

*На правах рукописи*

ЯСЕНЯВСКАЯ АННА ЛЕОНИДОВНА

**НЕЙРОИММУНОЭНДОКРИННЫЕ ЭФФЕКТЫ  
АНТИОКСИДАНТОВ  
ПРИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫХ СОСТОЯНИЯХ**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

03.03.01 физиология

Волгоград 2013

Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации и ФГБУ «Научно-исследовательский институт по изучению лепры» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:** **Самотреева Марина Александровна**  
доктор медицинских наук, доцент кафедры ботаники, фармакогнозии и фармацевтической технологии ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, старший научный сотрудник ФГБУ «Научно-исследовательский институт по изучению лепры» Минздрава России

**Официальные оппоненты:** **Осадшая Людмила Борисовна**  
доктор медицинских наук, доцент кафедры нормальной физиологии ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России  
**Цатурян Людмила Дмитриевна**  
доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой нормальной физиологии ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России

**Ведущая организация:** ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России

Защита состоится «24» декабря 2013 г. в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.008.06 при Волгоградском государственном медицинском университете по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Волгоградского государственного медицинского университета по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2013 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор социологических наук,  
кандидат медицинских наук,  
профессор

Ковалева Марина Дмитриевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

С позиций современной науки изучение различных аспектов функционирования единой нейроиммуноэндокринной системы является одной из актуальных проблем экспериментальной медицины и биологии (Саркисов Д.С., 1996; Акмаев И.Г., 1998; Акмаев И.Г., Гриневич В.В., 2001, 2003; Хитров Н.К., Салтыков А.Б., 2003, Пальцев М.А., Кветной И.М., 2008; Самотруева М.А., 2012; Бабичев В.Н., 2013). В ряде исследований показано, что наиболее выражено нейроиммуноэндокринные реакции проявляются при воздействии различных видов стресса (Минебаев М.М. и др., 2006; Кузнецов С.Л. и др., 2008; Самотруева М.А., 2012; Бабичев В.Н., 2013). Установлено, что в механизме воздействия на организм различных стрессогенных факторов имеется общее патогенетическое звено – избыточная продукция свободных радикалов (Контрощикова К.Н., 2000; Величковский Б.Т., 2001; Рагино Ю.И. и др., 2005; Титов В.Н. и др., 2005; Подсеваткин В.Г. и др., 2012; Улащик В.С., 2013). Свободно-радикальная теория, созданная D. Harman (2003, 2006) для объяснения причин старения организма и развития метаболических заболеваний, окончательно не сформирована и продолжает развиваться. В современном варианте она носит название «окислительная теория повреждения», согласно которой основным фактором, разрушающим нормально функционирующую клетку, является свободный кислород. В результате повреждения клеточных структур нарушается процесс выведения продуктов нормального метаболизма, которые, накапливаясь, вызывают старение и/или различные патологические состояния (Меньщикова Е.Б. и др., 2006, Джериева И.С., Волкова Н.И., 2011).

Следует отметить, что стрессорная реакция, являясь первично адаптационной, участвует нередко и в механизмах развития патологического процесса; чрезмерные гормональные изменения вызывают комплекс циркуляторных и метаболических нарушений в структурах нейроиммуноэндокринной системы и, как следствие, всего организма (Collins T. et al., 1995). Несмотря на то, что природа стресс-агента вносит определенную специфичность в характер адаптивного ответа, наиболее типичные различия, обусловленные этиологическим фактором, на уровне клетки теряют свою специфику (Оковитый С.В. и др., 2005). При этом исход ответа зависит от особенностей взаимодействия интегрирующих систем организма (нервной, эндокринной и иммунной), клетки и ткани которых синтезируют и экспрессируют единые сигнальные молекулы и рецепторы (Гриневич В.В. и др., 1999; Акмаев И.Г. 1996, 2001, 2003; Пальцев М.А., Кветной И.М., 2008).

Одной из важных частей сложной системы нейроэндокринной регуляции работы организма является тиреоидный гомеостат, который оказывает значительное влияние на разнообразные физиологические функции. Следует отметить, что щитовидная железа является ключевым звеном в нейроэндокринной системе: гипоталамус – гипофиз – железы-мишени, изменения в которых отражают особенности формирования стресс-реакции организма (Hangalapura B.N. et al., 2004; Козырева Т.В., 2005; Баженов Ю.И. и др., 2006; Александрова Н.В. и др., 2006). Нейроиммунофизиологические взаимоотношения щитовидной железы, гипоталамуса и гипофиза, как одних из важных центров регуляции ее функциональной активности, интенсивно изучаются, но представления об этом далеки от полной ясности (Смирнов А.В., 2009).

Пытаясь очертить рамки стресса, оказывающего влияние на различные системы, в том числе и на гипоталамо-гипофизарно-тиреоидную, многие исследователи сталкиваются с трудностями анализа неспецифического воздействия, вызывающего такую метаболическую перестройку, которая затрагивает практически все функциональные системы организма, при этом трудно определить какой орган или система органов остаются в стороне от стресса (Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П., 2000; Миннебаев М.М. и др., 2006; Титов В.Н., 2008, Смирнов А.Н., 2009; Розанов В.А., 2013). В связи с этим актуальными являются исследования, посвященные комплексному изучению особенностей стресс-реакции на различные факторы (психоэмоциональное воздействие, введение ксенобиотиков и т.д.) со стороны нейроиммуноэндокринной системы у особей разного возраста.

Выше сказанное даёт основание полагать, что одной из важнейших задач экспериментальной физиологии и фармакологии является поиск средств, проявляющих свойства эффективных психоиммуномодуляторов и одновременно оказывающих влияние на эндокринную систему организма. Так как одно из направлений такого поиска базируется на положениях свободнорадикальной теории развития различных патологических процессов (Меньщикова Е.Б., 2006; Оковитый С.В. и др., 2005), данные вещества необходимо также искать среди природных или синтетических антиоксидантов. В связи с чем, изучение нейроиммуноэндокринных эффектов  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина при стресс-индуцированных состояниях вызывает несомненный интерес. С одной стороны, проведение такого рода исследований направлено на решение фундаментальной задачи, касающейся раскрытия механизмов нейроиммуноэндокринной регуляции стресс-реакции. С другой стороны, применение антиоксидантов с целью коррекции стресс-индуцирован-

ных нарушений способствует разработке универсальных, патогенетически обоснованных методов лечения патологий, сопровождающихся дисрегуляцией нейроиммуноэндокринной системы организма.

**Цель исследования:** изучение нейроиммуноэндокринных эффектов  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина при стресс- и дапсон-индуцированных изменениях у разновозрастных крыс-самцов.

**Задачи исследования.**

1. Определить особенности влияния  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина на психоэмоциональное состояние при иммобилизационном стрессе и введении дапсона у разновозрастных крыс-самцов.
2. Изучить характер иммунологических изменений под воздействием  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина в условиях иммобилизационного стресса и введения дапсона у разновозрастных крыс-самцов.
3. Оценить влияние  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина на морфофизиологические параметры функционального состояния нейроэндокринных центров гипоталамуса и щитовидной железы у разновозрастных крыс-самцов.
4. Изучить характер изменений свободнорадикальных процессов у крыс разного возраста в условиях иммобилизационного стресса и дапсон-индуцированном воздействии при введении  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина.
5. Оценить роль гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы в реализации нейроиммуноэндокринной активности  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина в условиях стрессогенного воздействия.

**Научная новизна.** Впервые представлено физиологическое обоснование применения антиоксидантов –  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина – в качестве корректоров нейроиммуноэндокринных изменений в условиях стрессогенных воздействий, а также на фоне применения противомикробного препарата дапсон. Установлено, что при воздействии иммобилизационного стресса и дапсона изменения поведенческих реакций носят однонаправленный характер; происходит увеличение ситуативной тревожности и появление депрессивноподобных поведенческих реакций. Впервые установлена способность  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина уменьшать стресс-обусловленные изменения психоэмоционального состояния, восстанавливая двигательную, ориентировочно-исследовательскую активность и снижая общий уровень тревожности. Доказана способность  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина восстанавливать показатели специфического и неспецифического звеньев иммунной системы при стресс- и дапсон-индуцированных воздействиях на организм. Установлена способность антиоксидантов ингибировать тиреонегативное действие иммобилизационного стресса. Впервые опреде-

лена важная роль гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы в реализации нейроиммуноэндокринной активности антиоксидантов в условиях стрессогенного воздействия.

**Теоретическая и практическая значимость** заключается в определении участия антиоксидантной системы в регуляции нейроиммуноэндокринных взаимодействий. В связи с тем, что процессы адаптации в определенной мере управляемы, установленные аспекты взаимодействия нервной, иммунной и эндокринной систем открывают пути оптимизации адаптивности на разных этапах онтогенеза. Полученные данные о способности антиоксидантов изменять функциональное состояние нейроиммуноэндокринной системы могут быть использованы в лечебно-профилактических целях при патологиях, сопровождающихся дизрегуляцией гомеостатических систем организма.

**Апробация работы.** Основные результаты диссертационной работы были представлены на 88-й итоговой научно-практической конференции сотрудников медицинской академии, врачей города и области «Актуальные вопросы современной медицины» (Астрахань, 2011); Международной научной конференции «Фундаментальные исследования» (Италия, 2012); Международной конференции «Фундаментальные и прикладные исследования в медицине» (Франция, 2012); Международной научной конференции «Фундаментальные исследования» (Иордания, 2013); Международной научной конференции «Инновационные медицинские технологии» (Москва, 2013); Объединенном иммунологическом форуме-2013 (Нижний Новгород, 2013); IV Всероссийской виртуальной Интернет-конференции с международным участием "Современные проблемы анатомии, гистологии и эмбриологии животных" (Казань, 2013); Международном междисциплинарном конгрессе «Нейронаука для медицины и психологии» (Украина, 2013), Международной научно-практической конференции "Свободные радикалы и антиоксиданты в химии, биологии и медицине» (Новосибирск, 2013) Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной лепрологии» (Астрахань, 2013).

Результаты исследования отражены в 20 публикациях, 8 из которых – в изданиях, рекомендованных ВАК для опубликования материалов диссертаций. Получена приоритетная справка на изобретение (№ 2013125968 от 05.06.2013).

**Основные положения, выносимые на защиту.**

1. Антиоксидантная система может быть включена в число регулирующих факторов как важное звено функциональных систем, состав-

ляющих наряду с нервной, иммунной и эндокринной системами единый гомеостатический блок.

2. Основной паттерн как психоэмоциональных (иммобилизационный стресс), так и фармакологических (воздействие дапсона) стрессорных реакций заключается в формировании патофизиологических сопряжений нервной и иммунной систем.
3. Альфа-токоферол и эмоксипин проявляют способность уменьшать изменения психоэмоционального состояния и иммунологических параметров, формирующиеся в условиях стрессогенного воздействия на организм.
4. Одним из путей реализации нейроиммуноэндокринного действия антиоксидантов является регулирующее влияние на гипоталамо-гипофизарно-тиреоидную систему организма.

**Структура и объем диссертации.** Текст диссертации изложен на 180 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», глав, содержащих описание собственных экспериментальных данных, обсуждение результатов, выводов и списка литературы. Диссертация иллюстрирована 10 схемами, 2 рисунками, 36 таблицами. Библиографический указатель содержит 439 источника: 277 отечественных и 162 зарубежных.

### **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Материалы и методы исследования.** Исследование проведено на 780 белых беспородных крысах-самцах 3-х возрастных групп в весенне-летний период. В первой серии эксперимента использовали «молодых» животных предслучного возраста (1,5-2 мес., вес 75–120 г), во второй серии – «зрелых» животных репродуктивного возраста (6-8 мес., вес 210–280 г), в третьей – «старых» крыс (20-24 мес., вес 260–350 г) (по Западному И.П. и др., 1983). Крыс содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении. Все животные были синхронизированы по питанию при свободном доступе к воде (Каркищенко Н.Н., 2003). Содержание животных соответствовало Приказу МЗ РФ N 708-н от 23.08.2010 г. «Об утверждении Правил лабораторной практики» с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997 г.).

В каждой серии эксперимента животных делили на группы по 10 особей: 1-ю группу составляли контрольные крысы, получавшие эквивалент дистиллированной воды; 2-ю группу – крысы, подвергнутые воздействию иммобилизационного стресса в течение 14 дней; 3-ю группу – животные, получавшие  $\alpha$ -токоферол ацетат (10% масляный раствор  $\alpha$ -токоферола ацетата «Марбиофарм») per os в дозе 5мг/кг

ежедневно в течение 14 дней; 4-ю группу – особи, получавшие  $\alpha$ -токоферол ацетат per os в дозе 5 мг/кг и подвергавшиеся воздействию иммобилизационного стресса в течение 14 дней; 5-ю группу – животные, получавшие эмоксипин (1% раствор «Московский эндокринный завод») в дозе 5 мг/кг внутримышечно в течение 14 дней; 6-ю группу – крысы, получавшие эмоксипин в дозе 5 мг/кг внутримышечно и подвергавшиеся воздействию иммобилизационного стресса в течение 14 дней; 7-ю группу – особи, получавшие внутривенно дапсон («Novartis») в дозе 25 мг/кг в течение 14 дней; 8-ю группу – животные, получавшие внутривенно дапсон в дозе 25 мг/кг и  $\alpha$ -токоферол ацетат per os в дозе 5 мг/кг в течение 14 дней; 9-ю группу – крысы, получавшие внутривенно дапсон в дозе 25 мг/кг в сочетании с эмоксипином внутримышечно в дозе 5 мг/кг в течение 14 дней. Иммобилизационный стресс моделировали при комнатной температуре, помещая животное ежедневно в пластиковую камеру, ограничивающую их движения в течение 2-х часов (14 дней).

Для функциональной оценки психоэмоционального состояния животных применяли стандартные поведенческие тесты: «Открытое поле» (ОП), «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) и тест «Вынужденное плавание» (Порсолт) (Воронина Т.А., 1982; 2000; Porsolt R.D., 1978).

Состояние иммунной системы животных оценивали на основании реакции гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ) с определением индекса реакции, реакции прямой гемагглютинации (РПГА) с определением титра антител, изучения лейкоцитарной формулы, определения массы и клеточности иммунокомпетентных органов (Хаитов Р.М. и др., 2005).

Интенсивность ПОЛ в гомогенатах органов (гипоталамическая область, печень) оценивали по исходному содержанию МДА, а также по скорости спонтанного и аскорбатзависимого ПОЛ (Стальная И.Д., Гаришвили Г.Т. 1977; Прохорова М.И., 1982). Также в гомогенате гипоталамической области измеряли активность антиоксидантного фермента – каталазы (Королюк М.А. и др., 1988). Интенсивность антиоксидантной защиты всего организма оценивали на основании определения активности каталазы (Королюк М.А. и др., 1988) и МДА в реакции с ТБК (Гончаренко М.С., 1985) в сыворотке крови, а также определения перекисной резистентности эритроцитов (Покровский А.А., Абрамов А.А., 1964; Лазько А.Е. и др., 1993).

Состояние эндокринной системы животных изучали на примере щитовидной железы, определяя концентрацию трийодтиронина ( $T_3$ ), тироксина ( $T_4$ ) и тиреотропного гормона (ТТГ) в плазме крови с ис-



пользованием наборов фирмы «Accu-Bind Elisa Microwells» (США) и фирмы «Алкор Био» (Россия). В качестве морфометрических показателей для изучения функционального состояния щитовидной железы были исследованы: высота тиреоидного эпителия, площадь ядер, площадь фолликулов, площадь фолликулярного коллоида. Срезы окрашивали по Ван-Гизону (Ромейс Б., 1953). Для изучения функционального состояния гипоталамуса была проведена кариометрия супраоптического и паравентрикулярного ядер. Серии фронтальных срезов окрашивали 0,1% раствором нейтрального красного (Буреш Я. и др., 1991). Морфометрию проводили фотографическим способом при общем увеличении микроскопа (Микмед-2)  $\times 600$ .

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакетов программ: Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, США), BIOSTAT 2008 Professional 5.1.3.1. с использованием *t*-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони. Различия между параметрами считали достоверными при  $p < 0,05$ .

***Полученные результаты и их обсуждение.*** С целью верификация развития стрессорного состояния у животных и наличия антистрессорной активности изучаемых антиоксидантов оценивали выраженность «стрессорной триады»: гипертрофия надпочечников, степень изъязвления слизистой желудка (по шкале Перцова С.С, 1995) и наличие эозинопении. В ходе исследования у животных на фоне экспериментального стресса было подтверждено формирование стресс-реакции, что проявлялось в развитии синдрома дезадаптации: увеличение массы надпочечников, снижение числа эозинофилов в периферической крови, а также появления эрозивно-язвенных поражений слизистой оболочки желудка. Изучаемые антиоксидантные препараты –  $\alpha$ -токоферол и эмоксипин – проявили стресс-протекторное действие, способствуя уменьшению выраженности соматических проявлений «стрессорной триады», вызванной воздействием стресса.

На начальном этапе исследования, посвященном изучению психоэмоционального состояния крыс-самцов, получены результаты, отражающие особенности изменения поведения разновозрастных животных в условиях физиологической нормы и при стресс-индуцированных воздействиях различной природы (иммобилизационный стресс, применение дапсона) с последующей оценкой выраженности психомодулирующей активности  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина.

Результаты, полученные при тестировании животных, получавших  $\alpha$ -токоферол и эмоксипин, во всех поведенческих моделях («ОП», «ПКЛ» и «Порсолт»), свидетельствуют о наличии у препаратов анксиолитического и антидепрессивного действия, о чем говорят уве-

личение количества заходов животных в центральную зону «ОП» (более выражено под действием эмоксипина), увеличение заходов в открытые рукава и времени нахождения на них в «ПКЛ» (более выражено под действием эмоксипина), числа выглядываний из закрытых рукавов и количества стоек в «ПКЛ» (более выражено под действием  $\alpha$ -токоферола); уменьшение продолжительности иммобильности в тесте «Порсолт» (у молодых более выражено под действием эмоксипина, у старых –  $\alpha$ -токоферола).

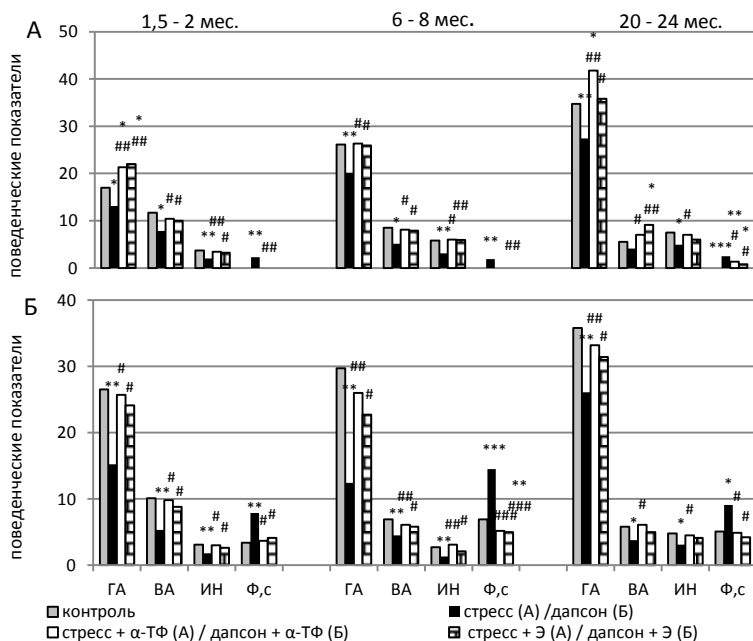


Рисунок 1. Влияние антиоксидантов на поведение разновозрастных крыс-самцов в тесте «Открытое поле» в условиях иммобилизационного стресса и применения дапсона

*Примечание.* \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$  – относительно контроля; # -  $p < 0,05$ ; ## -  $p < 0,01$ ; ### -  $p < 0,001$  – относительно стрессированных животных или животных, получавших дапсон (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений)

ГА – горизонтальная двигательная активность; ВА – вертикальная двигательная активность; ИН – исследование норок; Ф – фризинг, с.

Данные, полученные при изучении стресс-индуцированных изменений поведенческих реакций, свидетельствуют о том, что при указанных видах воздействия формируются тревожно-депрессивные нарушения.

Таблица 1. Влияние антиоксидантов на поведение разновозрастных крыс-самцов в тесте «Порсолт» в условиях иммобилизационного стресса

Показатели (M ± m)	Группы (n = 10) Контроль	Стресс	Стресс + α-ТФ	Стресс+ Э
крысы-самцы 1,5 – 2 мес.				
Иммобильность, с	19,8 ± 2,3	42,2 ± 4,3***	30,7 ± 3,6*#	29,3 ± 3,5*#
Пассивное плавание, с	29,3 ± 2,3	62,3 ± 7,1**	33,8 ± 3,1###	31,5 ± 3,9###
Активное плавание, с	250,9 ± 15,6	195,5 ± 10,3*	235,5 ± 15,6#	239,2 ± 14,8#
крысы-самцы 6 – 8 мес.				
Иммобильность, с	10,2 ± 1,4	28,8 ± 6,1*	18,1 ± 3,1*	21,1 ± 3,5*
Пассивное плавание, с	31,2 ± 2,5	67,2 ± 9,2**	42,2 ± 4,3*#	46,5 ± 4,7*#
Активное плавание, с	258,6 ± 15,7	204,0 ± 12,1*	239,7 ± 14,8	232,4 ± 13,7
крысы-самцы 20 – 24 мес.				
Иммобильность, с	14,1 ± 1,8	43,2 ± 5,2***	30,0 ± 3,6***	32,2 ± 3,5***
Пассивное плавание, с	32,7 ± 3,5	59,7 ± 5,7**	37,5 ± 5,2#	31,8 ± 4,8###
Активное плавание, с	253,2 ± 14,3	197,1 ± 13,1*	232,5 ± 13,5	236,0 ± 14,3#

Примечание.\* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* - p<0,001 – относительно контроля; # - p<0,05; ## - p<0,01; ### - p<0,001 – относительно стрессированных животных (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений).

Таблица 2. Влияние антиоксидантов на поведение разновозрастных крыс-самцов в тесте «Порсолт» на фоне применения дапсона

Показатели (M ± m)	Группы (n = 10) Контроль	Дапсон	Дапсон + α-ТФ	Дапсон + Э
крысы-самцы 1,5 – 2 мес.				
Иммобильность, с	18,4 ± 2,7	57,1 ± 8,7**	27,2 ± 6,3#	31,8 ± 7,3#
Пассивное плавание, с	29,5 ± 6,1	68,2 ± 7,3**	35,1 ± 6,5###	40,2 ± 5,9#
Активное плавание, с	252,1 ± 17,8	174,7 ± 10,3**	237,7 ± 12,1###	228,0 ± 11,8###
крысы-самцы 6 – 8 мес.				
Иммобильность, с	27,4 ± 6,5	73,0 ± 8,6**	37,9 ± 6,6###	45,6 ± 6,9#
Пассивное плавание, с	37,1 ± 4,8	102,4 ± 17,5***	48,4 ± 7,9###	53,3 ± 6,7#
Активное плавание, с	235,5 ± 21,7	124,6 ± 18,2***	213,7 ± 8,2###	198,1 ± 8,1###
крысы-самцы 20 – 24 мес.				
Иммобильность, с	30,1 ± 6,1	88,4 ± 10,6***	34,1 ± 7,8###	46,2 ± 8,7###
Пассивное плавание, с	41,2 ± 8,3	98,7 ± 12,1***	47,3 ± 8,4###	54,4 ± 9,1#
Активное плавание, с	228,7 ± 18,6	112,9 ± 15,8***	218,6 ± 17,4###	199,4 ± 10,1###

Примечание.\* - p<0,05; \*\* - p<0,01; \*\*\* p<0,001 – относительно контроля; # - p<0,05; ## - p<0,01; ### p<0,001 – относительно животных, получавших дапсон (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений); α-ТФ – α-токоферол, Э – эмоксипин.

Следует отметить, что при воздействии иммобилизационного стресса и дапсона изменения поведенческих реакций носили односторонний характер. Вне зависимости от возраста животных отмечалось увеличение ситуативной тревожности и появление депрессивноподобных поведенческих реакций, что подтверждалось регистрацией фризинга, снижением двигательной и ориентировочно-исследовательской активности, изменением соотношения времени активное/пассивное плавание в сторону увеличения последнего, нарастанием суммарного времени иммобильности, что отражено в рисунках 1, 2 и таблицах 1, 2.

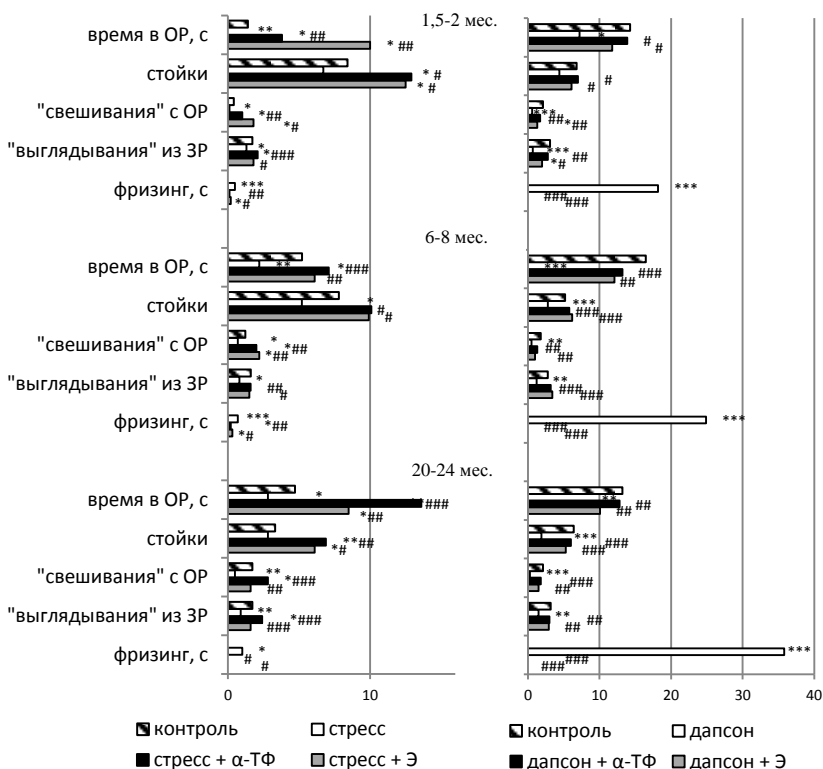


Рисунок 2. Влияние антиоксидантов на поведение разновозрастных крыс-самцов в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» в условиях иммобилизационного стресса и применения дапсона

Примечание: см. рисунок 1.

Результаты, полученные в ходе изучения влияния антиоксидантов на психоэмоциональное состояние животных в условиях иммобилизационного стресса и применения дапсона, свидетельствуют о способности  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина оказывать психомодулирующее воздействие, восстанавливая вертикальную и горизонтальную двигательную активность, ориентировочно-исследовательское поведение, а также снижая общий уровень тревожности и устраняя депрессивноподобные нарушения в поведении животных.

Следует отметить, что степень выраженности и направленности психотропного воздействия антиоксидантов не определяется видом стресса. Также хотелось подчеркнуть, что если в условиях иммобилизационного стресса изучаемые антиоксиданты оказали сопоставимое по выраженности психокорригирующее действие, то на фоне применения дапсона более эффективным оказался аналог природного антиоксиданта –  $\alpha$ -токоферол (рисунок 1, 2, таблицы 1, 2).

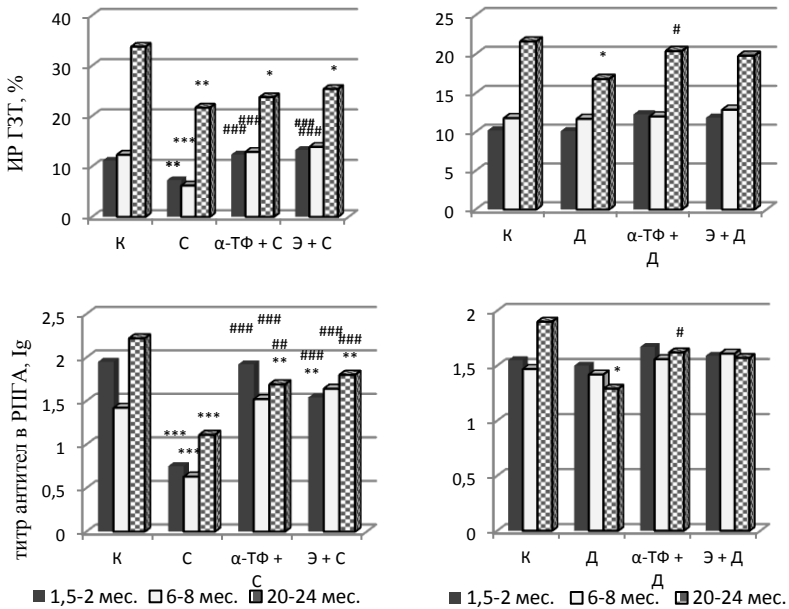


Рисунок 3. Влияние антиоксидантов на формирование РГЗТ и РПГА у разновозрастных крыс-самцов в условиях иммобилизационного стресса и применения дапсона

Примечание: см. рисунок 1.

Анализ результатов, полученных в ходе изучения иммунореактивности крыс-самцов на фоне применения антиоксидантов, позволяет сделать вывод о способности  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина оказывать иммуностропное действие, стимулируя клеточное звено иммунитета во всех возрастных группах.

Данные, полученные в условиях изучаемых экспериментальных моделей стресса, свидетельствуют о том, что при иммобилизации происходит угнетение иммунореактивности, проявляющееся ингибированием процесса антителообразования, клеточной реакции иммуногенеза (рисунок 3), а также лимфопролиферативных процессов в органах иммунной системы и снижением общего количества лейкоцитов. При введении дапсона уровень подобных изменений был несколько ниже. Следует отметить, что более значимые изменения показателей иммунореактивности были зафиксированы в старшей возрастной группе (таблицы 3, 4).

Таблица 3. Влияние антиоксидантов на массу и клеточность иммунокомпетентных органов разновозрастных крыс-самцов в условиях иммобилизационного стресса

Показатели ( $M \pm m$ )	Масса селезенки, мг	Кол-во спленоцитов в 1 мг органа, $\times 10^5$	Масса тимуса, мг	Кол-во timoцитов в 1 мг органа, $\times 10^5$
Группы (n=10)				
крысы-самцы 1,5 – 2 мес.				
Контроль	375,2 $\pm$ 15,9	135,3 $\pm$ 5,7	122,5 $\pm$ 5,5	32,4 $\pm$ 2,4
Стресс	311,3 $\pm$ 14,8*	112,9 $\pm$ 4,9*	86,5 $\pm$ 4,6***	21,4 $\pm$ 2,8**
$\alpha$ ТФ + Стресс	365,9 $\pm$ 15,6#	133,2 $\pm$ 7,2#	125,2 $\pm$ 5,9###	33,9 $\pm$ 3,1##
Э + Стресс	374,6 $\pm$ 19,7#	143,1 $\pm$ 8,7##	111,1 $\pm$ 6,8##	32,7 $\pm$ 2,5##
крысы-самцы 6 – 8 мес.				
Контроль	366,1 $\pm$ 14,3	127,2 $\pm$ 6,7	87,3 $\pm$ 6,5	41,4 $\pm$ 3,4
Стресс	290,2 $\pm$ 15,2**	92,7 $\pm$ 5,9**	66,5 $\pm$ 5,6*	30,7 $\pm$ 2,7*
$\alpha$ ТФ + Стресс	354,9 $\pm$ 15,6#	133,5 $\pm$ 7,2##	90,2 $\pm$ 5,6#	43,9 $\pm$ 3,8#
Э + Стресс	345,6 $\pm$ 19,7#	126,1 $\pm$ 8,7##	83,1 $\pm$ 6,1#	36,7 $\pm$ 3,5
крысы-самцы 20 – 24 мес.				
Контроль	342,6 $\pm$ 16,4	64,9 $\pm$ 6,7	35,2 $\pm$ 3,3	46,2 $\pm$ 2,8
Стресс	300,6 $\pm$ 14,2	46,7 $\pm$ 5,3*	25,8 $\pm$ 2,3*	25,3 $\pm$ 2,1***
$\alpha$ ТФ + Стресс	323,7 $\pm$ 18,3	66,2 $\pm$ 5,8#	34,8 $\pm$ 1,9##	34,9 $\pm$ 3,6*#
Э + Стресс	326,1 $\pm$ 17,6	63,8 $\pm$ 6,5#	40,3 $\pm$ 3,1##	31,5 $\pm$ 2,2*#

Примечание: см. таблицу 1.

Установлено, что изучаемые антиоксиданты, применяемые в условиях иммобилизационного стресса и на фоне применения дапсона, устраняют формирующиеся изменения иммунореактивности, восста-

навливая процесс антителиобразования, клеточную реакцию иммуногенеза, активируют пролиферативные процессы, увеличивая массу селезенки, тимуса, количество спленоцитов и тимоцитов, а также способствуют увеличению общего количества лейкоцитов (рисунок 3, таблицы 3, 4).

Таблица 4. Влияние антиоксидантов на массу и клеточность иммунокомпетентных органов разновозрастных крыс-самцов на фоне применения дапсона

Показатели (M±m) Группы (n=10)	Масса селезенки, мг	Кол-во спленоцитов в 1 мг органа, x 10 <sup>5</sup>	Масса тимуса, мг	Кол-во тимоцитов в 1 мг органа, x 10 <sup>5</sup>
крысы-самцы 1,5 – 2 мес.				
Контроль	367,1 ± 19,7	126,2 ± 7,3	110,3 ± 7,8	42,3 ± 3,4
Дапсон	310,1 ± 20,8	110,3 ± 6,5	95,4 ± 6,7	39,1 ± 2,7
α-ТФ + Дапсон	359,6 ± 19,1	120,3 ± 7,8	101,2 ± 5,9	41,4 ± 2,8
Э + Дапсон	352,1 ± 18,2	116,2 ± 6,4	98,6 ± 5,2	39,7 ± 3,1
крысы-самцы 6 – 8 мес.				
Контроль	377,1 ± 19,3	115,4 ± 6,3	73,4 ± 7,6	32,5 ± 2,8
Дапсон	322,8 ± 19,5	99,2 ± 5,5	65,3 ± 5,6	30,3 ± 2,7
α-ТФ + Дапсон	368,4 ± 18,1	110,1 ± 6,8	69,7 ± 6,1	31,3 ± 2,2
Э + Дапсон	359,2 ± 17,6	106,2 ± 6,4	68,3 ± 5,4	29,9 ± 2,6
крысы-самцы 20 – 24 мес.				
Контроль	352,4 ± 17,3	73,2 ± 5,3	29,4 ± 3,4	29,5 ± 2,5
Дапсон	292,1 ± 16,5*	50,3 ± 4,5**	20,3 ± 2,7*	21,6 ± 2,7*
α-ТФ + Дапсон	348,6 ± 18,1#	67,4 ± 5,8#	27,2 ± 2,1#	31,2 ± 2,3#
Э + Дапсон	342,1 ± 18,6#	60,1 ± 6,1	24,7 ± 2,2	30,4 ± 2,6#

Примечание: см. таблицу 2.

Следует отметить, что полученные данные указывают на наличие у применяемых веществ выраженных иммуномодулирующих свойств. При этом, α-токоферол оказал по выраженности более значимое иммунорегулирующее действие (рисунок 3, таблицы 3, 4).

На следующем этапе работы оценивали степень влияния α-токоферола и эмоксипина на активность каталазы и МДА в сыворотке крови, интенсивность ПОЛ печени и перекисную резистентность эритроцитов

Оценка влияния антиоксидантов на интенсивность процессов липопероксидации подтверждает наличие у α-токоферола и эмоксипина способности стимулировать антиоксидантную защиту организма, что выражается в снижении содержания в сыворотке крови ТБК-активных продуктов, уровня ПОЛ в гомогенате печени и увеличении гемолитической стойкости эритроцитарных мембран. При этом хотелось бы отметить, что действие аналога природного антиоксиданта – α-токоферола – оказалось более выраженным.

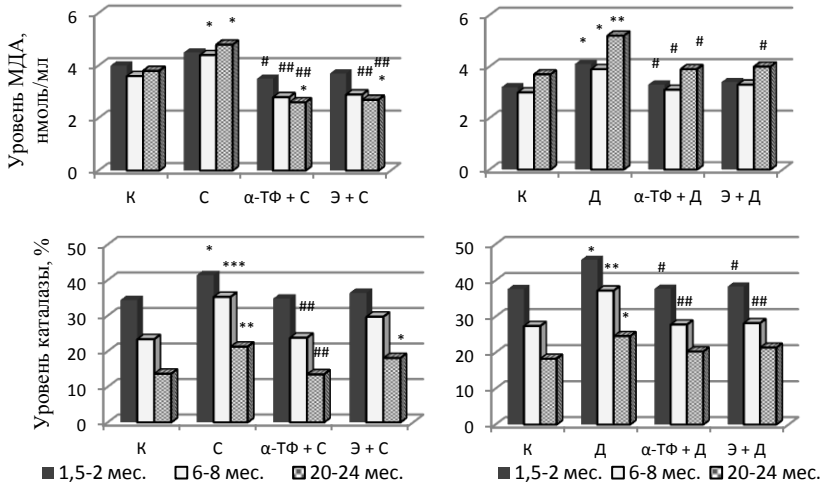


Рисунок 4. Влияние антиоксидантов на уровень МДА и каталазы в сыворотке крови у разновозрастных крыс-самцов в условиях иммобилизационного стресса и применения дапсона

Примечание: см. рисунок 1.

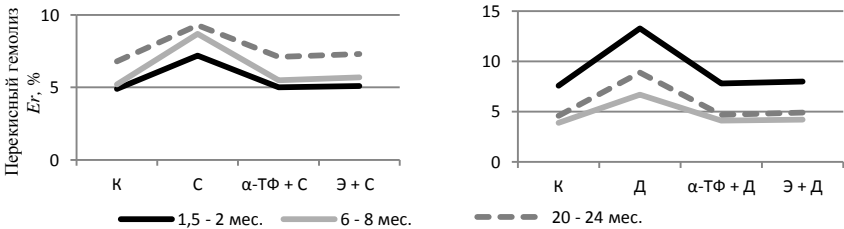


Рисунок 5. Влияние антиоксидантов на показатели перекисного гемолиза эритроцитов у разновозрастных крыс-самцов в условиях иммобилизационного стресса и применения дапсона

Примечание: см. рисунок 1.

При стресс- и дапсон-индуцированных изменениях наблюдается ослабление антиоксидантной защиты, что выражается в повышении активности каталазы на фоне высокого уровня ТБК-активных продуктов в сыворотке крови (рисунок 4) и интенсивности процессов перекисидации в печени, а также в снижении гемолитической стойкости эритроцитов (рисунок 5).



Установлено, что изучаемые вещества, проявляя свои антиоксидантные свойства, оказывают корригирующее влияние на окислительно-восстановительные процессы при выбранных экспериментальных моделях стресса.

Одной из важных задач нашего экспериментального исследования было изучение особенностей функционирования нейроэндокринной системы при стрессогенном воздействии (на примере иммобилизационного стресса) и оценка нейроэндокринной активности антиоксидантов.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что стрессогенное воздействие на организм вызывает морфометрические и функциональные нарушения в гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системе. Установлено, что длительная иммобилизация вне зависимости от возраста животных вызывает системную стрессорную реакцию.

Данные кариометрического анализа нейросекреторных клеток и перекисного окисления липидов гипоталамической области указывают на то, что на фоне снижения функциональной активности крупноклеточных ядер (СОЯ и ПВЯ) при стрессе происходит значительное нарастание интенсивности ПОЛ в гипоталамусе, характерное для всех возрастных групп животных (рисунок 6).

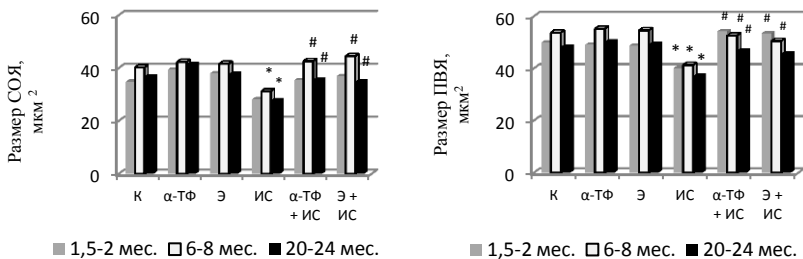


Рисунок 6. Влияние антиоксидантов на размер ядер гипоталамуса у разновозрастных крыс-самцов в условиях иммобилизационного стресса

Примечание: см. таблицу 1.

Оценка уровня ТТГ гипофиза, а также тиреоидных гормонов ( $T_3$ ,  $T_4$ ) показала, что стресс способствовал снижению их концентрации в сыворотке крови (таблица 5). Результаты исследования активности щитовидной железы на основании изменения морфометрических показателей (снижение высоты тиреоидного эпителия и площади ядер тироцитов, увеличение площади фолликулов и фолликулярного коллоида) подтвердили тиреонегативное действие стресса (рисунок 7).

Таблица 5. Влияние антиоксидантов на уровень ТТГ и тиреоидных гормонов разновозрастных крыс-самцов в условиях иммобилизационного стресса

Группы (n=10)	ТТГ (мкМЕ/мл)	Трийодтиронин (нг/мл)	Тетрайодтиронин (мкг/дл)
крысы-самцы 1,5 – 2 мес.			
Контроль	0,31 ± 0,03	2,17 ± 0,33	3,74 ± 0,10
α-ТФ	0,33 ± 0,02	2,32 ± 0,19	4,29 ± 0,24
Э	0,32 ± 0,03	2,12 ± 0,35	3,97 ± 0,14
ИС	0,20 ± 0,02**	1,17 ± 0,27 *	3,08 ± 0,18*
α-ТФ + ИС	0,25 ± 0,01#	2,97 ± 0,36##	3,79 ± 0,21#
Э + ИС	0,29 ± 0,02 ##	2,07 ± 0,12 #	3,69 ± 0,14#
крысы-самцы 6 – 8 мес.			
Контроль	0,30 ± 0,02	2,34 ± 0,21	3,62 ± 0,11
α-ТФ	0,31 ± 0,03	2,41 ± 0,23	3,91 ± 0,14
Э	0,30 ± 0,03	2,31 ± 0,19	3,72 ± 0,18
ИС	0,22 ± 0,02*	1,60 ± 0,12 **	2,77 ± 0,24 **
α-ТФ + ИС	0,29 ± 0,02#	2,22 ± 0,24#	3,58 ± 0,31#
Э + ИС	0,27 ± 0,01#	2,01 ± 0,16 #	3,74 ± 0,23#
крысы-самцы 20 – 24 мес.			
Контроль	0,28 ± 0,02	0,71 ± 0,08	1,44 ± 0,23
α-ТФ	0,28 ± 0,03	1,70 ± 0,28 **	2,82 ± 0,44 *
Э	0,29 ± 0,03	0,92 ± 0,35	1,81 ± 0,41
ИС	0,21 ± 0,02*	0,43 ± 0,07 *	0,90 ± 0,05 *
α-ТФ + ИС	0,27 ± 0,02#	0,82 ± 0,05 ###	2,09 ± 0,41 #
Э + ИС	0,28 ± 0,01##	0,88 ± 0,10 ##	1,77 ± 0,19 ##

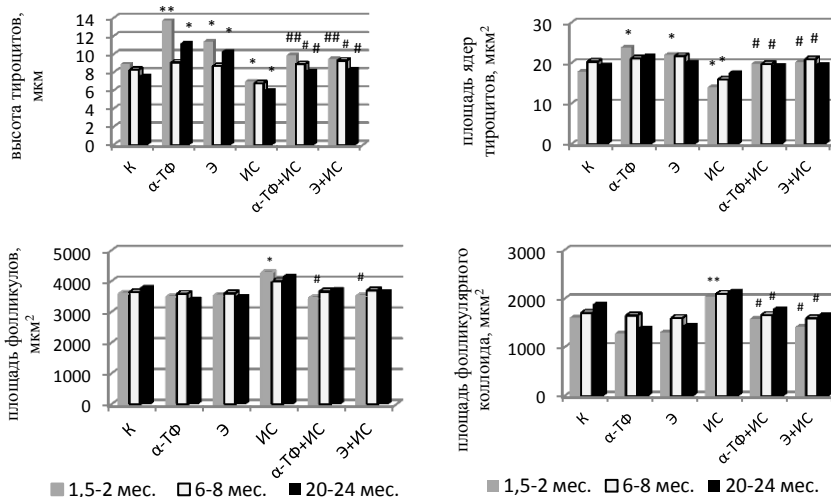


Рисунок 7. Влияние антиоксидантов на изменения морфометрических показателей щитовидной железы разновозрастных крыс – самцов в условиях иммобилизационного стресса

Примечание: см. таблицу 1.

Таким образом, в ходе проведенного исследования было установлено, что антиоксидантная система играет важную роль в процессах регуляции нервной, иммунной и эндокринной систем, а  $\alpha$ -токоферол и эмоксипин могут рассматриваться как эффективные средства с нейроиммуноэндокринной активностью.

## ВЫВОДЫ

1. Иммобилизационный стресс и введение дапсона экспериментальным животным вызывают сопоставимые по направленности и интенсивности изменения психоэмоционального состояния депрессивно-подобного характера. Альфа-токоферол и эмоксипин проявляют психомодулирующее действие, восстанавливая вертикальную и горизонтальную двигательную активность, ориентировочно-исследовательское поведение, а также снижая общий уровень тревожности (фризинг, кратковременный груминг и др.).

2. Формирующиеся в условиях иммобилизационного стресса и применения дапсона изменения активности иммунной системы корректируются под действием  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина, что подтверждается восстановлением показателей реакции гиперчувствительности замедленного типа, прямой гемагглютинации, а также активности процессов пролиферации в иммунокомпетентных органах.

3. При стресс- и дапсон- индуцированном воздействии наблюдается ослабление антиоксидантной защиты организма, что выражается в изменении активности каталазы на фоне высокого уровня процессов пероксидации в сыворотке крови, печени, эритроцитах, указывая на общность физиологических изменений, в основе которых лежит окислительный стресс. Альфа-токоферол и эмоксипин, проявляя присущие им антиоксидантные свойства, оказывают более выраженное корригирующее воздействие в старшей возрастной группе.

4. Стрессогенное воздействие на организм вызывает морфометрические и функциональные нарушения в гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системе. Применение альфа-токоферола и эмоксипина способствует увеличению площади нейросекреторных ядер (СОЯ, ПВЯ) гипоталамуса, восстановлению морфометрических параметров щитовидной железы и стимуляции ТТГ,  $T_3$ ,  $T_4$ .

5. Концепцию оксидативного стресса можно представить как комплекс нейроиммуноэндокринных изменений, в основе которых центральную роль играет активация свободно-радикальных процессов независимо от природы стрессирующего фактора, что аргументирует использование антиоксидантов в качестве корректоров.

## НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Данные, полученные в ходе исследования о способности  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина уменьшать стресс-обусловленные нейроиммунноэндокринные изменения, позволяют рассматривать их как перспективные средства для коррекции стресс-опосредованных нарушений.
2. Способность  $\alpha$ -токоферола и эмоксипина уменьшать нарушения психоэмоционального состояния и иммунореактивности, индуцированные применением дапсона, может быть использована при совершенствовании схем терапии дапсоном.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ясенявская А.Л. Изучение влияния иммобилизационного стресса и антиоксидантов на морфометрические показатели крупноклеточных ядер гипоталамуса белых крыс на разных этапах онтогенеза / А.Л. Ясенявская, Н.В. Кобзева. – Естественные науки. – 2008. – № 4. – С. 103-106.
2. Ясенявская А.Л. Влияние иммобилизационного стресса и антиоксидантов на тиреоидную функцию на разных этапах онтогенеза / А.Л. Ясенявская, Н.В. Рябыкина. - Естественные науки. – 2009. – № 4. – С. 132-140.
3. Ясенявская А.Л. Изучение влияния иммобилизационного стресса и антиоксидантов на гормональную активность щитовидной железы белых крыс на разных этапах онтогенеза / А.Л. Ясенявская. – Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2010. - № 2-2. – С. 689-693.
4. Ясенявская А.Л. Влияние эмоксипина на морфометрические показатели щитовидной железы белых крыс в постнатальном онтогенезе в условиях иммобилизационного стресса / А.Л. Ясенявская, С.А. Лужнова. – Биомедицина. – 2012. – № 3. – С. 63 – 67.
5. Ясенявская А.Л. Влияние  $\alpha$ -токоферола на интенсивность перекисного окисления липидов у крыс на разных этапах онтогенеза в условиях иммобилизационного стресса / А.Л. Ясенявская, С.А. Лужнова, В.О. Насонова, Н.С. Ларина, А.О. Утекова, М.Х. Курбанова, Ю.Н. Гашимова, М.А. Смотровуева. – Современные наукоёмкие технологии. – 2012. - №7. – С. 35-36.
6. Ясенявская А.Л. Влияние  $\alpha$ -токоферола на интенсивность перекисного окисления липидов гипоталамической области крыс-самцов на разных этапах постнатального онтогенеза. / А.Л. Ясенявская, С.А. Лужнова, М.А. Смотровуева, Р.Ж. Абдрешева. – Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2012. – №12. – С.63 – 64.

7. Ясенявская А.Л. Влияние  $\alpha$ -токоферола на поведение крыс в тесте «Открытое поле» в условиях иммобилизационного стресса / А.Л. Ясенявская, М.А. Самотруева, С.А. Лужнова, Р.Ж. Абдрешева. – Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2012. – № 12. – С. 64 – 65.

8. Ясенявская А.Л. Оценка иммуномодулирующей активности  $\alpha$ -токоферола в условиях иммобилизационного стресса / А.Л. Ясенявская, М.А. Самотруева, С.А. Лужнова. – Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – № 6. – 2013. – С.127.

9. Ясенявская А.Л. Влияние эмоксипина на пролиферативные процессы в иммунокомпетентных органах в условиях иммобилизационного стресса / А.Л. Ясенявская, М.А. Самотруева, С.А. Лужнова. – Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – № 6. – С. 66.

10. Лужнова С.А. Коррекция дапсон-индуцированных изменений лейкопоза  $\alpha$ -токоферолом / С.А. Лужнова, М.А. Самотруева, А.Л. Ясенявская. – Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – №5. – С. 142.

**11. Ясенявская А.Л. Психотропные эффекты  $\alpha$ -токоферола в условиях иммобилизационного стресса / А.Л. Ясенявская, М.А. Самотруева, С.А. Лужнова. – Вестник новых медицинских технологий - 2013. – №2. – С. 354 – 358.**

**12. Ясенявская А.Л. Влияние эмоксипина на поведение крыс-самцов в тесте «открытое поле» в условиях иммобилизационного стресса/ А.Л. Ясенявская, М.А. Самотруева, С.А. Лужнова. – Астраханский медицинский журнал. – 2013. – Т.8. – №2. – С. 96-99.**

**13. Лужнова С.А.  $\alpha$ -токоферол как корректор дапсон-индуцированных изменений показателей лейкограммы / С.А. Лужнова, М.А. Самотруева, А.Л. Ясенявская, Р.Ж. Абдрешева. – Фундаментальные исследования. – 2013. – № 7 (часть 3). – С. 580-583.**

14. Ясенявская А.Л. Влияние  $\alpha$ -токоферола на морфометрические показатели крупноклеточных ядер гипоталамуса в условиях иммобилизационного стресса / А.Л. Ясенявская, М.А. Самотруева, С.А. Лужнова. // Сб. материалов IV Всероссийской виртуальной Интернет-конференции с международным участием "Современные проблемы анатомии, гистологии и эмбриологии животных". – 2013. – С. 92.

15. Ясенявская А.Л. Влияние фенотропила на поведение крыс, подвергшихся действию дапсона, в тесте «Открытое поле». / А.Л. Ясенявская, С.А. Лужнова, В.В. Дуйко, М.А. Самотруева. // Сб. IX Международного Междисциплинарного конгресса «Нейронаука для медицины и психологии». – 2013. – С.382 – 383.

16. Лужнова С.А. Влияние дапсона на клеточное звено иммуногенеза / С.А. Лужнова, А.Л. Ясенявская, В.В. Дуйко. / Сб материалов Объединен-

ного иммунологического форума-2013 // Российский иммунологический журнал. – 2013. - № 2-3. – С. 202.

17. Ясенявская А.Л. Иммуномодулирующее действие антиоксидантов в условиях иммобилизационного стресса. / А.Л. Ясенявская, М.А. Самотруева, С.А. Лужнова // Сб материалов Объединенного иммунологического форума-2013. - Российский иммунологический журнал. – 2013. - № 2-3. – С. 212.

**18. Ясенявская А.Л. Психотропные эффекты эмоксипина в условиях иммобилизационного стресса. / А.Л. Ясенявская, М.А. Самотруева, С.А. Лужнова. – Биомедицина. – № 2. – С. 95-101.**

19. Ясенявская А.Л. Влияние эмоксипина на интенсивность перекисного окисления липидов гипоталамической области крыс-самцов на разных этапах постнатального онтогенеза / А.Л. Ясенявская, М.А. Самотруева, С.А. Лужнова. // Сб. материалов Международной научно-практической конференции "Свободные радикалы и антиоксиданты в химии, биологии и медицине» Часть 2. – 2013. – С. 166-167.

20. Лужнова С.А. Альфа-токоферол как корректор дапсон-индуцированных нарушений поведения / С.А. Лужнова, М.А. Самотруева, А.Л. Ясенявская. // Сб материалов Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной лепрологии» – 2013. – С. 88 – 96.

### *Патенты и изобретения*

Приоритетная справка на изобретение (№ 2013125968 от 05.06.2013) «Способ коррекции нейротоксического действия дапсона в эксперименте».

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

ГТ	Гипоталамус, гипоталамическая область мозга
Д	Дапсон
ЗР	Закрытый рукав
ИР	Индекс реакции
К	Контроль
ЛПС	Липополисахарид
ОП	«Открытое поле»
ОР	Открытый рукав
ПКЛ	«Приподнятый крестообразный лабиринт»
ПОЛ	Перекисное окисление липидов
РГЗТ	Реакция гиперчувствительности замедленного типа
РПГА	Реакция прямой геммагглютинации
С, ИС	Стресс (иммобилизационный)
Э	Эмоксипин
ЭБ	Эритроциты барана
α-ТФ	α-токоферол