубих гомогенатах печінки мишей і кроликів, яких утримували в умовах природного освітлення в травні, без обмеження доступу до їжі. Відбір проб у 6-7 тварин проводили через кожні 6 годин, досліджували вплив часу доби на активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і 6-фосфоглюконатдегідрогенази. За допомогою косинор-аналізу встановлено, що активність обох ферментів у печінці мишей і кроликів змінюється з періодом, близьким до 24 годин. Акрофаза активності ферментів у печінці мишей спостерігається в першій половині дня з максимумом у 13-14 годин, а в печінці кроликів – у першій половині ночі з максимумом у 23-24 години. Параметри індивідуальних синусоїд активності ферментів у печінці нелінійних мишей і кроликів мають широкий діапазон коливань.

Ключові слова: *миші, кролики, печінка, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, 6-фосфоглюконатдегідрогеназа, добовий ритм*

Omelyanchik V.N., Novikova K.V., Kolesnik N.V. CIRCADIAN RHYTHMS DEHYDROGENASE PENTOSE PHOSPHATE PATHWAY IN THE LIVER OF MICE AND RABBITS / Zaporizhzhya National University, Ukraine

In liver crude homogenates of mice and rabbits, which are containing in natural light may, without limiting the access to food and sampling from 6-7 animals every 6 hours and examined the effect of time of day, the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase.