

**Andrzej Kowalski**  
KATECHOLAMINY I KORTYKOIDY JAKO WSKAŹNIKI STRESU  
I ADAPTACJI

Katedra Patofizjologii, Weterynarii Sądopwej i Administracji, Wydz.Med.  
Wet. UWM w Olsztynie,

Rola katecholamin i kortykoidów w warunkach wymagających zwiększonego wysiłku adaptacyjnego organizmu, w tym, podczas stresu, była stosunkowo wcześniej poznana. W połowie lat trzydziestych ubiegłego wieku Walter Cannon wykazał rolę adrenaliny w sytuacjach zagrożenia, strachu, walki i ucieczki. Po upływie roku, Hans Selye odkrył rolę kortykoidów w adaptacji organizmu do warunków obciążenia silnie działającymi czynnikami chemicznymi i fizycznymi. Odkrycia Cannona i Selyego zapoczątkowały rozwój nauki o adaptacji i stresie i stworzyły podwaliny pod współcześnie znane pojęcia stresu psychogennego (emocjonalnego, u ludzi psychologicznego) oraz stresu somatycznego (fizjologicznego). Cannon i Selye wykazali, że podczas stresu psychogennego uruchamiana jest oś współczulno rdzeniowo-nadnerczowa uwalniająca do krwi katecholaminy (adrenalinę i noradrenalinę), natomiast stres somatyczny jest powodem aktywacji osi podwzgórzowo-przysadkowo-korowonadnerczowej, czego końcowym efektem jest wydzielanie do krwi kortykoidów. Z chwilą poznania tych mechanizmów wskaźniki poziomu katecholamin (adrenaliny i noradrenaliny) oraz hormonów kory nadnerczy (w zależności od gatunku zwierzęcia - kortyzol u człowieka, świni, bydła oraz kortykosteron u drobiu i gryzoni) stały się jednymi z najważniejszych, niekwestionowanych wskaźników adaptacji i stresu u zwierząt. Szczególnie w ostrym przebiegu tych zjawisk i u najwyżej rozwiniętych gatunków, które odpowiednio wysoko rozwinęły układy regulacyjne, a tym samym swoje możliwości adaptacji do niekorzystnych czynników środowiskowych. Szereg badań udokumentowało ścisłą współzależność pomiędzy działaniem na organizm czynników o charakterze stresorów, a wzrostem koncentracji we krwi adrenaliny i noradrenaliny oraz glikokortykoidów. Zatem, poziom wymienionych hormonów świadczy o intensywności toczących się procesów przystosowawczych do wszelkich stymulacji zarówno środowiska zewnętrznego jak i wewnętrznego i jest monotoniczną funkcją nasilenia ich działania.

Zmiany zawartości katecholamin i hormonów steroidowych kory nadnerczy we krwi zależą od rodzaju stresora, czasu i siły jego działania oraz od własności psychofizycznych organizmu podlegającego takiemu działaniu. Dużą rolę odgrywa tutaj wrodzona, konstytucjonalna odporność na stres (lub inaczej, wrodzona stresowralność) oraz nabyte doświadczenia osobnicze zwierzęcia.

Na podstawie wielu prac eksperymentalnych stwierdzono, że wskaźniki zawartości we krwi katecholamin i kortykoidów podczas ostrych stymulacji nie budzą żadnych kontrowersji pod względem ich przydatności w "mierzeniu" natężenia procesów przystosowawczych lub stresowych. Jednak zastosowanie ich przy ocenie procesów adaptacyjnych w stresie przewlekłym lub przewlekłym przerywanym, może budzić pewne zastrzeżenia. Jak dotąd, nie ma zgody w tej ocenie. Badania wskazują, że podczas sytuacji stresu przewlekłego poziom katecholamin już po okresie 5-7 dni oscyluje wokół poziomu fizjologicznego z odchyłkami ok. 10-20%. Zawartość we krwi kortykoidów spada poniżej zwykłego poziomu. Zwykle jest niższa o ok. 10-30%, co budzi kontrowersje interpretacyjne. Trudno jest ocenić czy sytuacja, która doprowadza do takiego spadku jest sytuacją stresową czy powoduje pewne wycisze-

nie funkcji adaptacyjnych. Dzieje się tak np. u świń na stałe uwiązanych do stanowisk. Według niektórych badaczy spadek aktywności w syntezie kortyzolu świadczy o sytuacji stresu, w wyniku osłabienia dopływu stymulujących bodźców środowiskowych i braku ruchu. Inni twierdzą natomiast, że jest to wyrazem uspokojenia i komfortowej sytuacji zwierzęcia wynikającej z braku konkurencji i walki o "środki utrzymania" – dostępu do paszy, wody czy wygodnego legowiska. Stosowany przez Ladewiga i Rampacka test reakcji na egzogenny ACTH, po którego podaniu następuje nadmierny wyrzut kortyzolu u uwiązanych do stanowisk świń też budzi kontrowersje, bowiem test ten, zastosowany w podobnych warunkach u bydła, daje efekt odwrotny tzn. niską reakcję kory nadnerczy.

Podsumowując należy stwierdzić, że w przypadku umiarkowanego stresu przewlekłego, czy przewlekłego przerywanego, poziom kortykoidów nie zawsze jest dobrym wskaźnikiem tego stresu. Część badaczy sugeruje, jako bardziej właściwe, badanie poziomu gonadotropin, głównie LH, hormonów gonadowych lub zawartości białek ostrej fazy. Podwyższony poziom katecholamin i kortykoidów we krwi obwodowej specyficznie działa na komórki wielu narządów przestawiając ich metabolizm na wyższy poziom wydolności adaptacyjnej. Zatem hormony te są bezpośrednim wykonawcą reakcji psychofizjologicznych zachodzących na "wyższych piętrach regulacyjnych", centralnego układu nerwowego.

Mechanizmy ich uwalniania są różne. Po zadziałaniu stresora impulsy nerwowe doprowadzane są drogą aferentną (wstępującą) do mózgu, gdzie już na tym etapie podlegają analizie pod względem natężenia i charakteru. Zwłaszcza impulsy powstałe pod wpływem bodźców o bardziej skomplikowanej naturze np. bodźce zmysłowe. W zależności od ich siły i rodzaju mogą ulegać supresji lub powodować reakcję neurohormonalną. W analizie tych impulsów bierze udział układ hipokamp - ciało migdałowate. Obydwie te struktury należą do układu limbicznego. Hipokamp kontroluje i moduluje pobudzenia o charakterze zmysłowym kory mózgowej, natomiast ciało migdałowate powoduje supresję bodźców lub ich całkowite "lekceważenie" na podstawie wcześniejszych doświadczeń i typu prezentowanego behawioru. Ciało migdałowate jest więc tą strukturą (drogi aferentnej), która powoduje przyzwyczajenie do danego bodźca, obniża pobudzenie i obniża lub blokuje reakcję stresową. Oznacza to, że po jednej (stres uwiązania), kilku lub kilkunastu godzinach (lub dniach) stres chroniczny przestaje wywoływać reakcję hormonalną i poziom kortykoidów powraca do normy. Z badań własnych wynika, że poziom katecholamin podlega podobnej tendencji. Oś hipokamp - ciało migdałowate - kora mózgowa jest pobudzana przez wiele bodźców o charakterze wyższym, aktywujących psychikę - i jak podkreślono - należy do drogi aferentnej. Inne, proste bodźce nie są analizowane w ten sposób. Proste fizyczne stymulacje (np. bodźce bólowe) mają bezpośrednie wejście do podwzgórza, gdzie powodują szybką reakcję neurohormonalną. Kora mózgowa jest niejako tylko informowana o sytuacji bólu. Pętla aferentno-eferentna jest więc w takim przypadku krótka i stosunkowo prosta, a pełna analiza nerwowa jest odcięta. Zwykle reakcja adaptacyjna przebiega wtedy torem stresu somatycznego lub prostej reakcji homeostatycznej, w zależności od natężenia dochodzących impulsów nerwowych.

Odpowiedź adaptacyjna i pobudzenie odpowiednich osi uruchamiających katecholaminy i kortykoidy dokonuje się w oparciu o reakcję warunkowaną genetycznie i doświadczenie życiowe zwierzęcia. Wpływa to na wartości niemal wszystkich wskaźników hormonalnych, w tym na poziom katecholamin i kortykoidów. Jako przykład może służyć koncepcja powstawania chorób psychosomatycznych, która w

pełni uwzględnia rodzaj reakcji neurofizjologicznej w zależności od zaangażowania odpowiednich struktur mózgu odpowiedzialnych za dany typ behawioru.

Niewiele przypadków "czystych" reakcji stresowych, psychogennych (uwalniających katecholaminy) lub somatycznych (wyzwalających glikokortykoidy), zgodnie z klasycznym podziałem tych reakcji, notuje się zarówno u zwierząt jak i u ludzi. Zwykle mamy do czynienia tylko z pewną przewagą aktywacji jednego z dwóch wspomnianych układów regulacyjnych lub pobudzeniem obydwu. W pewnych sytuacjach, zwłaszcza w warunkach stresu ostrego, początkowo następuje pobudzenie układu współczulno-rdzeniowo nadnerczowego z wyrzutem katecholamin zapewniających najszybszy sposób zwiększenia puli związków wysokoenergetycznych (glukozy) we krwi, a następnie aktywacja układu podwzgórzowo-przysadkowo-korowo-nadnerczowego, z wyrzutem glikokortykoidów, przedłużających dostęp do związków wysokoenergetycznych w postaci glicerolu i kwasów tłuszczowych. Takie, kolejne uruchamianie różnych osi stresowych zapewnia znacznie większą „wydajność” adaptacyjną organizmu, ponieważ katecholaminy nie mogą działać długo, a zapasy cukru też stosunkowo szybko wyczerpują się. Dlatego następne uruchomienie osi somatycznej dostarczającej energii w postaci kwasów tłuszczowych bardzo przedłuża (nawet o wiele dni) możliwości adaptacyjne organizmu. W ostatnich latach takie uwarunkowania regulacyjne o szczególnym znaczeniu dla odpowiedzi adaptacyjnej (stresowej) przypisuje się ośrodkowemu i autonomicznemu układowi nerwowemu.

Według wielu autorów zaangażowanie psychiki stymulującej układ współczulny, stymulujący rdzeń nadnerczy (adrenalina i noradrenalina) jest niezbędne do pełnej reakcji stresowej. Poziomy katecholamin i kortykoidów, pomimo uruchomienia innych osi neurohormonalnych, mogą być dobrymi i czułymi wskaźnikami, komplementarnie uzupełniającymi się, a ich wartości mogą wskazywać na ewentualny rodzaj bodźca powodującego odpowiedź stresową. Okazało się, że w pewnych określonych, powtarzających się sytuacjach, można spotkać zjawisko substytucji i uzupełniania się pomiędzy wskaźnikami zawartości katecholamin i kortykoidów, co wzmacnia ich wartość diagnostyczną w badaniach stresu i adaptacji.

Przykładem może być sytuacja, podczas której zwierzę umieszczone w komorze i stopniowo obniżano temperaturę zewnętrzną, zareagowało wzrostem glikokortykoidów (stres somatyczny). Ponowne zetknięcie z tymi samymi warunkami doświadczalnym spowodowało u zwierzęcia wyrzut do krwi katecholamin (stres emocjonalny), bowiem zwierzę zapamiętało i zakwalifikowało tę sytuację jako silnie dyskomfortową.

Hormony katecholowe są 3,4-dihydroksy-pochodnymi fenyletyloaminy. Należy do nich adrenalina noradrenalina i dopamina. Katecholaminy są syntetyzowane w komórkach chromochłonnych rdzenia nadnerczy. Skupiska tych komórek znajdują się również w sercu, wątrobie, nerkach, gonadach, neuronach adrenergicznych zwojowego układu współczulnego oraz w ośrodkowym układzie nerwowym.

Głównym produktem nadnerczy jest adrenalina, która stanowi 80% wszystkich katecholamin w rdzeniu. Nie jest ona syntetyzowana w innych tkankach poza rdzeniem. W odróżnieniu od adrenaliny większość noradrenaliny zawarta w narządach mających unerwienie współczulne syntetyzowana jest in situ - ok. 80% całej zawartości. Pozostała jej ilość jest w innych zakończeniach nerwowych skąd dociera do komórek docelowych drogą krwi.

Katecholaminy nie przekraczają bariery krew-mózg, to oznacza, że w mózgu są wytwarzane na miejscu, chociaż niektóre metabolity jak np. L-dopa, która jest sto-

sowana jako lek w chorobie Parkinsona (polegającej na miejscowych niedoborach dopaminy), barierę tę przekracza.

Katecholaminy są magazynowane w ziarnistościach chromochłonnych, do których wchodzi ATP-zależnym mechanizmem transportowym i wiążą ten nukleotyd w stosunku 4:1. Noradrenalina magazynowana w tych ziarnistościach może je opuścić by ulec N-metylacji do adrenaliny i wejść do nowej puli ziarnistości.

Pobudzenie nerwów rdzenia nadnerczy powoduje zlanie się błon ziarnistości zapasowych z błoną plazmatyczną, co jest przyczyną egzocytozy i tym samym powoduje uwolnienie noradrenaliny i adrenaliny. Proces ten jest zależny od jonów Ca, i jak większość zjawisk związanych z egzocytozą, jest pobudzany przez związki cholinergiczne i b-adrenergiczne, natomiast hamowany przez związki  $\alpha$ -adrenergiczne.

Katecholaminy są eliminowane różnymi drogami poprzez:

1. wychwyt neuronalny do aksoplazmy zakończenia adrenergicznego opierający się na transporcie aktywnym przy współdziałaniu jonów  $Mg^{++}$ .
2. wychwyt pozaneuronalny polegający na tym, że adrenalina i noradrenalina jest pobierana przez elementy pozanerwowe takie jak mięsień sercowy, błona mięśniowa naczyń krwionośnych, śledziona, komórki tkanki łącznej i inne
3. unieczynnienie w przestrzeni międzykomórkowej przez enzym metylujący - metylotransferazę katecholową (COMT)
4. przez dyfuzję z przestrzeni międzykomórkowej do krwi i dalszemu unieczynnieniu w innych narządach.

Okres półtrwania katecholamin we krwi jest krótki - 10-30 sekund. We krwi krążą jako luźno związane z albuminami.

Rozkład katecholamin

Ogólnie można stwierdzić, że tylko 5% adrenaliny jest wydalane z moczem. Reszta ulega szybkiej przemianie pod wpływem O-metylotransferazy katecholowej (COMT) i oksydazy monoaminowej (MAO). W wyniku działania tych enzymów powstają nieaktywne O-metylowane produkty dezaminacji - kwas dihydroksymigdałowy, metanefryna (z adrenaliny), normetanefryna (z noradrenaliny), i z obydwu tych związków końcowo kwas wanilino migdałowy.

Wydzielanie i synteza katecholamin jest zależna od pobudzenia pnia i nerwów współczulnych, których włókna przedzwojowe docierają do rdzenia nadnerczy. Stymulacja ta jest zależna od podwzgórza i pnia mózgu, chociaż nie znana jest pętla sprzężenia zwrotnego.

Katecholaminy działają na dwa rodzaje receptorów alfa i beta. Noradrenalina pobudza receptory alfa zaś adrenalina obydwaj rodzaje tych receptorów z preferencją do receptorów beta.

Skutki fizjologiczne stymulacji receptorów adrenergicznych

Receptor  $\alpha_1$  - wzrost glikogenolizy, skurcz mięśni gładkich naczyń krwionośnych i dróg moczowo-płciowych.

Receptor  $\alpha_2$  - rozkurcz mięśni gładkich żołądka i jelit, skurcz mięśni gładkich niektórych łożysk naczyniowych,

Hamowanie: lipolizy, uwalniania reniny, agregacji płytek, sekrecji insuliny

Receptor  $\beta_1$  - stymulacja lipolizy, wzrost liczby i siły skurczu mięśnia sercowego

Receptor  $\beta_2$  - wzrost glukoneogenezy w wątrobie, wzrost glikogenolizy w wątrobie i w mięśniach, wzrost uwalniania insuliny, glukagonu, reniny, rozkurcz mięśni gładkich oskrzeli, naczyń, dróg moczowo-płciowych, żołądka i jelit.

Mechanizm syntezy i uwalniania kortykoidów jest inny. Pobudzenie podwzgórza przez dochodzące do niego impulsy nerwowe z innych regionów mózgu, lub w przypadku prostych pobudeń fizycznych w sposób bezpośredni, powodują synte-

zę i wydzielanie z jądra przykomorowego peptydu CRH (kortykoliberyny), który poprzez układ wrotny przysadkowo podwzgórzowy dostaje się do części gruczołowej przysadki. Tutaj, powoduje on ekspresję genu POMC, który generuje syntezę proopiomelanokortyny. Ta z kolei po odpowiednich przekształceniach enzymatycznych daje całą rodzinę peptydów, z których oprócz innych ważnych biologicznie ciał takich jak  $\beta$ -LPH,  $\alpha$ -MSH, oraz endorfiny, powstaje ACTH (hormon adrenokortykotropowy). Hormon ten drogą krwi dociera do kory nadnerczy wiążąc się z ze swoim śródkomórkowym receptorem, po czym kompleks ten wiąże się z odpowiednimi odcinkami DNA indukując ekspresję genową prowadzącą do syntezy z cholesterolu wielu związków steroidowych, z których najważniejszymi w zależności od gatunku są kortyzol i kortykosteron spośród glikokortykoidów i aldosteron i dezoksykortykosteron z mineralokortykoidów. Glikokortykoidy produkowane są w warstwie pasmowatej (*zona fascicularis*) i siatkowatej (*zona reticularis*).

Ich działanie odbywa się poprzez:

1. wzrost wytwarzania glukozy w wątrobie spowodowany zwiększeniem napływu aminokwasów (substratów neoglukogenetycznych) z tkanek obwodowych, wzrost glukoneogenezy uwarunkowany aktywacją kluczowych enzymów tego procesu
2. wzrost odkładania się glikogenu w wątrobie przez aktywację syntetazy glikogenowej
3. wzrost lipolizy
4. stymulację przemiany białek i RNA - przy stężeniach fizjologicznych - działanie anaboliczne, przy stresowych - kataboliczne.
5. hamowanie wychwytu pozaneuronalnego katecholamin. co pozwala na ich dłuższy pobyt we krwi podczas stresu.

Działanie na odporność:

1. redukcję reakcji immunologicznych wyrażającą się rozpadem limfocytów.
2. supresję reakcji zapalnych poprzez zmniejszenie liczby krążących leukocytów i migracji leukocytów tkankowych, hamowanie proliferacji fibroblastów, stymulację lipokortyn, które hamują fosfolipazę A2 zmniejszającą syntezę prostaglandyn i leukotrien.

Inne działania kortykoidów są następujące:

1. utrzymują prawidłowe ciśnienie tętnicze krwi oraz prawidłową objętość minutową serca,
2. są niezbędne do utrzymania równowagi elektrolitowej.
3. są niezbędne w reakcji na stres.

Degradacja kortykoidów odbywa się w wątrobie, gdzie docierają nie tylko wolne lub związane hormony lecz ich metabolity dihydro i tetrahydro. Związki te tworzą rozpuszczalne w wodzie koniugaty z kwasem glukuronowym i w mniejszym stopniu z siarkowym. Większość koniugatów wydalane jest z żółcią do światła jelita skąd jest ponownie wchłaniane do wątroby tworząc tzw. krążenie wątrobowo-jelitowe. Ok. 70% koniugatów wydalane jest z moczem, 20% z kałem i ok. 10% przez skórę.

Poziom katecholamin we krwi, nawet w warunkach fizjologicznych, nie jest stały. Zależy od struktury psychofizjologicznej, warunków egzystencji i sytuacji zewnętrznej. Np. u ludzi pozycja leżąca powoduje, że poziom tych hormonów jest dwukrotnie niższy od poziomu u człowieka stojącego. U zwierząt, w zależności od ich gatunku, podczas spoczynku, we krwi znajduje się od kilku do kilkunastu nmol/l. Podczas stresu ostrego wartości te są wielokrotnie wyższe. Natomiast w tkankach zawartość katecholamin jest również zróżnicowana, w zależności od ich rodzaju i jest wyższa nawet tysiąckrotnie w porównaniu do zawartości we krwi obwodowej.

Poziom kortykoidów wykazuje zmienność nie tylko w zależności od wyżej wymienionych warunków, gatunku zwierząt, ale podlega regulacji szyszynkowej i tym samym rytmowi dobowemu. W sytuacji fizjologicznej najwyższy ich poziom przypada na godziny ranne, zaś najniższy na popołudniowo-wieczorne. Fakt ten jest niezwykle ważnym czynnikiem przy planowaniu doświadczeń z oznaczaniem kortykoidów, bowiem wskazuje, że przy określaniu zmian poziomu tych hormonów w dłuższym czasie należy przestrzegać tych samych pór zbierania próbek krwi. Zwykle dokonuje się tego w godzinach rannych i przedpołudniowych, kiedy reaktywność przysadki na kortykoliberynę i kory nadnerczy na ACTH jest wysoka. Tylko nieliczni autorzy wskazują na celowość wykonywania badań nad stresem w godzinach popołudniowych twierdząc, że odpowiedź kortykoidowa jest znacznie wyższa w tym czasie niż o innej porze doby, zwłaszcza w warunkach stresu chronicznego. W istocie, dotyczy to tylko symulacji warunków stresu wytwarzanego za pomocą egzogennej ACTH (test Rampaceka). W badaniach stresu występującego naturalnie w godzinach popołudniowych, a zwłaszcza wieczornych aktywność kortykoliberynowa podwzgorza szybko spada, co pociąga za sobą wiadome reperkusje fizjologiczne sprowadzające się do dużego spadku kortykoidów we krwi.

Różnice w zawartości katecholamin i kortykoidów we krwi w sytuacji fizjologicznej i w warunkach zwiększonego wysiłku adaptacyjnego są różne i łatwe do wychwycenia, stąd poziomy tych hormonów są dobrymi wskaźnikami adaptacyjnymi. Jednak żeby można było je prawidłowo „mierzyć” i oceniać niezbędna jest odpowiednia technika pobierania krwi w celu ich oznaczenia. Podstawowa zaleta tych wskaźników - czułość na stres w tym wypadku jest zasadniczą wadą, bowiem zabieg pobierania krwi zarówno u zwierząt jak i u ludzi jest stresogenny i w zależności od sytuacji powoduje gwałtowny wzrost katecholamin (u ludzi) lub katecholamin i kortykoidów u zwierząt. Zdaniem autora, do uchwycenia aktualnego poziomu katecholamin i kortykoidów, w warunkach terenowych, najlepszą przydatność wykazała opracowana na świniami własna metoda pobierania krwi. Polega ona na uchwyceniu zwierzęcia, wkłuciu się do naczynia żylnego i załusowaniu odpowiedniej objętości próbki w czasie nie przekraczającym 22 sek. w przypadku katecholamin i 45 sek. w przypadku kortykoidów, licząc jego upływ od chwili pierwszego kontaktu ze zwierzęciem. Wiele testów potwierdziło przydatność tej metody w ocenie nasilenia stresu na podstawie wskaźników zawartości adrenaliny, noradrenaliny i kortyzolu lub kortykosteronu (w zależności od gatunku) u zwierząt w autentycznych warunkach terenowych, a więc tam, skąd uzyskane wyniki mają największą - zdaniem autora - wartość w badaniach nad stresem u zwierząt gospodarskich.