

УДК: 611.118+616.34-008.87+616.006

І.М. Фалалтєва, О.В. Вірченко, Д.С. Янковський, Г.В. Берегова
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, м.Київ

КОРЕКЦІЯ СТРЕС-ІНДУКОВАНИХ ПОРУШЕНЬ ГІПОТАЛАМО-ГІПОФІЗАРНО-НАДНИРНИКОВОЇ СИСТЕМИ МУЛЬТИПРОБІОТИКОМ «СІМБІТЕР»

Встановлено, що мультипробіотик "Сімбітер ацидофільний концентрований" відновлює функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи, яке порушується під впливом надмірного стресу. Це створює сприятливі умови для загоєння стрес-індукованих виразок в слизовій оболонці шлунку щурів. Дія мультипробіотика на стрес-систему здійснюється завдяки його імуномодуючим властивостям - його введення знижує рівень інтерлейкіна- 1β в сироватці крові щурів, який зростає в умовах дії стресу.

Ключові слова: стрес, мультипробіотик, аденокортикотропний гормон, кортизол, інтерлейкін- 1β.

Робота є фрагментом науково-дослідної теми «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій» (2011-2015рр., №11БФ036-01, № держреєстрації 0111U004648).

Стрес – неспецифічна відповідь цілого організму на фактори зовнішнього чи внутрішнього середовища, що порушують гомеостаз [10]. Вироблення компенсаторної реакції на стресову дію усуває чи зменшує ступінь порушення гомеостазу, проте потребує певного часу. При надмірній чи дуже тривалій дії стресу адаптація може виявитися недостатньою, і реакція на стресовий чинник може перетворитися в ланку патогенезу хвороботворного стану чи захворювання. Справді, чітко показано, що надмірні стресові впливи зменшують опірність організму і призводять до різноманітних патологічних станів [5, 11]. Стресогенні порушення гомеостазу організму виявляються в імуносупресії або навпаки надмірній імунореактивності та аутоімунних захворюваннях [4], в активації перекисного окислення ліпідів в тканинах [13], порушенні функцій серцево-судинної системи [8], погіршенні роботи статевих залоз і пригніченні статевої поведінки [12]. Але першою системою, що страждає від впливів сильних стресорів, є шлунково-кишковий тракт.

Активация симпатоадреналової системи і вивільнення катехоламінів під час стресу спричинюють спазм судин слизової оболонки шлунка, що в свою чергу є причиною її ішемії і появи ерозивно-виразкових уражень. Також спостерігається посилення активності блукаючого нерва, наслідком чого є зростання секреції соляної кислоти – агресивної ланки ульцерогенезу [19]. Посилення перекисного окислення в СОШ спричинює накопичення вільних радикалів, які зв'язуються з фосфоліпідами клітинних мембран, призводять до порушення їх цілісності [9]. Це виявляється в підвищеній проникності кровоносних судин і виразках СОШ. Під часу стресу пригнічується продукція слизу в шлунку і погіршується його якісний склад, а саме знижується вміст сіалових кислот, що призводить до пошкодження захисного слизового бар'єру [1, 16]. Таким чином наслідком посилення факторів агресії і зниження захисних властивостей СОШ під час стресу є поява ерозивно-виразкових уражень стінки шлунка. Також показано, що активация імунної системи під час стресу і виділення інтерлейкінів (ІЛ) (ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6) та фактору некрозу пухлин (ФНП-α) здійснюють стимулюючий вплив на стрес-систему, що виявляється в посиленні синтезу кортикотропін релізинг гормону (КРГ) і глюкокортикоїдів, які в свою чергу за принципом негативного зворотного зв'язку пригнічують імунну відповідь [15]. Наявність такого контуру взаємодії імунної системи і стрес-системи обумовлює безпосередню участь імунної системи в стрес-реакціях (рис.1).

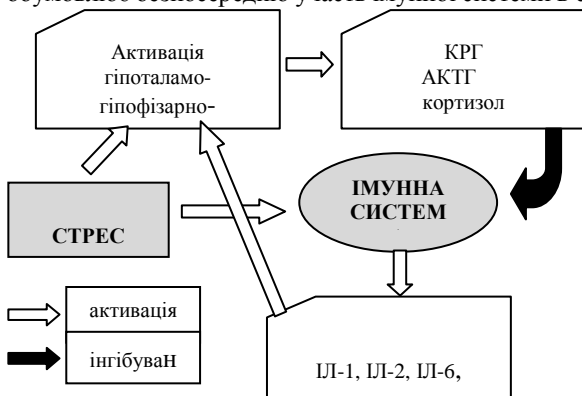


Рис. 1. Участь імунної системи в розвитку стрес-реакції.

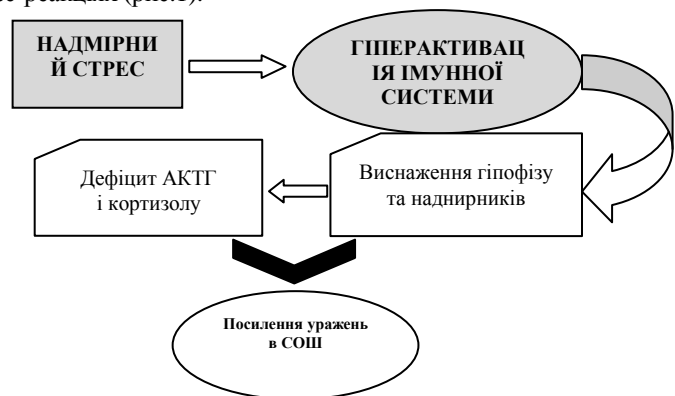


Рис.2. Участь імунної системи в розвитку уражень СОШ при надмірному стресі (АКТГ - аденокортикотропний гормон).

АКТГ - аденокортикотропний гормон, КРГ - кортикотропін релізинг гормон, ФНП - фактор некрозу пухлин, ІЛ – інтерлейкін. Надмірний стрес може призводити до розбалансування даного контуру саморегуляції і дефіциту КРГ і глюкокортикоїдів. Філаретова та співав. показали, що глюкокортикоїди здійснюють подвійний вплив на СОШ: фізіологічний гастропротекторний і патологічний проульцерогенний [2, 3]. При зниженні рівня

глюкокортикоїдів нижче фізіологічного захисні властивості СОШ погіршуються, що зумовлює посилення уражуючого впливу стресу на СОШ (рис. 2).

Враховуючи те, що розробка способів підвищення стійкості до ушкоджуючої дії стресу і прискорення процесів адаптації залишається актуальною задачею сучасної фізіології і медицини, а також враховуючи важливу роль імунної системи в розвитку стрес-реакцій, нашу увагу привернули пробіотики. Дослідженнями різних авторів була показана імунomodуючі властивості пробіотиків, а також ефективність їх використання для лікування стрес-індукованих уражень СОШ. Так, Р.С. Konturek et al. показали, що пробіотична бактерія *Escherichia coli* штаму Nissle 1917 здійснює гастропротекторний вплив на СОШ. Дослідники виявили залучення простагландинів, оксиду азоту (NO), капсаїцин-чутливих сенсорних волокон у механізми гастропротекції. Також було показано зростання після стресу у тварин, яким вводили пробіотик, експресії білка теплового шоку HSP70 і греліну, які виявляють гастропротекторні властивості, і зниження експресії інтерлейкіну-1 β , порівняно з тваринами, яким вводили фізрозчин [7]. Також гастропротекторна дія при стресі була виявлена у пробіотика Lacidofil (95 % *Lactobacillus rhamnosus* rosell-11 и 5 % *Lactobacillus acidophilus* rosell-52) [6]. Зазначені дослідження були проведені з використанням одно- та двокомпонентних пробіотиків. Але мікробіоценоз шлунково-кишкового тракту – це складна багатоконпонентна система, що складається з бактерій, які знаходяться у мутуалістичних взаємовідносинах. Тому для нашого дослідження був обраний мультипробіотик «Симбітер[®] ацидофільний концентрований», склад якого є найбільш наближений до фізіологічного. Даний пробіотик розроблений науково-виробничою компанією «О.Д. Пролісок» (висновок державної санітарно-епідеміологічної експертизи №5.03.03.-04/37/92 від 08.09.2003 р.). До складу мультипробіотика входять 14 штамів пробіотичних бактерій, що належать до родів *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Propionibacterium* і *Acetobacter*, та знаходяться в симбіозі між собою. Мультипробіотик «Симбітер» містить в одній дозі (10 мл) не менше 10¹² живих клітин пробіотичних бактерій.

Метою роботи було встановити вплив мультипробіотика Симбітер на гоєння ерозійно-виразкових уражень СОШ, викликаних дією 3-годинного водно-імобілізаційного стресу (ВІС), а також з'ясувати його вплив на стрес-індуковані зміни вмісту в сироватці крові щурів гормонів гіпофіза (адренкортикотропного гормону (АКТГ)) та кори наднирників (кортизолу) та інтерлейкіну 1 β .

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проводилися на 56 білих нелінійних щурах масою 180 - 200 г з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [14]. Ураження СОШ щурів викликали 3-годинною дією водно-імобілізаційного стресу (ВІС) за Takagi et al., 1964 [17]. Тварини були поділені на 8 груп по 7 щурів в кожній: 1 – контрольна (інтактні щури); 2 – щури, забір крові у яких здійснювали одразу після закінчення дії ВІС; 3 – щури, забір крові у яких здійснювали через 24 години після ВІС; упродовж доби після ВІС перорально (*per os*) двічі вводили 0,5 мл водопровідної дехлорованої води; 4 – щури, забір крові у яких здійснювали через 24 години; упродовж доби після ВІС перорально (*per os*) двічі вводили 0,5 мл водного розчину Симбітеру з розрахунку 0,14 мл/кг нерозведеного препарату; 5 – щури, забір крові у яких здійснювали через 48 годин після ВІС; упродовж 2 діб після ВІС перорально (*per os*) двічі на добу вводили 0,5 мл води; 6 – щури, забір крові у яких здійснювали через 48 годин; упродовж 2 діб після ВІС перорально (*per os*) двічі на добу вводили 0,5 мл водного розчину Симбітеру; 7 – щури, забір крові у яких здійснювали через 72 години після ВІС; упродовж 3 діб після ВІС перорально (*per os*) двічі на добу вводили 0,5 мл води; 8 – щури, забір крові у яких здійснювали через 72 години; упродовж 3 діб після ВІС перорально (*per os*) двічі на добу вводили 0,5 мл водного розчину Симбітеру. Контролем для груп щурів, яким вводили Симбітер, слугували відповідні групи щурів, яким вводили воду: 3-я група – контроль 4-ої групи, 5-а – 6-ої, а 7 –8-ої групи.

Кров збирали в пробірки, центрифугували 20 хв при +4 °С (1000 g), після чого здійснювали відбір сироватки. Визначали вміст АКТГ, кортизолу та інтерлейкіну-1 β у сироватці крові щурів методом імуноферментного аналізу за допомогою комерційних наборів виробництва DRG International Inc. (USA), ТОВ НВЛ «Гранум» (м. Харків) та GE Healthcare (Amersham ІЛ-1 β Rat Biotrak ELISA System). Всі зразки були проаналізовані в двох повторах. Концентрацію АКТГ виражали в пг/мл сироватки, кортизолу – в нмоль/л сироватки, ІЛ-1 β – в пг/мл сироватки.

У тварин усіх груп після забору крові досліджували стан СОШ за допомогою гастроскопа і обраховували розміри гострих уражень методом планіметрії. Були досліджені наступні ураження: 1) виразки – у вигляді глибоких округлих уражень СОШ; 2) ерозії – у вигляді «лінійних тріщин» СОШ.

Статистична обробка даних здійснювалася у пакеті програм “Statistica 8.0”. Оскільки частина отриманих даних була розподілена за нормальним законом, а частина – ні, то були використані як параметричні, так і непараметричні методи порівняння вибірок. Для статистичної обробки параметричних даних був використаний критерій Левана, для оцінки рівності дисперсій, і t-критерій Стьюдента для незалежних вибірок. Порівняння непараметричних даних проводилося за допомогою U-критерію Манна-Уїтні для незалежних вибірок. Розраховували середнє значення (M) і стандартне квадратичне відхилення (SD) для даних, розподілених за нормальним законом (M \pm SD), а медіану (Me) і нижній та верхній квартилі для непараметричних даних (Me,_{[н.кв.;} в.кв.]). Для оцінки кореляцій між групами був використаний ранговий кореляційний аналіз по Спірмену. Значущими вважали відмінності при p \leq 0,05.

Результати дослідження та їх обговорення. В результаті проведених досліджень у СОШ щурів після ВІС діагностувалися значні стрес-індуковані ураження, а саме виразки, ерозії та крововиливи. Так, у СОШ щурів,

яких виводили з експерименту одразу після стресу, площа виразок становила 2,75,[2; 4,5] мм², а довжина ерозій - 2,88,[1,5; 5] мм. Через день після ВІС площа виразок СОШ у групі щурів, які отримували плацебо, становила 3,63,[0; 10,25] мм² і статистично значущо не відрізнялась, але мала тенденцію до зростання в порівнянні з групою щурів, ураження яких досліджувалися одразу після стресу. Що стосується ерозій, то їх розміри через добу після ВІС становили 8,25,[8; 13] мм, що більше в 2,9 рази порівняно з довжиною ерозій, які досліджувалися одразу після стресу (p<0,001). На другий день після ВІС площа виразок у щурів, які отримували плацебо, була 4,5,[0; 6] мм², що статистично значущо не відрізнялася від площ виразок одразу після стресу, але мала тенденцію до зниження в порівнянні з виразками, які були через добу після стресу (рис.3, рис.4).

Довжина ерозій на другу добу - 7,75,[4; 14] мм, що в 2,7 рази більше за довжину ерозій одразу після стресу (p<0,01). Через три дні після ВІС площа виразок у щурів, які отримували плацебо, становила 1,88,[1; 3,75] мм², що статистично значущо не відрізнялася від такої у групі щурів, які умертвлялися одразу після стресу, але мала тенденцію до зниження в порівнянні з останніми, а також в порівнянні з виразками СОШ, яка досліджувалася через дві доби після ВІС. Довжина ерозій через 3 доби після ВІС становила 9,5,[6; 11,5] мм, що в 3,29 рази більше, ніж одразу після стресу (p<0,01). Також необхідно зазначити, що спостерігалася зростання центральної тенденції даної вибірки, тобто розміри ерозій на третю добу збільшувалися, що корелювало зі зниженням розмірів виразок у цієї групи щурів. Таким чином отримані результати свідчать про позитивну динаміку гоєння стрес-індукованих виразок у СОШ щурів. Розміри ерозій навпаки через 3 дні збільшувалися, що корелювало із гоєнням виразок (рис.3, рис.4).

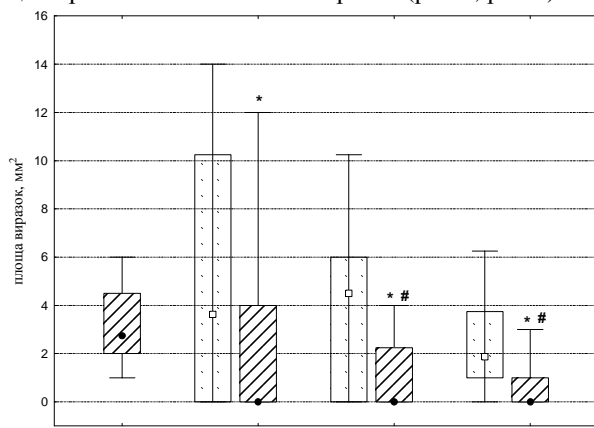


Рис.3. Вплив мультипробіотика «Симбітер» (140 мг/кг, per os) на динаміку гоєння виразок в СОШ щурів, викликаних ВІС: 1 – через 5 хв після стресу (n=7); 2 – через добу після стресу (n=14); 3 – через 2 доби після стресу (n=14); 4 – через 3 доби після стресу (n=14). Примітка: * – p<0,05 відносно групи щурів, яким вводили плацебо такий самий термін, # – p<0,05 відносно 1 групи щурів.

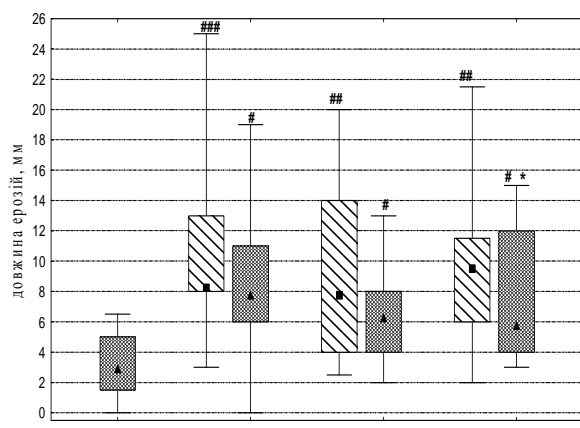


Рис.4. Вплив мультипробіотика «Симбітер» (140 мг/кг, per os) на динаміку гоєння ерозій в СОШ щурів, викликаних ВІС: 1 – через 5 хв після стресу (n=7); 2 – через добу після стресу (n=14); 3 – через 2 доби після стресу (n=14); 4 – через 3 доби після стресу (n=14). Примітка: * – p<0,05 відносно групи щурів, яким вводили плацебо такий самий термін, # – p<0,05 відносно 1 групи щурів, ## – p<0,01 відносно 1 групи щурів, ### – p<0,001 відносно 1 групи щурів.

Наступним етапом дослідження було визначення впливу мультипробіотика “Симбітер ацидофільний концентрований” на динаміку гоєння стрес-індукованих уражень СОШ щурів. Показано, що лікувальний вплив мультипробіотика на гоєння виразок СОШ спостерігається вже на 1-у добу після ВІС. Так у групі щурів, що отримували Симбітер впродовж доби, площа виразок становила 0,[0; 4] мм² і була значущо менша, ніж у групі з плацебо (p<0,05), а також мала тенденцію до зменшення в порівнянні з групою, ураження СОШ якої досліджувалися одразу після ВІС. Довжина ерозій через добу після стресу становила 7,75,[6; 11] мм і мала тенденцію до зменшення порівняно з щурами, що отримували плацебо, але була значущо більша в 2,7 рази порівняно з ерозіями одразу після стресу (p<0,05). На другу добу площа виразок у щурів, яким вводили Симбітер, становила 0,[0; 2,25] мм², що значущо менше за площу виразок щурів, яким вводили воду впродовж 2 днів, а також щурів, які умертвлялися одразу після стресу (p<0,05). Довжина ерозій на другу добу - 6,25,[4; 8], що в 2,1 рази більше за довжину ерозій одразу після стресу (p<0,05) і має тенденцію до зменшення порівняно з щурами, що отримували плацебо. На третю добу площа виразок щурів, що отримували мультипробіотик, становила 0,[0; 1] мм².

Щодо ерозій, то, якщо в групі з плацебо їх розмір на 3-ю добу зростав порівняно з 1-им і 2-им днем, в групі з Симбітером розмір ерозій на 3-ю практично не змінювався і становив 5,75,[4; 12]. Статистичний аналіз показав, що це значущо менше від розмірів ерозій щурів, яким впродовж 3-ох днів вводили плацебо, в 1,65 (p<0,05). Проте розміри ерозій залишаються значущо більшими порівняно з групою щурів, стан СОШ яких був досліджений одразу після ВІС (рис.3, рис.4). Таким чином за три доби ми спостерігали гоєння виразок у СОШ щурів, викликаних стресом, і виражене пришвидшення їх лікування при застосуванні Симбітера (рис.3). Що стосується ерозій, то через 3 доби після ВІС у СОШ їх залишалася значна кількість, як в групі щурів, яким вводили плацебо, так і в групі, яким вводили мультипробіотик, проте введення Симбітера також здійснювало позитивний вплив на лікування ерозивних уражень СОШ щурів (рис.4).

Імуноферментний аналіз показав, що концентрація АКТГ в сироватці крові інтактних щурів становила 23±9,7 пг/мл, а концентрація кортизолу - 27±8,3 нмоль/л. В результаті дії стресу рівень кортизолу збільшився в

2,2 рази ($p < 0,001$), при цьому концентрація АКТГ знизилася в 7,9 рази ($p < 0,001$), що підтверджує негативний зворотний зв'язок між рівнем кортизолу в крові і рівнем секреції АКТГ гіпофізом (рис.5, рис.6).

Через 24 години після ВІС концентрація кортизолу в сироватці крові щурів знизилася в 5,7 рази порівняно з контролем ($p < 0,001$), що може свідчити про виснаження наднирників під впливом сильного стресового чинника і перехід у третю фазу загального адаптаційного синдрому – стадію виснаження. Концентрація АКТГ через 24 години була знижена в порівнянні з контролем в 3,2 рази ($p < 0,01$), що може свідчити про виснаження гіпофізу. При цьому концентрація АКТГ порівняно з визначеною одразу після ВІС була більшою в 2,5 рази ($p < 0,05$). В наступні 2 доби після ВІС спостерігалось поступове відновлення рівнів АКТГ і кортизолу до значень цих показників у контрольній групі. Так, через 48 годин після ВІС концентрація АКТГ була в 1,9 рази меншою ($p < 0,05$), а вміст кортизолу – в 3,4 рази меншим ($p < 0,001$) порівняно з контролем.

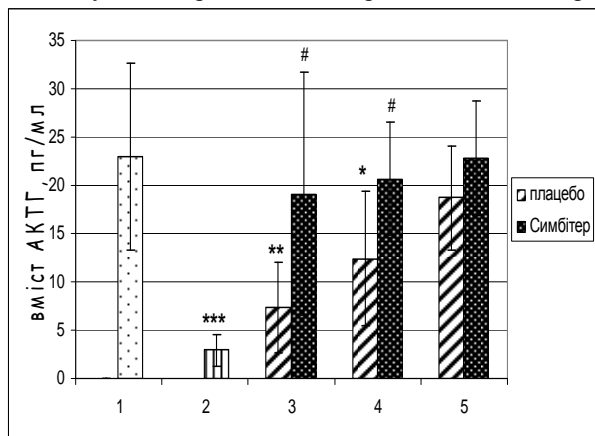


Рис.5. Вміст АКТГ у плазмі крові щурів після ВІС, пг/мл ($M \pm SD$): 1 – контроль ($n=7$); 2 – одразу після ВІС ($n=7$); 3 – через добу після ВІС ($n=14$); 4 – через 2 доби після ВІС ($n=14$); 5 – через 3 доби після ВІС ($n=14$). Примітка: # – $p < 0,05$ відносно групи щурів, яким вводили плацебо такий самий термін, * – $p < 0,05$ відносно контролю, ** – $p < 0,01$ відносно контролю, *** – $p < 0,001$ відносно контролю.

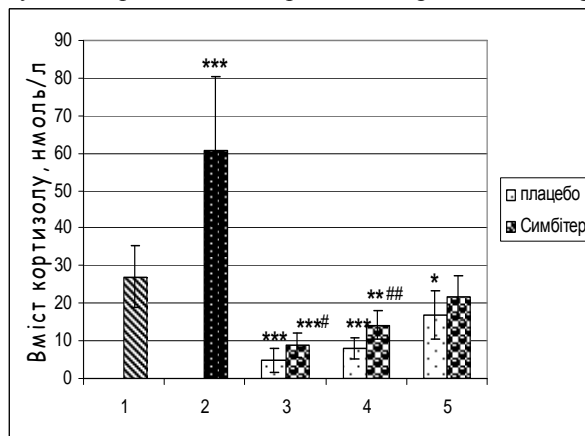


Рис.6. Вміст кортизолу в плазмі крові щурів після ВІС, нмоль/л ($M \pm SD$): 1 – контроль ($n=7$); 2 – одразу після ВІС ($n=7$); 3 – через добу після ВІС ($n=14$); 4 – через 2 доби після ВІС ($n=14$); 5 – через 3 доби після ВІС ($n=14$). Примітка: # – $p < 0,05$ відносно групи щурів, яким вводили плацебо такий самий термін, ## – $p < 0,01$ відносно групи щурів, яким вводили плацебо такий самий термін, * – $p < 0,05$ відносно контролю, ** – $p < 0,01$ відносно контролю, *** – $p < 0,001$ відносно контролю.

Вже через 72 години після ВІС концентрація АКТГ у сироватці крові щурів, які отримували плацебо, не відрізнялася значущо від даного показника контрольної групи, проте концентрація кортизолу була меншою за контрольний рівень в 1,6 рази ($p < 0,05$).

У групах щурів, яким вводили Симбітер спостерігалось пришвидшення відновлення концентрацій АКТГ і кортизолу до рівня контрольних значень. Так вже через 24 години статистично значущих відмінностей у рівні АКТГ між контрольною групою і групою щурів, яким вводили Симбітер, не було виявлено. Рівень кортизолу у перші дві доби після дії стресу був меншим за такий у контролі відповідно у 3 рази ($p < 0,001$) і 1,9 рази ($p < 0,01$), але більшим за рівень кортизолу у щурів, яким вводили плацебо, відповідно у 1,9 ($p < 0,05$) і 1,77 рази ($p < 0,01$). А через 72 години після ВІС концентрація кортизолу в сироватці крові щурів, які отримували Симбітер, не відрізнялася від контролю (рис.5, рис.6).

Показано, що фізіологічною основою формування адаптаційного синдрому (сукупності захисних реакцій організму при стресі) є базальний рівень кортикостероїдів, що являє собою результат нормального функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи. Як сильно високий, так і занижений рівень кортикостероїдів різко ослабляє захисні сили організму і призводить до формування стрес-індукованих захворювань, в тому числі ерозійно-виразкових уражень СОШ. Підтвердженням цього є роботи Філаретової, яка показала, що кортикостероїди також справляють гастропротекторну дію, отже, при зниженні їх концентрації нижче норми уражуючий вплив на СОШ посилюється [2]. Дійсно, в нашій роботі було показано, що при зниженні рівня АКТГ і кортизолу в крові щурів, на 1-3 доби спостерігалися значні ураження СОШ. Введення мультипробіотика «Симбітер ацидофільний концентований» сприяло відновленню базального рівня АКТГ і кортикостероїдів, що корелювало з пришвидшенням гоєння стрес-індукованих уражень СОШ.

Вплив пробіотиків на активність гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи здійснюється завдяки їхнім імуномодулюючим властивостям. Нами було показано, що Симбітер значущо знижував вміст ІЛ-1 β у сироватці крові щурів, який зростав в після впливу ВІС. При цьому виражений вплив Симбітеру виявлявся вже через 48 годин. Вміст цитокіну був нижчим у групі, якій вводили Симбітер впродовж 48 годин, порівняно з групою щурів, яким вводили воду, на 27 % ($p < 0,05$) (рис.7). Вже через 72 години значущих відмінностей у рівні ІЛ-1 β у сироватці крові між контролем і групою тварин, яким вводили Симбітер, виявлено не було. При цьому концентрація ІЛ-1 β у сироватці крові тварин через 72 години, яким вводили воду, була більшою за контрольний рівень на 62% ($p < 0,01$), а концентрація цитокіну в крові щурів, які отримували Симбітер, була нижчою від показника в групі тварин, що отримували воду, на 37% ($p < 0,05$) (рис.7).

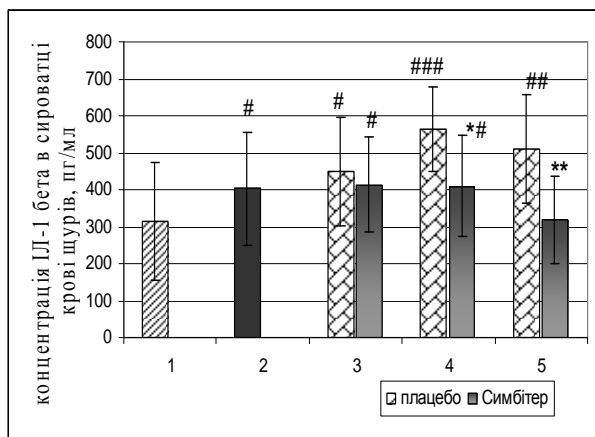


Рис.7. Вміст ІЛ-1β у сироватці крові щурів після ВІС, пг/мл: 1 – контроль (n=7); 2 – одразу після ВІС (n=7); 3 – через добу після ВІС (n=14); 4 – через 2 доби після ВІС (n=14); 5 – через 3 доби після ВІС (n=14).

Примітка: * – p<0,05 відносно групи щурів, яким вводили плацебо такий самий термін, ** – p<0,01 відносно групи щурів, яким вводили плацебо такий самий термін, # – p<0,05 відносно групи інтактних щурів, ## – p<0,01 відносно групи інтактних щурів, ### – p<0,001 відносно групи інтактних щурів.

Ранговий кореляційний аналіз по Спірмену показав, що різниця середніх значень концентрацій кортизолу між групами, що отримували плацебо, і групами, що отримували Симбітер, має сильну зворотню кореляцію з різницею середніх значень концентрацій ІЛ-1β між тими ж групами: коефіцієнт кореляції – -0,998 (p=0,04).

Висновок

Зниження вмісту ІЛ-1β під впливом Симбітеру запобігає розбалансуванню контуру імунна система – стрес-система і дефіциту гормонів гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової осі. Таким чином Симбітер може бути рекомендований як перспективний стрес-протектор і ефективний засіб для лікування стрес-індукованих уражень СОШ.

Література

- Dekanski J. B. Effects of fasting, stress and drugs on gastric glycoprotein synthesis in the rat / Dekanski J. B., Macdonald A., Sacra P. // *British Journal of Pharmacology*. – 1975. – Vol. 55, № 3. – P. 387-392.
- From gastroprotective to proulcerogenic action of glucocorticoids on the gastric mucosa. / Filaretova L., Morozova O., Bagaeva T. [et al.] // *Journal of Physiology and Pharmacology*. – 2009. – Vol. 60, Supplement 7 – P. 79-86.
- Gastroprotective role of glucocorticoid hormones / Filaretova L., Podvigina T., Bagaeva T. [et al.] // *Journal of Pharmacological Sciences*. – 2007. – Vol. 104, № 3. – P. 195-201.
- Friedman E. M. A role for CRH and the sympathetic nervous system in stress-induced immunosuppression / Friedman E. M., Irwin M. R. // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 1995. – Vol. 771 – P. 396-418.
- Life stress and respiratory illness / Jacobs M. A., Spilken A. Z., Norman M. M. [et al.] // *Psychosomatic Medicine*. – 1970. – Vol. 32, № 3. – P. 233-242.
- Gastroprotective effects of probiotics: myth or reality? / Konturek P. C., Brzozowski T., Loffler K. [et al.] // 5th international symposium on cell/tissue injury and cytoprotection/organoprotection. – Yalta, Ukraine. – 17-19 September, 2008. – P. 37-38.
- Probiotic bacteria Escherichia coli strain Nissle 1917 attenuates acute gastric lesions induced by stress / Konturek P. C., Sliwowski Z., Koziel J. et al. // *Journal of Physiology and Pharmacology*. – 2009. – Vol.60 Supplement 6 – P. 41-48.
- Leopold J. A. Oxidative mechanisms and atherothrombotic cardiovascular disease / Leopold J. A., Loscalzo J. // *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*. – 2008. – Vol. 5, № 1. – P. 5-13.
- McNeil P. L. Plasma membrane disruption: repair, prevention, adaptation / McNeil P. L., Steinhardt R. A. // *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. – 2003. – Vol.19 – P. 697-731.
- Perdrizet G. A. Hans Selye and beyond: responses to stress / Perdrizet G. A // *Cell Stress and Chaperones*. – 1997. – Vol.2, № 4. – P. 214-219.
- Social Stress and Illness Onset / Rahe R. H., Meyer M., Smith M. [et al.] // *Journal of Psychosomatic Research*. – 1964. – Vol. 54 – P. 35-44.
- Rivest S. The role of corticotropin-releasing factor and interleukin-1 in the regulation of neurons controlling reproductive functions / Rivest S., Rivier C. // *Endocrine Reviews*. – 1995. – Vol.16, № 2. – P. 177-199.
- Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease / Romero F. J., Bosch-Morell F., Romero M. J. [et al.] // *Environmental Health Perspectives*. – 1998. – Vol. 106, Supplement 5 – P. 1229-1234.
- Rozemond H. Laboratory animal protection: the European Convention and the Dutch Act / Rozemond H. // *Vet Q*. – 1986. – Vol. 8, № 4. – P. 346-349.
- Involvement of interleukin-1 in immobilization stress-induced increase in plasma adrenocorticotrophic hormone and in release of hypothalamic monoamines in the rat / Shintani F., Nakaki T., Kanba S. [et al.] // *The Journal of Neuroscience*. – 1995. – Vol. 15, № 3 (1). – P. 1961-1970.
- Somasundaram K. Gastric mucosal protection during restraint stress in rats: alteration in gastric adherent mucus and dissolved mucus in gastric secretion / Somasundaram K., Ganguly A. K // *Hepato-gastroenterology*. – 1985. – Vol. 32, № 1. – P. 24-26.
- Takagi K. Studies on the Drugs for Peptic Ulcer. A Reliable Method for Producing Stress Ulcer in Rats / Takagi K., Kasuya Y., Watanabe K. // *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. – 1964. – Vol. 12 – P. 465-472.
- Relations of plasma ACTH and cortisol levels with the distribution and function of peripheral blood cells in response to a behavioral challenge in breast cancer: an empirical exploration by means of statistical modeling / van der Pompe G., Antoni M. H., Duijvenvoorden H. J. [et al.] // *International Journal of Behavioral Medicine*. – 1997. – Vol.4, № 2. – P. 145-169.

Резюме

КОРРЕКЦИЯ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫХ НАРУШЕНИЙ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ СИСТЕМЫ МУЛЬТИПРОБИОТИКОМ «СИМБИТЕР»

Фалалеева Т.М., Вирченко А.В., Янковский Д.С., Береговая Т.В.

Установлено, что мультипробиотик «Симбистер ацидофильный концентрированный» восстанавливает функционирование гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, которое нарушается под воздействием чрезмерного стресса. Это создает благоприятные условия для заживления стресс-индуцированных поражений в слизистой оболочке желудка крыс. Воздействие мультипробиотики на стресс-систему осуществляется благодаря его иммуномодулирующим свойствам: его введение снижает уровень интерлейкина-1 β в сыворотке крови крыс, который возрастает в условиях действия стресса.

Ключевые слова: стресс, мультипробиотик, адренокортикотропный гормон, кортизол, интерлейкин-1 β .

Статья надійшла 22.11.2011 р.

CORRECTION OF STRESS-INDUCED DISORDERS OF THE HYPOTHALAMIC-PITUITARY-ADRENAL SYSTEM WITH MULTIPROBIOTIC "SYMBITER"

Falaleeva T.M., Virchenko O.V., Yankovski D.S., Beregovaya T.V.

The excessive stress causes disorders of the hypothalamic-pituitary-adrenal system. It was established that multiprobiotic "Symbiter acidophilic concentrated" restores the functioning of this system, therefore provides favorable conditions for healing of stress-induced lesions in gastric mucosa of rats. Multiprobiotic influence on the stress-system is realised due to its immunomodulatory properties: it reduces the level of interleukin-1 β in serum of rat blood, which is increasing in terms of stress.

Key words: stress, multiprobiotic, adrenocorticotrophic hormone, cortisol, interleukin-1 β .

УДК 573.6:577.21-076

Феськов А.М., Феськова И.А., Жилкова Е.С., Чумакова И.А., Сомова Е.В.
Клиника профессора Феськова А.М., «Центр Репродукции Человека», г. Харьков

ИССЛЕДОВАНИЕ ФРАГМЕНТАЦИИ ДНК СПЕРМАТОЗОИДОВ У МУЖЧИН С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ НЕЗРЕЛЫХ СПЕРМИЕВ В ЭЯКУЛЯТЕ

Исследована связь между повышенным содержанием незрелых форм спермиев и сперматозоидов с фрагментированной ДНК в эякуляте у мужчин с астено-, олиго- и тератозооспермией. Корреляция между результатами НВА-теста и анализа фрагментации ДНК сперматозоидов установлена в 80,0 % случаев. Содержание спермиев с поврежденной ДНК значительно ($p < 0,05$) выше у пациентов с показателями спермограммы, отличными от нормы, в сравнении с пациентами с нормозооспермией.

Ключевые слова: фрагментация ДНК сперматозоидов, НВА-тест, SCD-тест.

В настоящее время нарушениям отцовского генома уделяется все большее внимание в репродуктивной медицине. Использование классического анализа спермы не всегда позволяет выявить отцовский эффект, обуславливающий нарушения эмбрионального развития [1, 2]. Отцовский эффект может быть связан с такими генетическими факторами, как генные мутации, микроделеции, анеуплоидии, повреждения ДНК и нарушения компактизации хроматина [3-5]. Сперматогенез - это сложный многостадийный процесс развития и созревания сперматозоидов из незрелых половых клеток. В среднем продолжительность созревания сперматозоида занимает около двух с половиной месяцев. Нормальное протекание сперматогенеза требует скоординированного влияния многочисленных факторов (генетических, клеточных, гормональных и других). Следствием нарушения процесса созревания может быть наличие анеуплоидий в ядрах зрелых сперматозоидов, а также фрагментация ДНК сперматозоидов [6]. Фрагментация ДНК сперматозоидов - относительно недавно открытая причина мужского бесплодия, которая интенсивно исследуется в последнее десятилетие. Она включает двухцепочечные и одноцепочечные разрывы молекулы ДНК. Причинами разрывов ДНК считают процессы изменения структуры хроматина в ходе сперматогенеза и апоптоз. Для оценки фрагментации ДНК и апоптотических маркеров сперматозоидов в настоящее время разработан целый ряд методических подходов. Высокий процент сперматозоидов с повреждениями ДНК не всегда коррелирует с обычными параметрами спермограммы. В то же время фрагментация ДНК сперматозоидов может оказывать влияние на ранние этапы эмбрионального развития, особенно на формирование бластоцисты и частоту наступления беременности в циклах ЭКО/ИКСИ [7]. Отклонения спермограммы пациента от нормы (астено-, олиго-, либо тератозооспермия) могут свидетельствовать о наличии численных или структурных хромосомных патологий в ядрах сперматозоидов. Исследование ядер сперматозоидов пациентов с астено-, олиго- или тератозооспермией при лечении бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) является необходимым этапом обследования для выбора дальнейшей тактики лечения [8].

Целью работы было исследовать степень зрелости сперматозоидов, а также определить содержание сперматозоидов, несущих фрагментированную ДНК у пациентов с астено-, олиго- и тератозооспермией.

Материал и методы исследования. В ходе подготовки к программе ЭКО/ИКСИ было обследовано 80 мужчин с целью анализа степени зрелости сперматозоидов и исследования содержания сперматозоидов, несущих