УДК 6.6-003.725:593.96]:616.45-085.252.453

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГИДРОЛИЗАТА КУКУМАРИИ ЯПОНСКОЙ В ПРОФИЛАКТИКЕ НАРУШЕНИЙ, СВЯЗАННЫХ СО СТРЕССОМ

Солодкова О.А., Каредина В.С., Зенкина В.Г.
Владивостокский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия

У экспериментальных животных, принимавших биодобавки с 1,5 до 3 месяцев жизни, наблюдаются морфологические изменения в коре надпочечников. Прием добавок на фоне функциональной незрелости органа приводит к достоверному увеличению объема клеток в пучковой зоне коры надпочечника и расширению этой зоны у экспериментальных нестрессированных животных. Подобные изменения оказывали существенное влияние на течение последующей стрессовой реакции, а именно, отсутствовали серьезные повреждения стероидсинтезирующих структур коркового и мозгового вещества.

Ключевые слова: надпочечник крысы, стресс, кукумария.

Разработка эффективных способов повышения устойчивости к эмоциональному стрессу остается одной из актуальнейших социальных проблем современной физиологии и медицины [3,5,6,7,11,12].

В последние годы появилось много публикаций о биологической и фармакологической активности органических природных соединений морского происхождения. Из морских гидробионтов наиболее распространенным представителем в прибрежных водах Приморья является кукумария японская (Cucumaria japonica), из класса голотурий. Ткань кукумарии содержит витамины А, F, группы В, каротин, значительное количество минеральных веществ и тритерпеновые гликозиды. Тритерпеновые гликозиды, выделенные из животных, относятся к универсальным биорегуляторам, способным влиять на рост и развитие многоклеточных организмов, центральную нервную систему, кровь и кроветворение, метаболизм [2,3,8,9].

Особый интерес представляет проблема регуляции функционального состояния надпочечников, играющих ведущую роль в формировании адаптивной резистентности организма [10,12].

На базе ТИНРО – Центра г. Владивостока создана биологически активная добавка (БАД) «Тингол – 1» (гидролизат из кукумарии японской (ГКЯ), полученный ферментативным гидролизом с помощью протеолитического фермента из внутренностей краба), содержащая в своем составе тритерпеновые глигозиды (ТГ).

Цель настоящей работы. Исследование влияния гидролизата кукумарии японской на развитие реакции стресса у животных с целью выявления стресс – протективного действия.

Материалы и методы. Опыты выполнены на 50 белых беспородных крысах – самках массой 180 – 220 г, содержащихся в виварии при естественном световом режиме и свободном доступе к воде и пище. Животные были разделены на 6 групп: 1 – я - интактные; 2 – я – животные, получавшие ГКЯ (содержание ТГ 100 мкг/мл) в виде одной ежедневной добавки к основному корму в количестве 3,0 мл на 1 кг веса тела с 1,5 до 3,5 мес.; 3 – я – интактные + острый стресс (контроль); 4 - я - животные, получавшие

ГКЯ + острый стресс; 5 – я - интактные + стресс 12 дней (контроль); 6 – животные, получавшие ГКЯ + стресс 12 дней. Стресс моделировали опусканием животных в холодную воду при температуре 6±1^{0}С в течение часа однократно или многократно (до 12 дней по 1 разу в день) [1,5]. В настоящей работе исследовали эффект ГКЯ на стадии тревоги (однократное пребывание в воде) и стадии истощения (12 дней стресс - воздействия). После легкого эфирного наркоза крыс декапитировали. Для приготовления гистологических препаратов использовали левый надпочечник. Его извлекали тотчас после забоя, фиксировали в жидкости Карнуа. Серийные парафиновые срезы из средних слоев железы толщиной 7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Учитывая, что по размерам секреторных клеток можно оценивать функциональное состояние надпочечников [11], мы измеряли площадь ядер и цитоплазмы клеток пучковой зоны коры надпочечников, а также определяли ядерно-цитоплазматические соотношения и ширину различных зон коры. Все цифровые данные обрабатывали статистически с использованием критерия Стъюдента.

Результаты исследований и их обсуждение. Микроскопическое исследование надпочечников экспериментальной группы крыс показало, что на фоне приема ГКЯ изменений надпочечников не было. В тоже время при морфометрическом анализе наблюдалось небольшое изменение соотношения различных зон коры надпочечников. Ширина пучковой зоны у экспериментальных крыс была достоверно выше, чем у интактных (таб. 1).

Таблица 1. Морфометрические показатели коры надпочечников крыс

День стресса	Группы крыс	Ширина зон коры надпочечника, мкм		
		Ширина коркового вещества	Клубочковая зона	Пучково - сетчатая зона
Состояние покоя	Интактные	545,7±8,34	52,7±5,08	493,8±9,82
	ГКЯ	610,5±4,7*	59,3±4,7	559,6±6,25*
1 сутки	Стресс - контроль	560,2±11,67	52,6±4,91	509,0±8,23
	Стресс - ГКЯ	614,5±8,27*	55,0±2,21	571,4±11,84*
12 сутки	Стресс - контроль	558,2±16,13	47,6±1,91	511,0±8,05
	Стресс - ГКЯ	678,0±14,78*	57,3±2,32*	621,3±16,73*

Примечание: * – достоверность по отношению к стресс – контролю $p<0,05$

Гистологическое изучение срезов у экспериментальных животных показало, что объемы клеток в клубочковой и сетчатой зонах имели тенденцию к увеличению размеров. Однако в пучковой зоне наблюдали достоверное увеличение объема цитоплазмы, так как увеличению объема цитоплазмы сопутствовало укрупнение ядер, то ядерно – цитоплазматические соотношения остались неизменными.

Воздействие холодом на первые сутки в стресс - контроле привело к достоверному увеличению объема ядер в пучковой зоне на 16,1%, что указывало на повышение функциональной активности надпочечников. Объем цитоплазмы достоверных изменений не имел, ядерно - цитоплазматические соотношения при этом увеличились на 12,5%. Однократное холодовое воздействие не вызывало активации

клеток клубочковой и сетчатой зон и мозгового вещества. Ширина коркового вещества достоверно не изменилась (таб. 1). Относительная масса надпочечников имела тенденцию к повышению, а именно у самок с весом 149,2±1,23 г составила 15,0±0,42мг, что статистически значимо.

На фоне приема пищевых добавок с высоким содержанием тритерпеновых гликозидов мы наблюдали следующие изменения функциональной активности надпочечников.

На 1 сутки холодового воздействия у стресс-экспериментальных крыс относительная масса надпочечника у самок весом 155±3,15 г составила 16,2±0,14 мг, что достоверно выше, чем в стресс – контроле. Цитологические исследования показали, что в клубочковой и сетчатой зонах объемы ядер и цитоплазмы не изменились. Адренокортикоциты пучковой зоны не изменили своих объемов, что привело к достоверному отличию ядерно-цитоплазматических соотношений, по отношению к стресс - контрольным животным. Ширина пучково-сетчатой зоны не изменилась по отношению к стресс – контролю и была достоверно выше (таб. 1).

На 12 сутки холодового воздействия у стресс – контрольных крыс отмечали, что стрессовая гипертрофия надпочечников подвергалась редуцированию. Этот процесс характеризовался снижением объема клеток в пучковой зоне, что привело к уменьшению ширины пучково – сетчатой зоны и коркового вещества в целом (таб. 1). Эти изменения совпали со снижением относительной массы надпочечника до 15,6±0,35 мг при уменьшении массе тела до 141,8±2,56 г. Морфологическое изучение надпочечников показало, что во всех зонах коры отмечался кариопикноз и карионекроз.

Так как в результате эксперимента вес надпочечников увеличивался не постепенно, а резко, а также очень быстро наступало ослабление гипертрофии надпочечников на фоне потери веса тела и атрофии внутренних органов, то эти признаки можно оценить как начальные проявления наступающего общего истощения.

На 12 сутки холодового воздействия у экспериментальных крыс мы отметили, что сохраняется гипертрофия клеток во всех зонах коры, что привело к появлению статистически значимых отличий. Гипертрофия клеток клубочковой, пучковой и сетчатой зон достоверна по отношению к стресс – контролю, где гипертрофия клеток резко нарастала в начале эксперимента и к 12 суткам подвергалась редуцированию. Увеличение объемов клеток и высокая митотическая активность привела к умеренному расширению коркового вещества надпочечников, за счет расширения клубочковой и пучково-сетчатой зон. Прирост массы тела животных не имел тенденции к снижению на протяжении всего эксперимента. Морфологическое изучение надпочечников показало, что корковое вещество сохранило свое строение.

Таким образом, предварительный прием животными гидролизата из кукумарии японской, а также получение пищевых добавок во время стрессовой реакции увеличивает компенсаторные возможности организма. Учитывая результаты полученных исследований, можно говорить о том, что гидролизат кукумарии японской, обладая стресс-протективной активностью, способствуют формированию более выраженной стадии резистентности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Авакян А.Р., Лазарев А.И., Прокопенко Л.Т. // Антибиотики и химиотерапия. – 2002. – Т. 47, № 2. – С. 3- 7.

2. Аминин Д.Л., Анисимов М.И. // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. – 1990. – Т.26, №1. – С. 9-13.

3. Бодров В.А. // Психологический журнал. – 2006. – Т. 27. № 3. – С. 106 – 113.

4. Бейр Э.В., Эльбекьян К.С., Арушанян Э.Б. // Журн. высшей нервной деятельности. – 2001. – Т. 51, №5. – С. 631 – 635.

5. Гилинский М.А., Колосова Н.Г., Петракова Г.М. // Вестн. Рос. АМН. – 1998. - №10. – С.22 – 26.

6. Граевская Е.С. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 2001. – Т.131, № 4. – С. 396 – 398.

7. Крылова С.Т., Коновалова О.Н., Зуева Е.П. // Эксперим. и клинич. фармакология . – 2000. - № 4. – С. 70 -74.

8. Стоник В.А. // Вестник ДВО РАН. - 1999. - №4. – С. 25-33.

9. Шарова Л.В., Седов А.М., Стоник В.А. // Фармакология и токсикология. – 1991. – Т.54, №1. – С. 60-61.

10. Gisele Cus Manfro, Carlos Alexandre Netto, Mark Pollack, Kelin Maggioni Mezzomo et al // Arq. neuron-psiquiat. – 2003. - Vol.61, №1. – P. 20 – 24.

11. Milosevic Verica, Brkic Branislava, Starcevic Vesna // Jugosloven. med. biohem. – 2001. – Vol.20, №2. - P. 89 – 97.

12. Tobin, Jonn P. // Irish J. Psychol. Med. – 2001. – Vol.18, №1. – P. 27 – 29.

APPLICATIONS OF EXTRACT OF KUKUMARIA YAPONICA FOR PROPHYLACTIC OF DISTURBANCE RELATED TO STRESS

Solodkova O.A., Karedina V.S., Zenkina V.G.
Vladivostok State Medical University,
Vladivostok, Russia

There are morphology alterations in the cortex of adrenal body of experimental animals who take biological addition since 1,5 to 3 months of life. The reception of additions on the phone of functional immaturity of adrenal is resulting to authentic increase of cell's volume in the fascicular band of adrenal cortex and to dilatation of this zone of animals without stress. Similar changes were have essential influence for passage of following stressful response, namely there were absent important damage of steroid-synthesizes structure of cortex and cerebral stuff of adrenal body.