

М. Е. Держинський, О. М. Птиця, І. М. Варенюк

## Електрична активність аркуатного ядра гіпоталамуса та морфофункціональна характеристика гонад птахів при блокаді та стимуляції $\beta$ -адренергічних рецепторів

*На созревающих самцах японских перепелов (Coturnix coturnix japonica) методами отведения суммарной электрической активности от аркуатного ядра гипоталамуса, морфометрического анализа нейроцитов этого ядра и семенников установлено, что активация  $\beta$ -адренорецепторов изадрином не вызывает видимого ускорения созревания репродуктивной системы. Блокада  $\beta$ -адренорецепторов анаприлином ведет к незначительному замедлению темпов созревания гипоталамо-гонадного комплекса птиц. Это подтверждает гипотезу, согласно которой  $\beta$ -адренергическая система головного мозга не играет ведущую роль в регуляции полового созревания птиц. Установлено также наличие прямой корреляции между морфометрическими и электрофизиологическими характеристиками нейросекреторных клеток аркуатного ядра.*

### Вступ

Останнім часом все частіше приходять до висновку, що значна роль у механізмах регуляції репродуктивного комплексу належить катехоламінергічній системі головного мозку. Згідно з уявленнями, які існують у сучасній науковій літературі, катехоламіни залучаються до нейроендокринної регуляції на різних ієрархічних рівнях і не завжди здійснюють однаковий вплив. Більшість дослідників схиляються до думки, що катехоламінергічна система головного мозку причетна до активації гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної системи [2, 7, 8, 12, 14, 21]. Це підтверджують такі факти, як зниження вмісту лютропіну в плазмі крові при введенні норадренергічного нейротоксину DSP-4 [12]; підвищення концентрації тестостерону в крові при введенні в латеральний шлуночок мозку  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -, або  $\beta_1$ -агоністів [10]; зниження вмісту іРНК люліберину при введенні  $\alpha$ -антагоніста празосину [21]. Однак існують і протилежні дані. Так, Goodman [13] описав катехоламінергічну систему, яка пригнічувала синтез лютропіну у овець в анеструсі. Серова із співавтор. [9] показали, що тривале зниження концентрації норадреналіну при вибірковому руйнуванні терміналей норадренергічних нейронів 6-гідроксидофаміном у мозку призводило до підвищення вмісту тестостерону. Наводяться також дані, згідно з якими норадреналін не впливає на виділення люліберину з гіпоталамуса та лютропіну з аденогіпофіза й, відповідно, не змінює продукцію тестостерону [17; 19]. Показана залежність ефектів катехоламінів від стадії естрального циклу [3] та від ступеня статевої зрілості [16]. Є дані, що концентрація катехоламінів у гіпоталамусі коливається під час статевого дозрівання [15], при зміні фотоперіоду [20] і залежить від стадії естрального циклу [1].

© М. Е. Держинський, О. М. Птиця, І. М. Варенюк

Можливо, такі суперечливі дані, отримані різними дослідниками, можна пояснити активацією за різних експериментальних умов різних типів адренорецепторів. Відомо, що існує два основних типи адренорецепторів:  $\alpha$  і  $\beta$ , кожен з яких ще розділений на підтипи. Оjeda та співавт. [18] спостерігали підвищення вмісту лютропіну при активації  $\alpha$ - і  $\beta_2$ -адренорецепторів та блокаді  $\beta_1$ -адренорецепторів. У праці Серової і співавт. [10] показано збільшення концентрації тестостерону в крові при активації  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ - та  $\beta_1$ -адренорецепторів; у той час, як активація  $\beta_2$ -адренорецепторів не давала такого ефекту. В інших роботах [5, 6] встановлено, що активуючий вплив катехоламінів на дозрівання гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної системи здійснюється через  $\alpha_1$ -адренорецептори, пригнічуючий – через  $\alpha_2$ -адренорецептори, а  $\beta$ -рецептори не відіграють істотної ролі в цьому процесі. Отже, певні протиріччя спостерігаються й щодо визначення конкретної ролі різних типів адренорецепторів у механізмах катехоламінієрگیчної регуляції репродуктивного комплексу.

Існуючі протиріччя та невідповідності з цього питання й спонукали нас провести дослідження ролі  $\beta$ -адренорецепторів в опосередкуванні впливу катехоламінів на регуляцію дозрівання гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної системи у самців птахів.

Як відомо, нейросекреторним клітинам властиві всі характеристики звичайних нервових клітин. А тому вивчення електрофізіологічних характеристик структур, що містять такі клітини, є суттєвим доповненням до морфологічних, біохімічних та інших методів дослідження.

## Методика

Дослідження проведені на 15 самцях японських перепелів (*Coturnix coturnix japonica*). Птахів утримували на довгому світловому дні: 16 год – світло (з 5.00 до 21.00), 8 год – темрява. Птахам віком 4 тиж під кетаміновим наркозом за допомогою стереотаксичного приладу вживляли ніхромові електроди товщиною 0,15 мм в аркуатне ядро (АЯ) гіпоталамуса та в лобну ділянку переднього мозку. Через кілька діб після операції проводили запис електричної активності вказаних структур головного мозку, після чого птахам раз на добу протягом 10 діб парентерально вводили ізадрин (50 мкг/100 г) та анаприлін (250 мкг/100 г). Птахи контрольної групи отримували ін'єкції фізіологічного розчину. На 4, 7 і 10-ту добу від початку введення препаратів вимірювали електричну активність АЯ гіпоталамуса та лобних ділянок переднього мозку. Виміри проводили через 15–20 год після останнього введення препаратів, щоб виключити короткотривалі ефекти впливу цих препаратів на головний мозок. Записи електричної активності АЯ гіпоталамуса та лобної ділянки переднього мозку проводили на 8-канальному електроенцефалографі EEG-8S «Medicor» (Угорщина), з'єднаному через аналогово-цифровий перетворювач з комп'ютером. Для аналізу записували 5- та 10-секундні проби. Аналіз записаних кривих проводили за допомогою комп'ютерної програми «Neurotools», розробленої фірмою «Medsoft» (Харків). У 6-тижнево-му віці (після 10 діб введення препаратів) птахів декапітували. Головний мозок і гонади фіксували в рідині Буена й виготовляли постійні гістологічні препарати за загальноприйнятою методикою. Проводили гістологічний контроль локалізації вживлених електродів. Препарати гіпоталамічної ділянки

мозку фарбували крезоловим фіолетовим за Нісслем і вимірювали площу поперечного перерізу ядер нейросекреторних клітин АЯ. Препарати сім'яників забарвлювали гематоксиліном Бюмера та еозином і вимірювали площу поперечного перерізу ядер клітин Лейдига та діаметр сім'яних канальців. Оскільки в усіх птахів сперматогенез дійшов стадії сперматоцитів 1-го порядку, але число даних клітин у сім'яних канальцях у перепелів різних експериментальних груп було неоднакове, то для кількісної оцінки цих відмінностей вираховували також співвідношення сперматогоній і сперматоцитів 1-го порядку. Статистичну обробку результатів проводили за Стьюдентом.

### Результати та їх обговорення

Результати проведених досліджень свідчать, що в електричній активності АЯ гіпоталамуса та лобних ділянок переднього мозку самців японських перепелів значно переважають повільні хвилі ( $\delta$ -діапазон), які складають 60–80 % потужності всього спектра (табл. 1). Інші дослідники також відмічають

**Таблиця 1. Спектральна потужність (мкВ<sup>2</sup>) аркуатного ядра гіпоталамуса та лобної ділянки переднього мозку**

Схема досліджу	Доба запису ЕЕГ	Спектральна потужність				
		$\delta_1$ -діапазон (0,00 – –1,27 Гц)	$\delta_2$ -діапазон (1,27 – –5,18 Гц)	$\theta$ -діапазон (5,18 – –7,91 Гц)	$\alpha$ -діапазон (7,91 – –13,18 Гц)	$\beta$ -діапазон (13,18 – –25,00 Гц)
Аркуатне ядро гіпоталамуса						
Фізіологічний розчин	0	9,92±1,31	10,64±1,60	3,76±0,88	3,59±0,98	1,95±0,25
	4	13,59±1,53	15,48±1,62*	4,62±0,91	4,28±1,07	1,87±0,31
	7	15,93±1,34*	15,25±1,79	4,19±1,12	3,92±0,46	2,15±0,39
	10	18,00±1,44*	17,20±1,31*	2,02±0,49	3,10±0,34	1,39±0,28
Ізадрин	0	12,49±1,06	9,55±1,02	2,92±0,47	1,91±0,20	1,20±0,31
	4	12,09±1,39	16,22±1,17*	3,45±1,41	4,58±0,54*	1,95±0,40
	7	17,58±1,17*	10,17±2,09	3,49±1,27	6,65±0,74**	2,33±0,42*
	10	21,82±1,78*	18,92±2,19*	3,28±1,63	6,45±0,44**	1,81±0,36
Анаприлін	0	12,65±1,94	9,30±1,30	1,23±0,39*	1,65±0,21	1,26±0,27
	4	13,37±2,07	16,57±2,00*	2,08±0,97	2,63±0,42*	1,55±0,31
	7	11,24±0,86**	18,31±3,04*	3,04±0,33*	2,86±0,80	2,08±0,45
	10	14,11±1,25**	14,59±2,42	1,71±0,46	1,96±0,21**	1,26±0,16
Лобна ділянка переднього мозку						
Фізіологічний розчин	0	17,66±1,93	84,29±3,91	30,34±2,12	24,61±1,26	6,69±1,16
	4	20,38±2,11	75,77±5,17	21,88±2,82*	16,38±1,82*	4,87±0,95
	7	15,99±1,51	86,91±4,60	24,31±3,23	15,63±1,15*	3,97±0,73*
	10	18,69±1,33	76,56±4,51	15,78±3,80*	10,64±0,45*	3,00±0,69*
Ізадрин	0	16,35±1,22	97,98±3,16**	19,09±2,36**	8,35±0,91**	1,98±0,56**
	4	16,72±1,45	113,58±4,31***	22,62±2,81	16,51±0,86*	3,08±0,71
	7	17,88±1,20	88,68±2,70*	16,34±1,72**	5,70±0,93**	1,26±0,52**
	10	14,03±1,71**	96,32±5,18**	20,43±2,51	8,61±0,99	1,96±0,49
Анаприлін	0	21,43±1,63	73,25±3,53**	16,21±2,08**	8,72±1,00**	2,36±0,33**
	4	19,46±2,21	71,42±4,44	12,26±1,13**	5,40±0,29***	1,37±0,42**
	7	22,83±2,07**	59,76±4,21***	10,14±1,60***	4,86±0,51***	1,36±0,29***
	10	22,23±2,50	46,39±4,53***	7,75±1,55*	4,25±0,88**	1,34±0,35***

\*  $P < 0,05$  (порівняно з записом до введення препарату);

\*\*  $P < 0,05$  (порівняно з записом на відповідну добу птахів контрольної групи).

переважання повільних хвиль на ЕЕГ птахів [4, 11]. Порівняння електричної активності досліджуваних ділянок мозку свідчить, що в АЯ переважають частоти від 0 до 1,5 Гц, а в лобній ділянці — від 1 до 5 Гц.

Приймаючи, в основному, традиційний розподіл електричної активності на частотні діапазони, вважаємо за доцільне для зручності опису одержаних результатів поділити  $\delta$ -діапазон на дві частини і розширити його до 5 Гц. У першу частину, яку ми будемо називати  $\delta_1$ -діапазоном, виділяємо коливання з частотою від 0 до 1,27 Гц, а в другу частину ( $\delta_2$ -діапазон) — коливання з частотою від 1,27 до 5,18 Гц.

Значення спектральної потужності АЯ на кожному з діапазонів у птахів контрольної групи та птахів, які одержували ін'єкції ізадрину та анаприліну, дозволяють зробити висновок про майже повну відсутність достовірних змін в електричній активності АЯ гіпоталамуса птахів усіх експериментальних груп, записаній до введення препаратів (достовірно нижчою є лише спектральна потужність АЯ на  $\theta$ -діапазоні в групі, яка в подальшому отримувала анаприлін, порівняно з обома іншими експериментальними групами; див. табл. 1). Такий майже однаковий характер сумарної електричної активності АЯ гіпоталамуса особин усіх експериментальних груп, напевно свідчить про приблизно однакову функціональну активність вищевказаного ядра на початок експерименту.

В ході статевого дозрівання самців японських перепелів (приблизно з 4,5- до 6-тижневого віку) спостерігається підвищення спектральної потужності АЯ на  $\delta_1$ - і  $\delta_2$ -діапазонах в 1,5—2 рази. На інших частотних діапазонах спектральна потужність АЯ суттєво не змінюється (див. табл. 1).

При введенні  $\beta$ -адреноблокатора анаприліну темпи підвищення спектральної потужності АЯ уповільнюються порівняно з контрольною групою. При введенні ізадрину спектральна потужність АЯ підвищується відносно значення аналогічного показника птахів контрольної групи лише на  $\alpha$ -діапазоні, на інших діапазонах вірогідних відмінностей не спостерігається (див. табл. 1).

Записи електричної активності лобних ділянок переднього мозку, зроблені до введення препаратів, достовірно відрізняються між собою (див. табл. 1). Це, на нашу думку, унеможливує порівняння між собою записів ЕЕГ від цієї ділянки головного мозку, отриманих за одну й ту ж добу у птахів різних експериментальних груп. Після 10-добового введення ізадрину на  $\theta$ -,  $\alpha$ - і  $\beta$ -діапазонах спектральна потужність лобних ділянок переднього мозку не змінюється; на відміну від 10-добового введення фізіологічного розчину, коли спостерігається зменшення значення цього показника на вищевказаних діапазонах (див. табл. 1). Це може свідчити про певний активуючий вплив ізадрину і на цю ділянку головного мозку. При введенні анаприліну зміни спектральної потужності лобних ділянок переднього мозку на всіх діапазонах, за винятком  $\delta_2$ -, такі ж самі, як і при введенні фізіологічного розчину (див. табл. 1). А тому, можна говорити про відсутність впливу анаприліну на електричну активність лобних ділянок переднього мозку, або ж про дуже слабкий пригнічуючий вплив даного препарату.

Сповільненню темпів підвищення електричної активності АЯ при введенні анаприліну відповідає зменшення площі поперечного перерізу ядер

нейросекреторних клітин АЯ гіпоталамуса. Після 10-добового введення ізадрину спектральна потужність АЯ підвищується порівняно зі значеннями аналогічного показника птахів контрольної групи лише на  $\alpha$ -діапазоні (див. табл. 1). При цьому площа поперечного перерізу ядер нейросекреторних клітин цього ядра вірогідно не відрізняється від контролю (табл. 2).

**Таблиця 2. Морфологічні характеристики функціональної активності сім'яників та аркуатного ядра гіпоталамуса**

Схема досліду	Площа поперечного перерізу ядер, мкм <sup>2</sup>		Діаметр сім'яних каналців, мкм	Співвідношення сперматоцитів і сперматогоній
	клітин Лейдіга в сім'янику	нейросекреторних клітин аркуатного ядра гіпоталамуса		
Фізіологічний розчин	12,1±0,3	23,5±0,7	88±4	1/2,7
Ізадрин	11,6±0,3	22,6±0,8	52±2*	1/1,7
Анаприлін	11,2±0,4	20,4±0,7*	48±3*	1/2,9

\* P<0,05.

У сім'яниках при введенні ізадрину відбуваються різноспрямовані зміни морфометричних характеристик гонад, що не дає змоги зробити чіткий висновок про характер впливу цього препарату на дозрівання гіпоталамо-сім'яникового комплексу. При введенні анаприліну більшість морфометричних характеристик різних структур сім'яника не змінюються, хоча і є певна тенденція до їх зниження. Лише діаметр сім'яних каналців зменшується вірогідно. Це дає можливість говорити про слабкий пригнічуючий вплив анаприліну на дозрівання репродуктивної системи.

Отже, на основі вимірів сумарної електричної активності АЯ гіпоталамуса, морфометричного аналізу нейроцитів цього ядра та гонад можна зробити висновок, що активація  $\beta$ -адренорецепторів ізадрином не викликає помітного прискорення дозрівання репродуктивної системи. Блокада  $\beta$ -адренорецепторів анаприліном призводить до незначного сповільнення темпів дозрівання гіпоталамо-гонадного комплексу птахів.

**М. Е. Dzerzhinsky, A. N. Ptitz, I. M. Varenyuk**

**EFFECTS OF BETA-ADRENORECEPTORS STIMULATION AND BLOCKADE ON THE ELECTRICAL ACTIVITY OF HYPOTHALAMIC ARCUATE NUCLEUS AND GONADAL MORPHOPHYSIOLOGY IN BIRDS**

Beta-adrenoreceptors agonist isadrine as shown by measurement of hypothalamic arcuate nucleus (AN) summary electrical activity and by morphometry of its neurons and testis does not result in significant acceleration of maturation in maturing (4-6 week old) male japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). Anapryline-induced blockade of beta-adrenoreceptors leads to small inhibiting of the reproductive complex. This findings confirm our previous works, according to which brain

beta-adrenergic system does not play leading role in regulation of maturation in birds. The direct correlation between morphometrical and electrophysiological features of AN neurosecretory cells was demonstrated as well.

*Taras Shevchenko University, Kiev*

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Адамская Е.И., Бабичев В.Н.* Участие моноаминов гипоталамуса в регуляции секреции гонадотропинов // Проблемы эндокринологии. — 1984. — № 1. — С. 36–42.
2. *Бабичев В.Н.* Нейроэндокринная регуляция репродуктивной системы. — Пушино, 1995. — 226 с.
3. *Бабичев В.Н., Игнатков В.Я.* Изменение спонтанной активности нейронов аркуатной области гипоталамуса под влиянием норадреналина в различные стадии полового цикла у крыс // Физиол. журн. СССР. — 1975. — **61**, № 8. — С. 1160–1166.
4. *Баклаваджян О.Г., Погосян Н.Л., Аршакия А.В.* Исследование некоторых нейрорхимических механизмов влияния заднего гипоталамуса на электрическую активность больших полушарий переднего мозга и на вегетативные реакции у кур. // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. — 1993. — **29**, № 5-6. — С. 529–539.
5. *Дзержинський М.Е.* Нейроендокринна регуляція сезонного циклу розмноження птахів. — К.: Сільгоспосвіта, 1996. — 282 с.
6. *Дзержинський М.Е., Бузинська Н.О.* Значення катехоламінергічних систем мозку в регуляції функції статевої залози // Вісник Київ. ун-ту — 1995. — С. 83.
7. *Дзержинський М.Е., Пазюк Л.М., Гордієнко В.М., Бузинська Н.О., Воронін К.Ю.* Стимулюючий ефект катехоламінів та нонапептидів на функцію статевої та щитовидної залоз // Доп. НАН України. — 1997. — № 3. — С. 161–164.
8. *Доманский Е., Хомицка Л., Островская А.* Высвобождение лютропин-рилизинг-гормона,  $\beta$ -эндорфина и норадреналина ядерным инфундибуларисом и срединным бугорком в межовуляторный период у овец. — В кн.: Биологические основы высокой продуктивности с/х животных: Тез. докл. междунар. конференции, Боровск, 3–7 сент. 1990 г. — Ч.2. — Боровск, 1990. — С. 12–13.
9. *Серова Л.И., Науменко Е.В.* Зоосоциальное поведение и эндокринная функция гонад у самцов мышей после разрушения терминалей норадренергических нейронов головного мозга // Физиол. журн. СССР. — 1987. — № 7. — С. 876–882.
10. *Серова Л.И., Науменко Е.В.* Роль отдельных подтипов адрено- и дофаминовых рецепторов головного мозга в регуляции функции гипоталамо-гипофизарно-семенникового комплекса // Физиол. журн. — 1995. — № 1. — С. 19–23.
11. *Фролова Н.В.* Зміни електричної активності головного мозку голубів під впливом різних подразників // Фізіол. журн. АН УРСР. — 1962. — VIII, № 1. — С. 79–84.
12. *Balthazart J., F. Ball Gregory.* Effects of the nradrenergic neurotoxin DSP-4 on luteinizing hormone levels, catecholamine concentration  $\alpha_2$ -adrenergic receptor binding, and aromatase activity in the brain of the Japanese quail // Brain Res. — 1989. — № 1-2. — P. 163–175.
13. *Goodman R.L.* Functional organization of the catecholaminergic neural systems inhibiting luteinizing hormone secretion in anestrous ewes // Neuroendocrinology. — 1989. — **50**, № 4. — P. 406–412.
14. *Lopez F.J., Negro-Vilar A.* Galanin stimulates luteinizing hormone-releasing hormone secretion from arcuate nucleus — median eminence fragments in vitro: involvement of an  $\alpha$ -adrenergic mechanism // Endocrinology. — 1990. — **127**, № 5. — P. 2431–2435.

15. *Miranda-Contreras L., Mendoza-Briceno R.V., Palacios-Pru E.L.* Levels of monoamine and amino acid neurotransmitters in the developing male mouse hypothalamus and in histotypic hypothalamic cultures // *Int. J. Dev. Neurosci.* — 1998. — № 5. — P. 403–412.
16. *Moguileasky J.A., Arias P., Szwarcfarb B., Carbone S., Rondina D.* Sexual maturation modifies the catecholaminergic control of ovarian hormones on hypothalamic neurotransmitters in female rats // *Neuroendocrinology.* — 1990. — **52**, № 4. — P. 393–398.
17. *Nicholas E., Wallock L., Baker G.* In vitro LH release from the hypothalamus — pars tuberalis; effects of gonadotropin-releasing hormone (GnRH),  $\beta$ -endorphin and biogenic amines // *Endocrinol Res.* — 1987. — № 3. — P. 251–266.
18. *Ojeda S., Mc Cann S.* Evidence for participation of a catecholaminergic mechanism in the post-castration rise in plasma gonadotropins // *Neuroendocrinology.* — 1973. — **12**. — P. 295–315.
19. *Praczyk W.Z., Pau K.-Y. F., Kaynard A.H., Spies H.G.* Effects of substance P or noradrenaline administration on hypothalamic GnRH and pituitary gonadotropin secretion in conscious rabbits // *Acta Neurobiol. Exp.* — 1992. — № 3. — P. 194.
20. *Viguie C., Thibault J., Thiery J.C., Tillet Y., Malpoux B.* Photoperiodic modulation of monoamines and amino-acids involved in the control of prolactin and LH secretion in the ewe: evidence for a regulation of tyrosine hydroxylase activity // *J. Neuroendocrinology.* — 1996. — № 6. — P. 465–474.
21. *Weesner G.D., Bergen H.T., Pfaff D.W.* Differential regulation of luteinizing hormone-releasing hormone and galanin messenger ribonucleic acid levels by  $\alpha_1$ -adrenergic agents in the ovariectomized rat // *Ibid.* — 1992. — № 3. — P. 331–336.

*Київ. ун-т ім. Тараса Шевченка*

*Матеріал надійшов  
до редакції 25.02.99*