

© М.А. Даниелян, 2007
УДК: 611.16:611.81:616.8-008.015:599.323.43

М.А. Даниелян

РЕАКЦИЯ КАПИЛЛЯРОВ МОЗГА КРЫС НА ИММОБИЛИЗАЦИОННЫЙ СТРЕСС

Лаборатория гистохимии и нейроморфологии (зав. — канд. биол. наук И.Б. Меликсетян) Института физиологии им. акад. Л.А. Орбели НАН РА, г. Ереван

Кальций аденозинтрифосфатным гистоангиологическим методом А.М. Чилингаряна исследовано морфофункциональное состояние капиллярного звена микроциркуляторного русла головного мозга крыс в различные сроки после экспериментального иммобилизационного стресса (фиксация животных на спине в течение 2 ч). Анализ морфометрических данных показал, что в сравнении с интактными животными, непосредственно после стресса происходит сужение капилляров на 17,2%, затем на 2-е сутки наступает компенсаторное расширение на 2,5% и далее снова происходит небольшое сужение на 5,6%. Морфометрические показатели спокойных и агрессивных животных свидетельствуют о том, что поведенческий стереотип спокойных животных обеспечивает более щадящий физиологический ответ на стресс. Предполагается, что различия в дисфункции капилляров во многом зависят от повреждений в нейрональных системах, вовлекаемых в регуляцию микроциркуляции.

Ключевые слова: капилляры, головной мозг, иммобилизационный стресс.

При стрессе, с одной стороны, вследствие активации физиологической деятельности ряда систем организм быстро мобилизуется для противостояния угрозе нарушения гомеостаза благодаря устойчивости различных структур, а также их способности к быстрому восстановлению. С другой стороны, хроническая активация стрессовой реакции пагубно влияет на гомеостаз организма. Активируется система гипоталамус — гипофиз — надпочечник [9, 10, 16]. Происходит перестройка ряда физиологических процессов, затрагивающих в первую очередь кровоснабжение наиболее кислородзависимых органов — сердца, скелетных мышц, мозга. Важнейшим компонентом микроциркуляторного русла мозга являются капилляры, через стенку которых происходит обмен между кровью и внутритканевой средой, т. е. транскapиллярный обмен [6]. Исходя из этого, целью данного исследования явилось изучение морфофункционального состояния капилляров мозга крыс в динамике после иммобилизационного стресса, а также реакции капилляров, связанной с поведенческим стереотипом животных.

Материал и методы. Эксперименты проведены на 25 половозрелых крысах массой 220–250 г. Пять интактных крыс служили в качестве контроля. Иммобилизационный стресс вызывали посредством фиксирования животного на спине в течение 2 ч. Животные были наркотизованы нембуталом (40 мг/кг, внутривенно). У 1-й группы крыс, находящихся в глубоком наркозе, мозг брали непосредственно после стресса, у 2-й — через 24 ч, у 3-й — через 48 ч и у 4-й — через 72 ч после стресса. Материал фиксировали в 5% растворе нейтрального формалина в течение 24 ч на холоду, дальнейшую его обработку проводили согласно безинъекционному гистоангиологическому методу А.М. Чилингаряна

[7]. На препаратах в сенсомоторной области коры большого мозга как у интактных животных, так и подопытных групп окулярным микрометром под светооптическим микроскопом (об. 40, ок. 7) измеряли диаметр капилляров. Проводили также раздельное морфометрическое исследование капилляров мозга агрессивных и спокойных животных (критерии см. ниже). У каждого животного (n=5) производили 100 измерений. Оценку статистической значимости цифровых данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования. Макроскопически мозг животных, подвергшихся иммобилизационному стрессу, обескровлен. На толстых срезах мозга, благодаря коричневому осадку фосфата свинца на эндотелии сосудов, было выявлено капиллярное русло, фрагменты артериол и венул. Как правило, в капиллярах этот осадок имел характер мелкозернистых вкраплений. Анализ морфометрических данных показал, что непосредственно после стресса происходит сужение просвета капилляров мозга на 17,21%, через 24 ч наступает дилатация на 2,5%, через 48 и 72 ч — постепенное сужение на 5,57% (таблица).

Кроме того, были выделены 2 группы животных в связи с поведенческим стереотипом. Критерием оценки разграничительных особенностей в поведенческих проявлениях исследуемых животных явилась относительная степень агрессивности крыс во время и после иммобилизационного стресса. В течение экспериментально вызванного стресса часть крыс вели себя очень агрессивно, и они всячески старались перегрызть узлы, которыми были привязаны на дощечке спиной вниз. По-видимому, они были подвержены более сильной стрессовой реакции, так как после эксперимента эти животные в течение первых 2 ч стояли на задних лапах

Диаметр капилляров мозга интактных крыс и после иммобилизационного стресса ($\bar{x} \pm s\bar{x}$, мкм)

Интактная группа	Животные, подвергшиеся стрессу							
	Общая группа животных				Группа агрессивных животных		Группа спокойных животных	
	Сразу после стресса	Через 24 ч	Через 48 ч	Через 72 ч	Сразу после стресса	Через 24 ч	Сразу после стресса	Через 24 ч
6,10±0,22	5,05±0,43*	6,2±1,0*	5,76±0,07*	5,8±0,5*	4,9±0,8*	7,0±1,9**	5,20±0,09*	5,50±0,08*

Примечание. Различия по сравнению контролем значимы: * при $P < 0,001$; ** при $P < 0,05$.

и, не признавая своих сородичей, огрызались друг на друга. Крысы другой группы непосредственно после стресса вели себя спокойно, несколько вяло, и животные тесно собирались вместе. Анализ морфометрических данных показал, что у агрессивных животных констрикция составила 20%, а у спокойных — 15% по сравнению с размерами сосудов у интактных животных. Через 24 ч после стресса наступало расширение просвета капилляров, однако у группы спокойных крыс дилатация шла постепенно. В отличие от этого, у агрессивных крыс происходило резкое расширение просвета капилляров, которое превышало показатели у интактных животных на 14,7% (см. таблицу).

Обсуждение полученных данных. Процесс саморегуляции обеспечивается нервными связями или гуморальным путём. Если в обычных условиях адаптационные механизмы требуют участия нервной системы, то в условиях стресса оно особенно необходимо. Поэтому не удивительно, что именно симпатическая нервная система реагирует первая [2], с чем, вероятно, связано сужение капилляров непосредственно после стресса. При стрессовых реакциях происходит включение адаптационных механизмов разных систем — гипоталамуса, передней доли гипофиза, коры надпочечников и др. [15]. Длительная активация этих систем приводит к усиленному выделению глюкокортикоидных гормонов и катехоламинов, что вызывает через изменения в экспрессии генов дисрегуляцию иммунных реакций [14]. Кроме того, обусловленная стрессом ранняя экспрессия генов вызывает активацию α - и β -адреноблокаторов [18], что, вероятно, приводит к нарушению кровообращения. Наблюдаемое через 24 ч расширение капилляров является следствием действия гистамина, выделяемого при дегрануляции тучных клеток под действием кортиколиберина, нейротензина и субстанции P [17]. На основании измерений диаметра капилляров мозга под воздействием гистамина, установлено, что происходит расширение их просвета на 47% [4]. Повышенные уровни гистамина через рецепторы селективно модулируют секрецию норадреналина надпочечников [12], т. е. приводят к нарастанию симпатoadrenalовой активности, чем, вероятно, обуслов-

лено дальнейшее сужение капилляров. Большой интерес представляет морфометрический анализ диаметра капилляров мозга в связи с поведением животных. Данные свидетельствуют, что в отличие от группы спокойных животных, у агрессивных крыс наблюдаются более резкие колебания калибра капилляров после стресса. Исследования мозга крыс, предрасположенных и резистентных к стрессу, выявили морфохимические особенности нейронов гиппокампа, что связывают с различием в поведении животных [1]. Установлены межлинейные различия в плотности и морфологических особенностях гетерохроматина нейронов гиппокампа [3, 8]. Различия выявлены в кортикотропных и серотонинергических ответах на стресс в связи с поведенческим стереотипом [13]. Имеются также данные о связи иммунного ответа с поведением животных [4].

Таким образом, морфометрические данные указывают на компенсаторно-приспособительные изменения капиллярного звена микроциркуляторного русла после иммобилизационного стресса, причём физиологический ответ на стресс непосредственно связан с поведенческим стереотипом подопытных животных [4]. Учитывая анатомические, физиологические и биохимические исследования, подтверждающие возможность нейронального контроля функции капилляров [11], можно предположить, что различия в дисфункции капилляров мозга спокойных и агрессивных животных во многом зависят от повреждений в нейрональных системах, вовлекаемых в регуляцию микроциркуляции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Герштейн Л.М. и Сергутина А.В. Морфохимическая характеристика гиппокампа крыс, генетически предрасположенных (Август) и устойчивых (Вистар) к эмоциональному стрессу. В кн.: Колосовские чтения – 2002. СПб., изд. Ин-та физиологии им. И.П. Павлова, с.84.
2. Горизонтов П.Д. и Сиротинин Н.Н. Патологическая физиология экстремальных состояний. М., Медицина, 1973.
3. Дюжикова Н.А., Соколова Н.Е., Савенко Ю.Н. и др. Отдаленные последствия влияния пре- и постнатального стрессорных воздействий на характеристики гетерохроматина в нейронах гиппокампа крыс с различной возбудимостью нервной системы. В кн.: Колосовские чтения – 2002. СПб., изд. Ин-та физиологии им. И.П. Павлова, с.102.

4. Идова Г.В., Чейдо М.А. и Жукова Е.Н. Влияние иммобилизационного стресса на иммунный ответ у мышей с различным стереотипом поведения. Журн. высш. нервн. деят., 1999, т. 49, № 5, с. 847–854.
5. Мелконян Н.Н., Казарян К.В. и Чилингарян А.М. Функциональное состояние внутриорганного микроциркуляторного русла под воздействием гистамина. Биол. журн. Армении, 1987, т. 40, № 5, с. 404–406.
6. Чернух А.М., Александров П.Н. и Алексеев О.В. Микроциркуляция. М., Медицина, 1984.
7. Чилингарян А.М. Новый кальций аденозинтрифосфатный метод для выявления внутриорганного микроциркуляторного русла у кошек. Докл. АН АрмССР, 1986, т. 82, вып. 1, с. 66–71.
8. Ширяева Н.В., Вшивцева В.В., Лукашин В.Г. и Вайдо А.И. Долгосрочные эффекты пре- и постнатального стресса на плотность нейронов гиппокампа у двух линий крыс, селективных по возбудимости нервной системы. В кн.: Колосовские чтения – 2002. СПб., изд. Ин-та физиологии им. И.П. Павлова, с. 310.
9. Inoue T., Tsuchiya K. and Koyama T. Regional changes in dopamine and serotonin activation with various intensity of physical and psychological stress in the rat brain. Pharmac. Biochem. Behav., 1994, v. 49, p. 911–920.
10. Gray T. Limbic and Neurotransmitters as modulators of autonomic and neuroendocrine responses to stress. In: Stress: Neurobiology and Neuroendocrinology. New York, Dekker, 1991, p. 79–89.
11. Kobayashi H., Magnoni M.S., Govoni S. et al. Neuronal control of brain microvesel function. Experientia, 1985, v. 41, № 4, p. 427–434.
12. Kuzmin A.I., Zaretsky D.V., Kalenikova E.I. et al. The effect of histamine receptor antagonists on stress-induced catecholamine secretion: an adrenomedullary microdialysis study in the rat. Eur. J. Pharmacol., 1999, v. 378, № 3, p. 311–316.
13. Martin C.L., Duclos M., Aquerre S. et al. Corticotropic and serotonergic responses to acute stress with/without prior exercise training in different rat strains. Acta Physiol. Scand., 2000, v. 168, № 3, p. 421–430.
14. Padgett D.A. and Glaser R. How stress influences the immune response. Trends Immunol., 2003, v. 24, № 8, p. 444–448.
15. Palkovits M. Organization of the stress response at the anatomical level. Prog. Brain Res., 1987, v. 72, p. 47–55.
16. Palkovits M., Brownstein M., Kizer J. et al. Effect of stress on serotonin and tryptophan hydroxylase activity of brain nuclei. In: Catecholamines and stress. Bratislava, Veda, 1975, p. 51–58.
17. Singh L.K., Pang X., Alexacos N. et al. Acute immobilization stress triggers skin mast cell degranulation via corticotropin releasing hormone, neurotensin, and substance P: a link to neurogenic skin disorders. Brain Behav. Immun., 1999, v. 13, № 3, p. 225–239.
18. Ueyama T., Yoshida K. and Senba E. Emotional stress induces immediate-early gene expression in rat heart via activation of alpha- and beta-adrenoreceptors. Am. J. Physiol., 1999, v. 277, № 4, p. 1553–1561.

Поступила в редакцию 16.01.06
Получена после доработки 09.03.07

REACTION OF RAT BRAIN CAPILLARIES TO IMMOBILIZATION STRESS

M.A. Danielyan

Using calcium-adenosine triphosphate histoangiological method of Chilingarian, the morpho-functional state of the capillary limb of the microcirculatory bed in rat brain was studied at various time intervals after the exposure to experimental immobilization stress (fixation of the animals on the back for 2 hours). The analysis of morphometric data has show that in comparison with intact animals, immediately after the stress the capillaries were contracted by 17,2%, while on the second day their compensatory dilatation by 2,5% took place, which was later followed by a small contraction of 5,6%. Morphometric parameters of the placid and aggressive groups of animals indicate that the behavioral stereotype of placid animals secures more sparing physiological response to stress. It is suggested that the differences in capillary dysfunction significantly depend on the degree of lesions of the neuronal systems, which are involved in microcirculation control.

Key words: *capillaries, brain, immobilization stress.*

Laboratory of Histochemistry and Neuromorphology, L.A. Orbeli Institute of Physiology, National Academy of Sciences, Yerevan, Armenia.