

**СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЙ ГОМЕОСТАЗ
И ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНИЯ САМОК КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА
В ДИНАМИКЕ ЭСТРАЛЬНОГО ЦИКЛА**

Изучены показатели перекисного окисления липидов, антиоксидантной системы и ориентировочного поведения у молодых и старых самок крыс в стадиях эструса и диэструса. Показано, что у старых самок происходит нарушение продолжительности репродуктивных циклов. С возрастом у животных увеличивается уровень тревожности, тогда как молодые самки имеют более высокую исследовательскую активность независимо от стадии эстрального цикла. Процессы ПОЛ у старых животных увеличиваются. Самки в стадии эструса проявили более низкий уровень тревожности по сравнению с аналогичным показателем у животных в стадии диэструса.

N. Lomteva

**FREE RADICAL HOMEOSTASIS AND BEHAVIOR OF DIFFERENT AGE
FEMALE RATS IN THE DYNAMIC OF ESTROUS CYCLE**

The factors of (LPO), system of antioxidant and exploratory behavior in young and old female rats in estrous cycle dynamic were studied. The duration of estrous cycle broke in old rats. The level of anxiety increased in old female rats and the research behavior increased in young animals. The factors of (LPO) increased in the old female.

Гормональный статус организма изменяется на протяжении различных периодов онтогенеза и в зависимости от функционального состояния организма [1]. Флуктуация половых гормонов в женском организме на протяжении овариального цикла влияет на многие функции и метаболические процессы [2, 3]. Циркулирующие в крови гормоны рассматривают как первичные мотивирующие факторы поведения животных, так как нервная и эндокринная системы имеют общие функции координации и коммуникации внутри организма.

Окислительные процессы необходимы для реализации физиологических функций в клетках и тканях, в результате окислительно-восстановительных реакций постоянно происходит генерация активных форм кислорода [4]. В естественных условиях процессы перекисного окисления находятся в состоянии равновесия с системами антиоксидантной защиты [5, 6]. К ферментативным компонентам антиоксидантной защиты относятся супероксиддисмутаза, каталаза, глутатион пероксидаза и др.

С возрастом нарушаются физиологические процессы, протекающие в организме, изменяется гормональный баланс [1]. Старение сопровождается усилением свободнорадикальных процессов и изменением равновесия в системе антиоксидантной защиты [6]. Возрастные нарушения проявляются и в функционировании ЦНС. Цель работы – изучить процессы перекисного окисления липидов, антиоксидантную систему и поведение в динамике эстрального цикла у молодых и старых самок крыс.

Схема эксперимента, материалы и методы

Изучались молодые половозрелые (три-четыре месяца) и старые (24 месяца самки белых беспородных крыс). Крысы содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. Все эксперименты выполнялись в осенне-летний период. Декапитацию животных проводили после предварительной наркотизации крыс внутрибрюшинным введением нембутала в дозе 4 мг/100 г массы тела [7].

Уровень свободнорадикального окисления определяли по уровню исходного малонового диальдегида (МДА), скорости спонтанного и аскорбатзависимого перекисного окисления липидов (ПОЛ) в гомогенатах печени. Содержание МДА и кинетические характеристики процесса ПОЛ определяли тиобарбитуровым методом [8].

Ориентировочно-исследовательское поведение изучали в тесте «открытое поле» [9]. Время экспозиции каждого животного в тесте «открытое поле» составляло две минуты. В поведении выделяли восемь визуально различающихся параметров: латентный период первого перемещения, количество пересеченных центральных квадратов, количество пересеченных периферических квадратов, число центральных стоек без опоры о бортик, количество периферических стоек с опорой о бортик, количество заглядываний в норки, груминг и число болюсов.

Самок перед экспериментом хендлировали (приручали к рукам), чтобы исключить маскирующее влияние страха, возникающего у животных при взятии в руки экспериментатором [10]. Для определения стадии эстрального цикла у животных изучались влагалищные мазки [11]. В опыт брали самок только в

период диэструса и эструса, так как данные стадии отличаются четкими поведенческими особенностями [2].

Результаты и их обсуждение

Показатели перекисного окисления липидов. Скорость спонтанного ПОЛ у молодых животных была ниже по сравнению со старыми самками в стадии диэструса ($p < 0,05$), в эстресе имела аналогичная тенденция. Скорость аскорбатзависимого ПОЛ не различалась у крыс разного возраста независимо от стадии эстрального цикла. Уровень исходного МДА был ниже у молодых животных по сравнению со старыми как в стадии эструса ($p < 0,05$), так и в диэстресе ($p < 0,001$). Как у молодых, так и у старых животных достоверных различий между стадиями эстрального цикла не наблюдалось по всем изучаемым показателям.

Таблица 1

Показатели перекисного окисления липидов

Возраст животных	Стадия цикла	Показатели ПОЛ		
		Спонтанное ПОЛ	Аскорбатзависимое ПОЛ	Исходный уровень МДА
Старые	ДЭ	37,8 ± 8,02	65,97 ± 9,54	4,5 ± 0,81
	Э	51,5 ± 12,32	52,3 ± 16,20	2,85 ± 0,43
Молодые	ДЭ	17,0 ± 1,32	53,3 ± 12,30	5,1 ± 1,05
	Э	20,8 ± 1,79 *	43,5 ± 9,81	1,5 ± 0,22 *

Примечание: ДЭ — стадия диэструса, Э — стадия эструса; * — различия между старыми и молодыми животными ($p < 0,05$).

Активность каталазы сыворотки крови. Активность каталазы в стадии диэструса была несколько выше по сравнению со стадией эструса, причем у старых животных — в большей степени. Активность каталазы у молодых животных была ниже в сравнении со старыми крысами и в стадии эструса, и в стадии диэструса.

Таблица 2

Активность каталазы сыворотки крови

Старые самки		Молодые самки	
Стадия эструса	Стадия диэструса	Стадия эструса	Стадия диэструса
430,6 ± 0,20	449 ± 0,30	412,6 ± 0,24	415,3 ± 0,12

Показатели ориентировочно-исследовательского поведения. У молодых самок латентный период первого перемещения снижался в стадии эструса по сравнению с диэстресом ($p < 0,05$). Двигательная активность в центре открытого поля не показала достоверных различий по стадиям эстрального цикла. Количество пересеченных периферических квадратов снижалось в стадии эструса в сравнении с диэстресом ($p < 0,05$). Вертикальная двигательная активность как на периферии, так и в центре открытого поля имела тенденцию к возрастанию в стадии эструса по сравнению с диэстресом. Исследовательская активность достоверных различий между стадиями цикла не показала. Груминг и количество болюсов практически не изменялись.

У старых животных происходило снижение двигательной активности на периферии открытого поля в стадии эструса по сравнению с диэструсом ($p < 0,01$), тогда как центральная двигательная активность между стадиями цикла не различалась. Количество центральных стоек незначительно возрастало в стадии эструса по сравнению с диэструсом, тогда как число стоек с опорой о бортик снижалось в стадии эструса ($p < 0,05$). Количество исследованных норок имело тенденцию к возрастанию в стадии эструса по сравнению с диэструсом. Груминг и число болюсов изменялись незначительно между стадиями цикла.

При сравнении поведения у молодых и старых самок получены следующие результаты:

- латентный период первого перемещения незначительно возрастал у молодых животных по сравнению со старыми, причем в большей степени в стадии диэструса;
- двигательная активность в центре открытого поля снижалась у молодых самок по сравнению со старыми только в стадии эструса ($p < 0,05$);
- количество пересеченных периферических квадратов также снижалось у молодых животных в сравнении со старыми независимо от стадии эстрального цикла ($p < 0,05$).

Таблица 3

Показатели ориентировочного поведения

Показатели ориентировочного поведения	Старые самки		Молодые самки	
	ДЭ	Э	ДЭ	Э
Латентный период	2,4 ± 0,29	2,0 ± 0,23	4,1 ± 0,80 Δ	2,2 ± 0,36
Центральные квадраты	5,2 ± 0,33	5,2 ± 0,89	4,9 ± 0,96	3,2 ± 0,12
Периферические квадраты	45,8 ± 3,72 ΔΔ	30,3 ± 2,49	34,6 ± 2,30 ΔΔ *	22,0 ± 2,90 *
Центральные стойки	0,6 ± 0,14	1,2 ± 0,30	0	1,6 ± 0,57
Периферические стойки	5,8 ± 0,69 Δ	3,6 ± 0,61	2,8 ± 0,40 **	4,0 ± 0,65
Норки	3,8 ± 0,38	5,1 ± 0,75	10,1 ± 1,97 **	6,3 ± 1,51
Груминг	6,3 ± 1,10	9,5 ± 2,00	5,3 ± 1,80	3,9 ± 1,03 *
Болюсы	1,8 ± 0,48	1,2 ± 0,36	0,9 ± 0,32	0

Примечание: ДЭ — стадия диэструса; Э — стадия эструса; * — различия между показателями старых и молодых животных; Δ — различия между показателями по стадиям цикла; Δ, * — ($p < 0,05$); ΔΔ, ** — ($p < 0,01$).

Число стоек без опоры о бортик уменьшалось у молодых крыс в сравнении со старыми в стадии диэструса ($p < 0,01$), тогда как в стадии эструса практически не изменялось. Исследовательская активность возрастала у молодых животных по сравнению со старыми в стадии диэструса ($p < 0,01$), тогда как в эструсе имелась сходная тенденция. Груминг уменьшался у молодых крыс по сравнению со старыми, причем в большей степени — в стадии эструса ($p < 0,05$). Число болюсов у молодых самок также уменьшалось в стадии диэструса, а в стадии эструса доходило до нуля.

Процессы свободнорадикального окисления не выявили достоверных различий между стадиями эстрального цикла, хотя имелась тенденция к более вы-

сокому уровню исходного МДА в стадии диэструса по сравнению с эструсом у животных обеих возрастных групп. Подобные изменения могут быть связаны с колебаниями половых гормонов на протяжении эстрального цикла, так как многие авторы указывают на антиоксидантный эффект половых гормонов. В частности, показан антирадикальный и антиоксидантный эффект эстрогенов [3, 12, 13]. Изучены свободнорадикальные процессы на протяжении менструального цикла [13].

Ориентировочное поведение животных в стадии эструса отличалось меньшим латентным временем первого перемещения, а также снижением двигательной активности на периферии открытого поля по сравнению с аналогичными показателями самок в стадии диэструса. Снижение латентного периода первого перемещения может свидетельствовать о противоположных параметрах в поведении крыс. В нашем случае низкий латентный период не сопровождался повышением двигательной активности, что могло свидетельствовать о высоком уровне тревожности, т. е. самки в стадии эструса проявляли более низкий уровень тревожности, что и подтверждается снижением груминга и количества болюсов в данной стадии.

Показано, что низкий уровень тревожно-подобного поведения и увеличение чувствительности к анксиолитическим лекарством имеет место в позднем проэструсе и эструсе [14]. Тревожность находится в тесной зависимости от флуктуаций половых гормонов в процессе овариального цикла [15], так как известно, что прогестины и их метаболиты являются модуляторами активности возбуждающих и тормозных рецепторов в центральной нервной системе. Имеются данные о взаимодействии прогестинов с бензодиазепиновой системой мозга, которая определяет в большей степени эмоциональное возбуждение, страх и тревожность [16]. Большинство исследователей отмечают анксиолитические свойства экзогенного прогестерона.

У старых самок происходило нарушение репродуктивных циклов, проявляющееся в изменении продолжительности стадий эстрального цикла вплоть до установления постоянного эструса или диэструса или выпадения какой-либо стадии из цикла, что согласуется с данными литературы [17]. По показателям ориентировочного поведения старые самки проявляли большую двигательную активность на периферии открытого поля, которая в сочетании с высоким грумингом и низкой исследовательской активностью может свидетельствовать о высоком уровне тревожности у данной возрастной группы по сравнению с молодыми животными, которые проявляли высокую исследовательскую активность независимо от стадии эстрального цикла. Показано, что для пожилого возраста характерны возрастание роли отрицательных эмоций, снижение варибельности эмоциональных состояний. Происходит возрастное повышение возбудимости негативных эмоциогенных зон гипоталамуса, снижение с возрастом порогов отрицательных эмоциональных реакций. При старении у крыс возникают предпосылки для смещения эмоционального баланса в сторону негативных проявлений, известны сведения, что в старости учащаются ощущения тревоги, страха, растерянности [1].

Возрастные изменения животных проявлялись и в показателях перекисного окисления липидов. Это выражалось более высоким уровнем спонтанного перекисного окисления липидов и исходного уровня малонового диальдегида у

старых самок в сравнении с молодыми животными, причем в большей степени — в стадии эструса. С возрастом происходит усиление свободнорадикальных процессов, что отражается в свободнорадикальной теории старения [6].

Таким образом, у старых животных происходило нарушение продолжительности стадий репродуктивных циклов. Старые самки показали изменение ориентировочного поведения, выражающееся более высоким уровнем тревожности по сравнению с данным показателем у молодых животных. Молодые самки отличались высокой исследовательской активностью. Показано, что уровень спонтанного ПОЛ и исходный уровень МДА повышается с возрастом самок. Ориентировочное поведение самок крыс изменялось в зависимости от стадии эстрального цикла. Животные в стадии эструса имели более низкий уровень тревожности по сравнению с данным показателем в стадии диэструса.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ

1. Фролькис В. В. Старение. Нейрогуморальные механизмы. Киев, 1981.
2. Виноградова Е. П. // Журнал высшей нервной деятельности. 1999. Т. 49. № 6. С. 1039–1045.
3. Сергеев П. В. Стероидные гормоны. М., 1984.
4. Бурлакова Е. Г., Храпова Н. Г. // Успехи химии. 1986. Т. 54. № 9. С. 1540–1558.
5. Барабой В. А. // Успехи современной биологии. 1991. Т. 11. Вып. 6. С. 923–931.
6. Дубинина Е. Е., Ковругина С. В., Солитернова О. А. и др. // Успехи геронтологии. 2000. Вып. 4. С. 97–101.
7. Арушанян Э. Б., Толышев Б. А. // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. 1981. № 1. С. 133–136.
8. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. // Современные методы в биохимии. М., 1977. С. 66–67.
9. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Под ред. А. С. Батуева. М., 1991.
10. Жуков Д. А., Виноградова Е. П. // Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова. 1995. Т. 81. № 5. С. 93–97.
11. Кабак Я. М. Практикум по эндокринологии. М., 1968.
12. Анищенко Т. Г., Бриль Г. Е., Романова Т. П., Шорина Л. П. // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. 1995. № 3. С. 354–357.
13. Матюшин А. И., Гукасов В. М., Ржезников В. М., Балабаньян В. Ю., Бойко М. А. // Эксперим. и клинич. фармакология. 2002. Т. 65. № 3. С. 25–27.
14. Бабаянц А. Р., Анишина Н. Б., Унмут С. А., Рижинашвили С. И. // Акушерство и гинекология. 1985. № 7. С. 45–47.
15. Molina-Hernandez M., Conteras C. M., Tellez-Alcantara P. // Neuropsychobiology. 2001. V. 43. № 1. P. 29–33.
16. Hendrik V., Altshuler L. L., Burt V. K. Course // Harv. Rev. Psychiatry. 1996. № 4. P. 200–207.
17. Виноградова Е. П. // Рос. физиолог. журн. им. И. М. Сеченова. 2000. Т. 86. № 8. С. 979–986.
18. Дильман В. М. Эндокринологическая онкология Л., 1983.