

УДК 615.838:577.175.325/.5:616-002.7:57.085

РЕАКЦИЯ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ КРЫС НА ДЕЙСТВИЕ БАЛЬНЕОЛОГИЧЕСКОГО ФАКТОРА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ

¹Селятицкая В.Г., ²Андросова Е.Н., ¹Пальчикова Н.А., ¹Кузьмина О.И.

¹Учреждение Российской академии медицинских наук «Научный центр клинической и экспериментальной медицины Сибирского отделения РАМН», Новосибирск,
e-mail: csem@soramn.ru;

²ЗАО Курорт «Белокуриха», Белокуриха

Бальнеопроцедуры с использованием природной минеральной воды курорта Белокуриха обладают выраженным адаптогенным действием, что связано с усилением синтеза и формированием в клетках коры надпочечников депо глюкокортикоидных и минералокортикоидных гормонов. Реакция со стороны коры надпочечников у животных с хроническим воспалением на бальнеопроцедуры выражена в большей степени, чем у животных без патологического процесса. Использование минеральной воды по сравнению с водопроводной водой вызывает более выраженное увеличение содержания в сыворотке крови крыс с хроническим воспалением не только глюко- и минералокортикоидов, но и андрогенов.

Ключевые слова: гормоны коры надпочечников, хроническое неспецифическое воспаление, природная минеральная вода

RATS ADRENAL CORTEX REACTIONS ON BALNEAL FACTOR INFLUENCE AT CHRONIC INFLAMMATION

¹Selyatitskaya V.G., ²Androsova E.N., ¹Palchikova N.A., ¹Kuzminova O.I.

¹Institutions of Russian Academy Medical Sciences Scientific Centre of Clinical and Experimental
Medicine Siberian Branch RAMS, Novosibirsk, e-mail: csem@soramn.ru;

²JSC Resort «Belokurikha», Belokurikha,

The balneal treatment by natural mineral water of resort "Belokurikha" has expressed adaptive effect, that is connected with mineralocorticoid and glucocorticoid synthesis and depot forming intensification at adrenal cortex cells. Adrenal cortex reaction on balneal treatment at animals with chronic inflammation is found to be more expressed that at rats without pathologic process. The treatment of rats with chronic inflammation mineral water in comparison with tap water causes more expressed increase of blood serum content not only gluco- and mineralocorticoids, but too androgens.

Keywords: adrenal cortex hormones, chronic nonspecific inflammation, natural mineral water

Гормоны коры надпочечников (НП) – кортикостероиды (КС), играют важную роль в регуляции процессов жизнедеятельности организма. Так, глюкокортикоидные гормоны участвуют в осуществлении приспособительных реакций организма, способствуя при стрессе мобилизации энергетических ресурсов; минералокортикоидные гормоны осуществляют поддержание водно-электролитного гомеостаза; андрогены, синтезируемые в коре НП, служат предшественниками тестостерона и участвуют в реализации приспособительных реакций. Следовательно, от реактивности коры НП к действию стресс-факторов различной природы и активности синтеза КС зависит осуществление многих жизненно важных функций организма. В свою очередь, реактивность коры НП зависит от вида животного, возраста, пола, состояния организма. Так, при длительном действии на организм стресс-факторов, формировании состояния адаптации меняется реактивность коры НП к влиянию не только действующего, но и других факторов [5, 10]. Наличие какого-либо патологического очага в организме также

в определенной мере влияет на активность синтеза КС [7], что влечет за собой изменение реактивности коры НП к действию стресс-факторов и неадекватный ответ висцеральных систем организма [9].

Известно, что под влиянием различных бальнеологических факторов (минеральные воды, грязь, рапа и т.д.) изменяются синтез КС в НП и содержание этих гормонов в крови, что активизирует адаптивные реакции со стороны гомеостатических систем и повышает общую резистентность организма [2]. В этой связи необходимо знать, как зависит реактивность коры НП на действие бальнеологического фактора от наличия хронического патологического процесса в организме.

Цель исследования: на экспериментальной модели изучить реактивность коры НП к действию природной минеральной воды курорта Белокуриха в зависимости от наличия или отсутствия у животных патологического процесса (на примере неспецифического гранулематозного воспаления).

Материал и методы исследования

Природная минеральная вода курорта Белокуриха отнесена к группе гидрокарбонатно-сульфат-

но-натриевых слаборадоновых вод с повышенным содержанием кремниевой кислоты и фтора. В воде содержатся в разных концентрациях также кальций, магний, хлор, литий, марганец, титан и другие микроэлементы [1].

В работе использовали половозрелых крыс самцов породы Вистар ($n = 80$) с массой тела 300–350 г. При работе с животными соблюдали принципы гуманности, изложенные в Хельсинкской декларации. В течение двух недель животные были адаптированы к условиям содержания, в течение всего эксперимента имели свободный доступ к стандартным кормам и водопроводной воде. Животные были разделены на 6 групп: контрольная (интактные крысы, $n = 5$) и 5 опытных групп по 15 крыс в каждой. В 1-ю и 2-ю опытные группы были включены крысы, которым проводили курс бальнеопроцедур из 3, 10 или 20 ежедневных ванн. Каждая бальнеологическая процедура представляла собой погружение животных на 30 мин в водопроводную воду (ВВ) с температурой 22–24 °С (1-я опытная группа) или природную минеральную воду (МВ) курорта Белокуриха также с температурой воды 22–24 °С (2-я опытная группа). У крыс с 3-й по 5-ю опытные группы было индуцировано хроническое неспецифическое воспаление путем однократного введения в хвостовую вену 0,8 мл суспензии микрокристаллов диоксида кремния S5631 Sigma-Aldrich (1–5 мкм) в изотоническом 0,85% водном растворе NaCl из расчета 35 мг/кг массы тела [6]. Через 10 суток начинали проводить бальнеологические процедуры в ВВ (4-я опытная группа) или в МВ (5-я опытная группа) по описанной выше схеме из 3, 10 или 20 ежедневных ванн.

Животных выводили из эксперимента декапацией. В сыворотке крови и ткани НП определяли содержание кортикостерона радиоиммунным методом с использованием [1, 2, 6, 7-³H]-Corticosterone (Amersham) и Corticosterone antiserum (Sigma-Aldrich). Содержание дегидроэпиандростерон сульфата (ДГЭАС) в сыворотке и ткани НП, прогестерона в ткани НП и тестостерона в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с использованием отечественных коммерческих наборов, альдостерона – наборов фирмы DRG (США).

Статистическую обработку материала проводили с использованием пакета статистических программ Statistica 6,0 («StatSoft», США). Результаты в таблицах представлены как $M \pm m$, где M – выборочное среднее, m – ошибка среднего. Сравнительный анализ проводили с использованием критерия Краскела-Уоллиса для множественных сравнений и критерия Манна-Уитни для парных сравнений. Вероятность справедливости нулевой гипотезы принимали при 5%-м уровне значимости.

Результаты исследования и их обсуждение

Купание крыс в ВВ через 3 суток после начала бальнеопроцедур привело к снижению содержания в ткани НП прогестерона – предшественника в биосинтезе глюко- и минералокортикоидов, кортикостерона – основного глюкокортикоидного гормона у грызунов, и сульфатированной формы также синтезируемого в коре надпочечников андрогена ДГЭАС (табл. 1). Такая реакция

указывает на выраженное стрессирующее действие водных процедур для крыс, что привело к выбросу в циркуляцию основного адаптивного гормона кортикостерона. Снижение содержания прогестерона и ДГЭАС указывает на нарастающее усиление синтеза в коре НП именно глюкокортикоидных гормонов за счет снижения синтеза других стероидных гормонов. Через 10 суток было определено восстановление до контрольного уровня содержания всех стероидов в ткани НП, а через 20 суток – превышение, что, вероятно, связано с неспецифической стимуляцией биосинтеза КС и их депонированием в ткани НП при длительном действии бальнеофактора. Такое усиление биосинтеза КС может осуществляться за счет повышения активности образования прегненолона – раннего общего предшественника всех КС.

Купание крыс в МВ через 3 суток после начала бальнеопроцедур привело к снижению содержания в ткани НП только прогестерона. Через 10 суток на фоне сниженного содержания прогестерона отмечено повышение содержания кортикостерона, которое сохранялось и через 20 суток, при этом содержание прогестерона и ДГЭАС не отличалось от величин соответствующих показателей у крыс контрольной группы (см. табл. 1). Полученные результаты позволяют говорить о том, что купание крыс в МВ вызвало более выраженную реакцию со стороны именно глюкокортикоидного звена адренкортикальной системы, при этом активность синтеза кортикостерона возросла раньше и в большей степени, чем при купании животных в ВВ, в то время как синтез андрогенов не претерпевал существенных изменений.

Хроническое воспаление у крыс не вызвало изменения содержания КС в ткани НП, хотя в конце эксперимента была выявлена тенденция к повышению содержания кортикостерона в НП (см. табл. 1). Купание крыс с воспалением в ВВ (4-я опытная группа) характеризовалось отсутствием начальной реакции адренкортикальной системы на процедуры и нарастанием содержания кортикостерона в ткани НП к концу эксперимента, а в МВ (5-я опытная группа) – нарастанием содержания кортикостерона в ткани НП на всех сроках после начала бальнеопроцедур.

В сыворотке крови крыс 1-й опытной группы через 3 суток после начала купаний в ВВ было отмечено повышение содержания кортикостерона (табл. 2).

В последующие сроки эксперимента существенных изменений уровней гормонов от величин соответствующих показателей у контрольных животных не выявля-

Таблица 1

Содержание гормонов в ткани НП крыс в разные сроки после индукции хронического неспецифического воспаления (ХНВ) диоксидом кремния и последующего купания животных в водопроводной (ВВ) или минеральной (МВ) водах ($M \pm m$)

Группа животных	Сутки	Кортикостерон, нг/мг ткани НП	Прогестерон, нг/мг ткани НП	ДГЭАС, нг/мг ткани НП
Контрольная	0	8,8 ± 1,2	0,452 ± 0,038	4,45 ± 0,19
Опытная 1 – крыс купали в ВВ	3	5,3 ± 0,3*	0,248 ± 0,031**	2,71 ± 0,39**
	10	10,1 ± 2,8	0,342 ± 0,038	3,53 ± 0,43
	20	12,4 ± 0,9##	0,562 ± 0,119*	5,80 ± 0,49##
Опытная 2 – крыс купали в МВ	3	10,3 ± 2,2	0,276 ± 0,053*	4,89 ± 1,06
	10	16,6 ± 1,5**	0,270 ± 0,044*	4,56 ± 1,12
	20	17,2 ± 2,7 *	0,418 ± 0,038	4,44 ± 0,49
Опытная 3 – крысы с ХНВ	13	8,2 ± 2,2	0,392 ± 0,021	4,56 ± 0,40
	20	10,6 ± 1,4	0,323 ± 0,019	4,28 ± 0,49
	30	15,4 ± 3,3	0,342 ± 0,050	5,01 ± 0,60
Опытная 4 – крысы с ХНВ и купанием в ВВ	10 + 3	12,1 ± 1,3	0,386 ± 0,028^	4,28 ± 0,57
	10 + 10	12,7 ± 1,4	0,333 ± 0,041	5,02 ± 0,42
	10 + 20	20,7 ± 1,9**###^	0,597 ± 0,094	5,08 ± 0,13
Опытная 5 – крысы с ХНВ и купанием в МВ	10 + 3	16,9 ± 2,7*	0,392 ± 0,022	3,47 ± 0,33
	10 + 10	15,8 ± 2,6*	0,320 ± 0,009	4,78 ± 1,18
	10 + 20	18,1 ± 2,0**	0,571 ± 0,044#	5,60 ± 0,46

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ по сравнению с величиной соответствующего показателя у животных контрольной группы; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$ по сравнению с величиной соответствующего показателя у животных той же опытной группы при 3 сутках воздействий; ^ – $p < 0,05$; ^^ – $p < 0,01$ по сравнению с величиной соответствующего показателя у животных 1-й или 2-й опытной группы.

Таблица 2

Содержание гормонов в сыворотке крови крыс в разные сроки после индукции хронического неспецифического воспаления (ХНВ) и последующего купания животных в водопроводной (ВВ) или минеральной (МВ) водах ($M \pm m$)

Группа животных	N	Кортикостерон, нг/мл	Альдостерон, пг/мл	Тестостерон, нг/мл	ДГЭАС, нг/мл
Контрольная	0	48,5 ± 4,8	25,9 ± 6,0	1,91 ± 0,20	127 ± 13
Опытная 1 – крыс купали в ВВ	3	79,2 ± 10,1*	38,1 ± 11,8	2,04 ± 0,28	149 ± 59
	10	43,3 ± 6,8	30,3 ± 7,4	2,34 ± 0,65	111 ± 30
	20	42,5 ± 2,7	36,1 ± 5,6	2,46 ± 0,49	138 ± 30
Опытная 2 – крыс купали в МВ	3	75,6 ± 11,8	14,9 ± 3,4	2,49 ± 0,41	164 ± 19
	10	41,2 ± 6,1	58,0 ± 8,5*##	2,29 ± 0,68	140 ± 18
	20	60,8 ± 9,1	46,2 ± 8,1	1,54 ± 0,17	89 ± 17
Опытная 3 – крысы с ХНВ	13	70,0 ± 14,8	30,3 ± 7,9	2,45 ± 0,28	144 ± 29
	20	44,2 ± 4,2	19,9 ± 5,6	2,15 ± 0,69	166 ± 53
	30	25,6 ± 2,4**	9,6 ± 2,9*	2,80 ± 0,62	154 ± 21
Опытная 4 – крысы с ХНВ и купанием в ВВ	10 + 3	90,8 ± 7,7*	27,4 ± 7,4	2,37 ± 0,58	140 ± 35
	10 + 10	65,8 ± 3,4#	79,2 ± 9,5**^^	2,29 ± 0,35	135 ± 24
	10 + 20	51,2 ± 10,0#	61,1 ± 4,4**^	3,04 ± 0,62	132 ± 31
Опытная 5 – крысы с ХНВ и купанием в МВ	10 + 3	111,0 ± 16,2*	20,8 ± 5,2	3,46 ± 0,48*	114 ± 22
	10 + 10	53,8 ± 3,8#	15,8 ± 3,6^^	3,52 ± 0,33**	195 ± 21*#
	10 + 20	112,0 ± 13,0**^	85,2 ± 8,5**^	2,28 ± 0,77	131 ± 8

Примечание. См. табл. 1.

но. Полученные результаты подтверждают предположение, что при многократно повторяющемся купании крыс в ВВ первоначально развивается стресс-реакция с выбросом глюкокортикоидных гормонов в кровь. В последующем она замещается формированием адаптивной перестройки активности реакций биосинтеза стероидов, заключающейся в активации синтеза раннего предшественника прегненолона и повышении резервов кортикостероидов в депонированном виде в НП. У крыс 2-й опытной группы также было отмечено повышение содержания кортикостерона в сыворотке крови в начале купаний в МВ. Через 10 суток ежедневных купаний в МВ содержание кортикостерона в сыворотке крови нормализовалось, но при этом возросло содержание альдостерона, что согласуется с понижением его содержания в ткани НП на этом сроке эксперимента. Можно предположить, что купания крыс в МВ в связи с содержащимися в ней минеральными веществами влияют на водно-солевой обмен, что приводит к изменению синтеза и секреции основного минералокортикоидного гормона альдостерона.

У крыс с хроническим воспалением (3-я опытная группа) к концу эксперимента в сыворотке крови снизилось содержание кортикостерона и альдостерона. Полученные результаты позволяют говорить о формирующемся при длительном воспалительном процессе гипокортицизме, который не связан с угнетением синтеза этих гормонов в коре НП, поскольку содержание предшественника в их синтезе – прогестерона, и основного глюкокортикоидного гормона – кортикостерона, в НП не изменено по сравнению с величинами соответствующих показателей у животных контрольной группы. Аналогичную реакцию мы отмечали и ранее у крыс после введения им двуокиси кремния [3], однако она была выявлена на более ранних сроках после индукции воспаления. Разница может быть обусловлена введением ранее в три раза большего количества двуокиси кремния (100 мг/кг массы тела) по сравнению с использованной в настоящей работе дозой индуктора (35 мг/кг массы тела).

У крыс с воспалением, купанных в ВВ (4-я опытная группа), изменения содержания кортикостерона в сыворотке крови были аналогичны таковым у крыс 1-й опытной группы, однако уровень гормона по всем трем точкам эксперимента в 4-й группе имел тенденцию к повышению. После 10 и 20 процедур купаний в ВВ у крыс с воспалением (4-я опытная группа) значительно повысилось содержание в сыворотке крови

альдостерона, но содержание андрогенов при этом не менялось на протяжении всего эксперимента. У крыс с воспалением, купанных в МВ (5-я опытная группа), также повышалось содержание кортикостерона в сыворотке крови через 3 процедуры купаний, затем величина этого показателя снижалась, но к концу эксперимента отмечено ее повторное повышение. В этот же срок выявлено значительное повышение содержания в сыворотке крови альдостерона, а в более ранний срок – после 10 бальнеопроцедур, повышение содержания обоих андрогенов – тестостерона и ДГЭАС. Таким образом, реакция со стороны коры НП, оцененная по содержанию КС в сыворотке крови, была в наибольшей степени выражена у крыс с воспалением, купанных в МВ (5-я опытная группа), по сравнению не только с животными 2-й опытной группы, но и с животными с воспалением, купанными в ВВ (4-я опытная группа).

Известны ингибирующие эффекты стресса и гормона стресса кортикостерона на репродуктивную систему у самцов [8]. В нашей работе показано, что, несмотря на увеличение содержания в НП и крови кортикостерона при бальнеопроцедурах, у животных с воспалением, купанных в МВ, отмечено повышение содержания тестостерона в сыворотке крови. Результаты позволяют говорить о реакции коры НП на бальнеопроцедуры с использованием природной МВ как о форме эустресса в терминологии Г. Селье [4].

Заключение

Показано, что бальнеопроцедуры с использованием природной МВ курорта Белокуриха обладают выраженным адаптогенным действием, что связано с усилением синтеза и формированием в клетках коры НП депо глюкокортикоидных и минералокортикоидных гормонов. Реакция со стороны коры НП у животных с воспалением на бальнеопроцедуры как с ВВ, так и с МВ, выражена в большей степени, чем у животных без патологического процесса, что, вероятно, необходимо для оптимизации иммунного статуса организма. Использование МВ по сравнению с ВВ вызывает большее увеличение содержания в сыворотке крови крыс с воспалением глюко- и минералокортикоидов, а также андрогенов. Такая реакция организма по своим параметрам (уровни содержания гормонов в крови, фазный характер, одновременное повышение содержания глюкокортикоидов и андрогенов) носит не патологический, а позитивный приспособительный характер.

Список литературы

1. Адилов В.Б. Кремнистые минеральные воды юга Западной Сибири и их лечебное использование / В.Б. Адилов, В.А. Елисеев, А.В. Пузанов // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2001. – №2. – С. 41–43.

2. Калинин С.В. Физиология грязелечения как частный случай неспецифической адаптации организма // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2003. – №4. – С. 52–54.

3. Реакция адренокортикальной системы на индукцию воспаления диоксидом кремния у крыс с аллоксановым диабетом / Н.В. Кузнецова, Н.А. Пальчикова, В.Г. Селятицкая, В.А. Шкурупий // Бюл. экспер. биол. мед. – 2010. – Т. 149, №6. – С. 631–634.

4. Селье Г. Стресс без дистресса. – М.: Прогресс, 1979. – 123 с.

5. Селятицкая В.Г., Обухова Л.А. Эндокринно-лимфоидные отношения в динамике адаптивных процессов. – Новосибирск: СО РАМН, 2001. – 168 с.

6. Влияние бальнеологического фактора курорта Белокуриха на антиоксидантную активность сыворотки крови и на ее изменение в динамике хронического неспецифического гранулематозного воспаления / В.А. Шкурупий, В.Ю. Куликов, Е.Б. Меньшикова, Н.К. Зенков, И.В. Жилияков // Бюл. СО РАМН. – 2006. – №2. – С. 159–165.

7. Children suffering from separation anxiety disorder (SAD) show increased HPA axis activity compared to healthy controls / S. Brand, F.H. Wilhelm, J. Kossowsky, E. Holsboer-

Trachsler, S. Schneider // J. Psychiatr. Res. – 2011. – Vol. 45, №4. – P. 452–459.

8. Effects of acute restraint stress on sperm motility and secretion of pituitary, adrenocortical and gonadal hormones in adult male rats / L. Ren, X. Li, Q. Weng, H. Trisomboon, T. Yamamoto, L. Pan, G. Watanabe, K. Taya // J. Vet. Med. Sci. – 2010. – Vol. 72, №11. – P. 1501–1506.

9. Handwerker K. Differential patterns of HPA activity and reactivity in adult in posttraumatic stress disorder and major depressive disorder / K. Handwerker // Harv. Rev. Psychiatry. – 2009. – Vol. 17, №3. – P. 184–205.

10. Role of central Glucagon-like peptide-1 in hypothalamo-pituitary-adrenocortical facilitation following chronic stress / M. Tauchi, R. Zhang, D.A. D'Alessio, R.J. Seeley, J.P. Herman // Exp. Neurol. – 2008. – Vol. 210, №2. – P. 458–466.

Рецензенты:

Усынин И.Ф., д.б.н., зав. лабораторией молекулярной биологии клетки НИИ биохимии Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск;

Лушникова Е.Л., д.б.н., профессор, зав. лабораторией цитологии и клеточной биологии НИИ региональной патологии и патоморфологии Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 05.09.2011.