

РОЗВИТОК ОКСИДАТИВНИХ ПРОЦЕСІВ У СЕРЦІ ЩУРІВ У ПРОЦЕСІ РОЗВИТКУ ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ

Вступ. В останні місяці, у зв'язку з війною на території України, значно зросла кількість людей, які тривалий час перебували в малорухомому положенні й у стресовому стані. Провідною ланкою виникнення будь-якої патології залишається розвиток оксидативного стресу, що впливає на появу порушень серцево-судинної системи.

Мета дослідження – оцінити розвиток оксидативного стресу в гомогенаті серця щурів при розвитку імобілізаційного стресу.

Методи дослідження. Досліди виконано на 60 безпородних щурах-самцях масою 180–210 г. Тварин поділили на 5 груп: контроль, стрес 1 добу, стрес 2 доби, стрес 3 доби, стрес 4 доби. Стрес моделювали шляхом одноденної імобілізації щурів спинкою донизу. Дослідження тварин у кожній групі проводили в контролі, через 1 добу після останньої імобілізації. Під тіопентал-натрієвим наркозом здійснювали забір серця, в гомогенаті якого визначали вміст дієнових кон'югатів, ТБК-активних продуктів, супероксиддисмутазу і каталазу активність.

Результати й обговорення. У щурів-самців через 1 добу після одноразового епізоду стресу, порівняно з контролем, відмічено підвищення концентрації дієнових кон'югатів на 41,4 % ($p < 0,001$), ТБК-активних продуктів – на 21,1 % ($p < 0,01$), зростання супероксиддисмутазної активності на 38,5 % ($p < 0,001$), каталазної – на 68,5 % ($p < 0,001$). Збільшення вмісту дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів спостерігали через 2 і 3 доби стресу, але показники знижувалися після 4 імобілізацій. Зростання супероксиддисмутазної і каталазної активності відзначено через 2 доби стресу, але показники зменшувалися через 3 доби, збільшувалися через 4 доби порівняно з попереднім терміном.

Висновки. Розвиток оксидативного стресу в серці щурів при імобілізаційному стресі залежить від кількості стресових епізодів. При триразових одноденних імобілізаціях у щурів-самців розвивається дистрес, при одно- і дворазових – еустрес.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пероксидне окиснення ліпідів; антиоксидантна система; серце; імобілізаційний стрес; щури-самці.

ВСТУП. Стрес – це процес, який підвищує адаптаційні можливості людини і призводить до психологічних та біологічних змін [1]. Він буває короткочасним гострим і тривалим хронічним. Збільшення тривалості стресу, сили дії стресорів може викликати дистрес, який може бути потенційним ризиком розвитку захворювань. Стрес є значним фактором ризику розвитку різних захворювань, таких, як артеріальна гіпертензія, ішемічна хвороба серця, інфаркт, зупинка серця, інсульт, психічні розлади, зокрема депресія та тривога, і навіть раптової смерті [2].

Кожен із нас індивідуально реагує на однаковий стрес. Індивідуальна реакція на стрес може залежати від віку, статі, особливостей вегетативної регуляції, стану центральної нервової

© О. В. Денефіль, Т. Я. Ярошенко, 2022.

та ендокринної систем, вищої нервової діяльності тощо [3]. Стрес є невід'ємною частиною нашого життя [4]. Це може призвести як до адаптації, так і до її порушення, розвитку різноманітних захворювань [5]. При надмірному стресі порушується робота внутрішніх органів, зокрема серцево-судинної системи [6]. Гіподинамія, брак часу на роботу, безробіття призводять до розвитку дистресу. Під час стресу відзначають активацію симпатоадреналової системи з підвищенням частоти серцевих скорочень, розвитком гіпоксії, активацією вільнорадикального окиснення ліпідів. Тому вивчення механізмів ушкодження серця є актуальним.

Мета дослідження – оцінити розвиток оксидативного стресу в гомогенаті серця щурів при розвитку імобілізаційного стресу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 60 безпородних щурах-самцях масою 180–210 г. Тварин поділили на 5 груп: контроль, стрес 1 добу, стрес 2 доби, стрес 3 доби, стрес 4 доби. Щурів утримували на стандартному харчовому раціоні віварію протягом усього періоду та з вільним доступом до води для пиття. Тваринам 2–5 груп моделювали стрес шляхом одноденної іммобілізації щурів спинкою донизу [7]. У 2-й групі стрес моделювали одноразово, у 3-й – двічі (інтервал між першою і другою іммобілізаціями становив 24 год), у 4-й – тричі (інтервал між іммобілізаціями також становив 24 год).

Усі експерименти проводили в першій половині дня в спеціально відведеному приміщенні при температурі 18–22 °С, відносній вологості 40–60 % і освітленості 250 лк. Досліди виконано з дотриманням норм Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) і наказу МОЗ України від 23.09.2009 р. № 690.

Евтаназію щурів у кожній групі проводили через 24 год після останньої іммобілізації шляхом тотального кровопускання із серця після попереднього використання тіопентал-натрієвого наркозу (60 мг·кг⁻¹ маси тіла тварини внутрішньочеревно). За загальноприйнятими методиками в гомогенаті серця визначали рівень продуктів пероксидного окиснення ліпідів за вмістом дієнових кон'югатів (ДК), ТБК-активних продуктів (ТБК-ап) та активність антиоксидантної системи, зокрема супероксиддисмутазу (СОД) і каталазу [8].

Статистичну обробку цифрових даних виконано за допомогою програмного забезпечення STATISTICA 8.0 ("Statsoft", США). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою непараметричних методів. Зміни вважали достовірними при $p \leq 0,05$. Відмінності між величинами вважали достовірними за вірогідності альтернативної гіпотези не менше ніж 0,95.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У щурів-самців через 1 добу після одноразового епізоду стресу, порівняно з контролем, відмічено підвищення концентрації ДК на 41,4 % ($p < 0,001$), ТБК-ап – на 21,1 % ($p < 0,01$) (табл. 1).

Через 1 добу після дводенної іммобілізації, порівняно з контролем, відмічено подальше зростання концентрації ДК на 86,7 % ($p < 0,001$), ТБК-ап – на 87,6 % ($p < 0,001$). Порівняно з одноразовою іммобілізацією відзначено достовірне збільшення вмісту ДК на 32,0 % ($p < 0,002$), а ТБК-ап – на 54,9 % ($p < 0,001$).

Через 1 добу після триразової іммобілізації, порівняно з контролем, відмічено подальше зростання концентрації ДК у 2,7 раза ($p < 0,001$), ТБК-ап – у 2,3 раза ($p < 0,001$). Порівняно з одноразовою іммобілізацією відзначено достовірне збільшення вмісту ДК на 87,9 % ($p < 0,001$), ТБК-ап – на 88,1 % ($p < 0,001$). Порівняно з дводенною іммобілізацією спостерігали достовірне підвищення рівня ДК на 42,3 % ($p < 0,001$), ТБК-ап – на 21,4 % ($p < 0,01$).

Через 1 добу після чотириразової іммобілізації, порівняно з триразовою, мало місце зниження показників пероксидного окиснення ліпідів: ДК – на 79,5 % ($p < 0,001$), ТБК-ап – на 83,4 % ($p < 0,001$). Порівняно з контролем відмічено більші значення ДК на 48,1 % ($p < 0,001$), ТБК-ап – на 24,2 % ($p < 0,01$). Порівняно з одноразовою іммобілізацією не відзначено достовірної різниці ні вмісту ДК, ні рівня ТБК-ап. Порівняно з дводенною іммобілізацією спостерігали достовірно менші значення ДК на 26,1 % ($p < 0,01$), ТБК-ап – на 51,0 % ($p < 0,001$).

Відмічено зміни й активності ензимної ланки антиоксидантів у динаміці спостереження за щурами при розвитку іммобілізаційного стресу (табл. 2).

У щурів-самців через 1 добу після одноразового епізоду стресу, порівняно з контролем, відзначено зростання СОД активності на 38,5 % ($p < 0,001$), каталазої – на 68,5 % ($p < 0,001$).

Через 1 добу після дводенної іммобілізації, порівняно з контролем, відмічено подальше зростання СОД активності в 1,3 раза ($p < 0,001$),

Таблиця 1 – Зміни вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів у гомогенаті серця щурів при іммобілізаційному стресі ($M \pm \sigma$)

Показник	Група тварин				
	контроль (n=12)	стрес			
		1 доба (n=12)	2 доби (n=12)	3 доби (n=12)	4 доби (n=12)
ДК, ум. од./г	1,81±0,19	2,56±0,24*	3,38±0,32**	4,81±0,38***	2,68±0,24****
ТБК-ап, мкмоль/кг	1,94±0,15	2,35±0,21*	3,64±0,29**	4,42±0,41***	2,41±0,22****

Примітка. Тут і в таблиці 2: * – різниця достовірна порівняно з контролем; ** – різниця достовірна порівняно з 1 добою; *** – різниця достовірна порівняно з 2 добами; **** – різниця достовірна порівняно з 3 добами після стресу.

Таблиця 2 – Зміни активності антиоксидантів у гомогенаті серця щурів при іммобілізаційному стресі (M±σ)

Показник	Група тварин				
	контроль (n=12)	стрес			
		1 доба (n=12)	2 доби (n=12)	3 доби (n=12)	4 доби (n=12)
СОД активність, ум. од./мг	0,96±0,07	1,33±0,09*	1,21±0,11*	0,61±0,04***,****	0,78±0,05***,****,*****
Каталазна активність, мкат/кг	0,54±0,04	0,91±0,06*	1,27±0,11***	0,37±0,02***,****	0,45±0,02***,****,*****

каталазної – у 2,3 раза ($p < 0,001$). Порівняно з одноразовою іммобілізацією відзначено достовірне підвищення каталазної активності на 39,6 % ($p < 0,001$), а СОД активність не змінювалася.

Через 1 добу після триразової іммобілізації, порівняно з контролем, відмічено зменшення активності антиоксидантів: СОД активності – на 57,4 % ($p < 0,001$), каталазної – на 45,9 % ($p < 0,001$). Порівняно з одноразовою іммобілізацією спостерігали достовірно нижчі показники СОД активності у 2,2 раза ($p < 0,001$), каталазної – у 2,5 раза ($p < 0,001$). Порівняно з дводенною іммобілізацією відзначено достовірно менші значення СОД активності на 98,3 % ($p < 0,001$), каталазної – у 3,4 раза ($p < 0,001$).

Через 1 добу після чотириразової іммобілізації, порівняно з триразовою, спостерігали зростання антиоксидантної активності: СОД активності – на 27,9 % ($p < 0,01$), каталазної – на 21,6 % ($p < 0,01$). Порівняно з контролем відмічено менші значення СОД активності на 23,1 % ($p < 0,01$), каталазної – на 20,0 % ($p < 0,01$). Порівняно з одноразовою іммобілізацією СОД активність була на 70,5 % ($p < 0,001$), каталазна – у 2,0 рази ($p < 0,001$) нижчою. Порівняно з дводенною іммобілізацією відзначено достовірно менші значення СОД активності на 55,1 % ($p < 0,001$), каталазної – у 2,8 раза ($p < 0,001$).

Для аналізу отриманих результатів ми побудували графік змін показників (рис.). Через 1 добу одноразового іммобілізаційного стресу відмічено зростання рівня як прооксидантів, так і антиоксидантів, причому останні переважали. Такі результати вказують на розвиток еустресу, що не призводить до хвороб. Через 1 добу після дводенної іммобілізації відзначено підвищення вмісту як прооксидантів, так і антиоксидантів, але тільки каталазної активності, а СОД активність не змінювалася. Такі результати також свідчать про розвиток еустресу, оскільки каталазна активність переважала збільшення вмісту ДК і ТБК-ап. Через 1 добу після триразової іммобілізації рівень прооксидантів значно перевищував антиоксидантну активність. Такі результати вказують на розвиток дистресу, що може спричинити появу хвороб, у наших дослідженнях – серцево-судинну патологію. Через 1 добу після чотириразової іммобілізації відмічено зменшення вмісту прооксидантів і зростання активності антиоксидантів. Можна думати про розвиток адаптації щурів до цієї моделі іммобілізаційного стресу, але така гіпотеза потребує подальшого дослідження.

Отримані дані вказують на найбільше ушкодження серця при триразовій одноденній іммобілізації та узгоджуються з результатами інших авторів [9, 10].

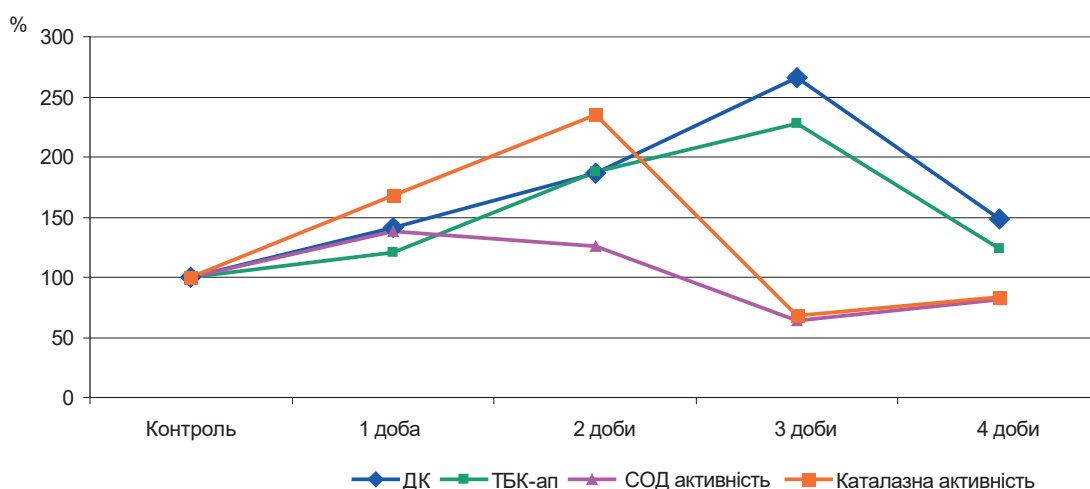


Рис. Зміни показників оксидативних процесів у щурів, які зазнали іммобілізаційного стресу.

ВИСНОВКИ. Розвиток оксидативного стресу в серці щурів при іммобілізаційному стресі залежить від кількості стресових епізодів. При три-

разових одноденних іммобілізаціях у щурів-самців розвивається дистрес, при одно- і дворазових – еустрес.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Stress analysis based on simultaneous heart rate variability and EEG monitoring / E. T. Attar, V. Balasubramanian, E. Subasi, M. Kaya // *IEEE J. Transl. Eng. Health Med.* – 2021. – No 9. – 2700607.
2. Duman R. S. Neurobiology of stress depression and rapid acting antidepressants: Remodeling synaptic connections / R. S. Duman // *Depression Anxiety.* – 2014. – **31**, No 4. – P. 291–296.
3. Crea F. Sex differences in mechanisms, presentation and management of ischaemic heart disease / F. Crea, I. Battipaglia, F. Andreotti // *Atherosclerosis.* – 2015. – **241**, No. 1. – P. 157–168.
4. Kötter T. Resource-oriented coaching for reduction of examination-related stress in medical students: an exploratory randomized controlled trial / T. Kötter, F. Niebuhr // *Adv. Med. Educ. Pract.* – 2016. – No. 7. – P. 497–504.
5. Expressive flexibility in combat veterans with posttraumatic stress disorder and depression / R. Rodin, G. A. Bonanno, N. Rahman [et al.] // *J. Affect. Disord.* – 2016. – **207**. – P. 236–241.
6. Angina and mental stress-induced myocardial ischemia / P. Pimple, A. J. Shah, C. Rooks [et al.] // *J. Psychosom. Res.* – 2015. – **78**, No. 5. – P. 433–437.

7. Ординський Ю. М. Зміни біохімічних показників і функціональної активності серця високо- і низькостійких до гострої гіпоксичної гіпоксії щурів різної статі при іммобілізаційному стресі / Ю. М. Ординський, О. В. Денефіль // *Мед. та клініч. хімія.* – 2018. – **20**, № 3 (76). – С. 138–144.

8. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / [В. В. Влізла, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін.] ; за ред. В. В. Влізла. – Львів : Сполом, 2012. – 764 с.

9. C₆₀ Fullerene prevents restraint stress-induced oxidative disorders in rat tissues: Possible involvement of the Nrf2/ARE-antioxidant pathway / O. O. Gonchar, A. V. Maznychenko, N. V. Bulgakova [et al.] // *Oxid. Med. Cell Longev.* – 2018. – No. 13. – P. 2518676.

10. C₆₀ Fullerene reduces 3-nitropropionic acid-induced oxidative stress disorders and mitochondrial dysfunction in rats by modulation of p53, Bcl-2 and Nrf2 targeted proteins / O. O. Gonchar, A. V. Maznychenko, O. M. Klyuchko [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – **22**, No. 11. – P. 5444.

REFERENCES

1. Attar, E.T., Balasubramanian V., Subasi E. & Kaya M. (2021). Stress Analysis Based on Simultaneous Heart Rate Variability and EEG Monitoring. *IEEE J. Transl. Eng. Health Med.*, 9, 2700607.
2. Duman, R.S. (2014). Neurobiology of stress depression and rapid acting antidepressants: Remodeling synaptic connections. *Depression Anxiety*, 31, 4, 291-296.
3. Crea, F., Battipaglia, I., & Andreotti, F. (2015). Sex differences in mechanisms, presentation and management of ischaemic heart disease. *Atherosclerosis*, 241 (1), 157-168.
4. Kötter, T. & Niebuhr, F. (2016). Resource-oriented coaching for reduction of examination-related stress in medical students: an exploratory randomized controlled trial. *Adv. Med. Educ. Pract.*, 7, 497-504.
5. Rodin, R., Bonanno, G.A., & Rahman, N. (2016). Expressive flexibility in combat veterans with posttraumatic stress disorder and depression. *J. Affect. Disord.*, 207, 236-241.
6. Pimple, P., Shah, A.J., & Rooks, C. (2015). Angina and mental stress-induced myocardial ischemia. *J. Psychosom. Res.*, 78(5), 433-437.

7. Ordynskiy, Iu.M., Denefil, O.V. (2018). Changes of biochemical indexes and functional activity of heart of high and low-resistance to acute hypoxic hypoxia in rats of different sex in immobilizational stress. *Medical and Clinical Chemistry*, 20 (3), 138-144 [in Ukrainian].

8. Vlizlo, V.V., Fedoruk, R.S., Ratych, I.B. (2012). *Laboratory research methods in biology, animal husbandry and veterinary medicine: a handbook*. Lviv: Spolom [in Ukrainian].

9. Gonchar, O.O., Maznychenko, A.V., Bulgakova, N.V. (2018). C₆₀ Fullerene prevents restraint stress-induced oxidative disorders in rat tissues: Possible involvement of the Nrf2/ARE-antioxidant pathway. *Oxid. Med. Cell Longev.*, 13, 2518676.

10. Gonchar, O.O., Maznychenko, A.V., Klyuchko, O.M. (2021). C₆₀ Fullerene reduces 3-nitropropionic acid-induced oxidative stress disorders and mitochondrial dysfunction in rats by modulation of p53, Bcl-2 and Nrf2 targeted proteins. *Int. J. Mol. Sci.*, 22 (11), 5444.

DEVELOPMENT OF OXIDATIVE PROCESSES IN THE HEART OF RATS DURING THE DEVELOPMENT OF IMMOBILIZATION STRESS

Summary

Introduction. In recent months, due to the war on the territory of Ukraine, the number of people who spent a long time in a sedentary position in a stressful state has increased significantly. The leading link in the development of any pathology remains the development of oxidative stress, which affects the development of disorders of the cardiovascular system.

The aim of the study – to evaluate the development of oxidative stress in the homogenate of the rat heart during the development of immobilization stress.

Research Methods. Experiments were performed on 60 outbred male rats weighing 180–210 grams. Animals were divided into 5 groups – control, stress 1 day, stress 2 days, stress 3 days, stress 4 days. Stress was modeled by one-hour immobilization of animals lying on the back. Animals in each group were investigated in control, 1 day after the last immobilization. Under thiopental-sodium anesthesia, heart sampling was performed, in the homogenate of which diene conjugates (DC), TBA-active products (TBA-ap), superoxide dismutase (SOD) and catalase activity (Cat) were determined.

Results and Discussion. In male rats, one day after a single episode of stress, compared to the control, an increase in the concentration of DC by 41.4 % ($p < 0.001$) and TBA-ap – by 21.1 % ($p < 0.01$) and an increase in SOD activity by 38.5 % ($p < 0.001$) and catalase activity by 68.5 % ($p < 0.001$) was noted. There was an increase in DC and TBA-ap after 2 and 3 days of stress, but the indicators decreased after 4 immobilizations. There was an increase in SOD and Cat after 2 days of stress, but the indicators decreased after 3 days, and after 4 days, compared to the previous term, it increased.

Conclusion. The development of oxidative stress in the heart of rats under immobilization stress depends on the number of stressful episodes. With three one-hour immobilization, distress develops in male rats, with one and two immobilization – eustress.

KEY WORDS: lipid peroxidation; antioxidant system; heart; immobilization stress; male rats.

Отримано 25.10.22

Адреса для листування: О. В. Денефіль, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: denefil@tdmu.edu.ua.