

ДИНАМІКА ЗМІН ПОКАЗНИКІВ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ В ОРГАНАХ І ТКАНИНАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗА УМОВ АДРЕНАЛІНОВОГО СТРЕСУ

Захворювання населення, особливо в країнах з високим ступенем урбанізації, все частіше пов'язують із впливом різних стресів, включаючи емоційний, який супроводжується викидом адреналіну в кров. Було досліджено вплив адреналіну на вміст триацилгліцеролів (ТАГ) і холестеролу (ХЛ) у плазмі крові, печінці та м'язах щурів лінії Вістар. Встановлено, що при короткотривалому адреналіновому навантаженні (одноразове введення адреналіну із забором матеріалу через 30 хв) рівень ТАГ у плазмі крові знижувався та одночасно підвищувався в печінці. При цьому концентрація ХЛ у плазмі крові знижувалася, проте зростала в печінці та м'язах. Дворазове введення адреналіну з наступним забором матеріалу через 30 хв призводило до зниження концентрації ТАГ у плазмі крові та підвищення її в печінці. За даних умов рівень ХЛ знижувався у плазмі, печінці та м'язах. Через 24 год після дворазового введення адреналіну спостерігали знижений, порівняно з контролем, рівень ТАГ і ХЛ у плазмі крові, тоді як у печінці та м'язах він достовірно не відрізнявся від контролю. Такі зміни показників ліпідного обміну при адреналіновому стресі необхідно враховувати під час оцінювання патологічного процесу в тому чи іншому органі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: адреналін, стрес, триацилгліцероли, холестерол, печінка, м'язи, плазма крові.

ВСТУП. Тривалі стреси, що виникають унаслідок дії на організм несприятливих чинників довкілля або психоемоційних навантажень, можуть викликати розвиток патологічних процесів. Істотна роль стресу як однієї з причин атеросклерозу, виразкових уражень слизової оболонки шлунка і дванадцятипалої кишки, порушень функцій серця, печінки, виникнення імунodefіцитних станів та онкологічних захворювань не викликає сумніву і підтверджується численними дослідженнями [1, 2, 5, 6]. На думку багатьох учених, найбільш типовими проявами метаболічних порушень при дії адреналіну є зміни показників ліпідного обміну [10, 11, 14]. Здебільшого для характеристики тих чи інших впливів на обмінні процеси використовують показники плазми крові, які мають узагальнюючий характер і не завжди дають вичерпну інформацію стосовно змін, що відбуваються в окремих органах і тканинах [7]. Окрім того, важливими є спостереження за напрямком метаболічних порушень, які виникають як у ранні періоди після впливу стресових чинників, так і віддалені. З огляду на це, метою даного дослідження було вивчення показників ліпідного обміну в окремих

органах і тканинах експериментальних тварин через 0,5 та 24 год за дії на них різних доз адреналіну.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В експерименті використано 40 білих щурів-самців та самок лінії Вістар масою 150–200 г. Тварин утримували на стандартному харчовому раціоні віварію [4]. Адреналіновий стрес моделювали шляхом одно- та дворазового введення 0,1 % розчину адреналіну гідрохлориду з розрахунку 0,05 мг/кг маси тіла [3]. Дози адреналіну було вибрано згідно з даними наукової літератури [15]. Забір матеріалу (кров, печінка і м'язи) проводили після декапітації під тіопенталовим наркозом через 30 хв та 24 год після введення адреналіну. Декапітацію здійснювали згідно з положеннями директиви 2010/63/EU Європейського союзу про захист тварин, яких використовують для наукових цілей [8]. Експериментальних тварин було поділено таким чином: 1-ша група – контрольні (інтактні); 2-га – тварини, яким вводили адреналін у дозі 0,05 мг/кг маси тіла з наступним забором матеріалу через 30 хв; 3-тя – тварини, яким двічі вводили адреналін з інтервалом в 1 год у дозі 0,05 мг/кг маси тіла з наступним забором

© С. В. Шкурашівська, Г. М. Ерстенюк, 2015.

матеріалу через 30 хв; 4-та – тварини, яким двічі вводили адреналін у дозі 0,05 мг/кг маси тіла із забором матеріалу через 24 год.

Тканини гомогенізували в ступці за допомогою товчачика в 10 % трихлороцтовій кислоті у співвідношенні 1:10 (маса/об'єм). Отриманий гомогенат центрифугували при 8000 об./хв на центрифугу ОПН-8. Супернатант використовували для подальшого аналізу. Вміст триацилгліцеролів (ТАГ) та холестеролу (ХЛ) в супернатанті визначали ензиматичним методом із використанням набору реактивів фірми "Вітал Діагностикс Спб" (Санкт-Петербург, Росія). При цьому гідроліз ТАГ супернатанту здійснювали ліпопротеїніпазою (КФ 3.1.1.34). Фосфорилували гліцерол, утворений при гідролізі ліпідів, гліцеролкіназою (КФ 2.7.1.30), після чого гліцерол-3-фосфат піддавали дії гліцерол-3-фосфатоксидази (КФ 1.1.3.21), внаслідок чого утворювався пероксид водню. Для отримання вільного холестеролу гомогенат обробляли холестеролестеразою (КФ 3.1.1.13). Вільний холестерол окиснювали у спряженій реакції холестеролоксидазою (КФ 1.1.3.6) з утворенням пероксиду водню. Надалі зміну концентрації пероксиду водню, утвореного в гліцерол-3-фосфат-або холестеролоксидазній реакції, реєстрували на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 490 нм. Цей метод реєстрації ґрунтувався на взаємодії 4-аміноантипірину і 4-хлорфенолу з пероксидом водню з утворенням забарвленої хінонімінової сполуки під дією пероксидази хрому (КФ 1.11.1.7).

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою комп'ютерної програми Statistica 7.0. Достовірність різниці між середніми

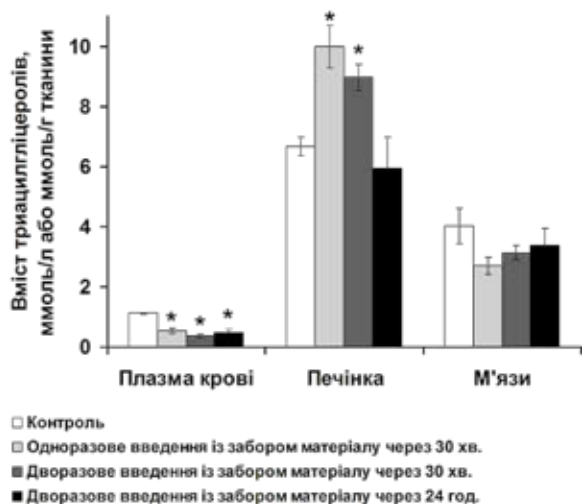


Рис. Вміст триацилгліцеролів у плазмі крові (ммоль/л), м'язах та печінці (ммоль/г тканини) за експериментального адреналінового стресу: * – результати, які відрізняються від показників контрольної групи ($p < 0,05$ за t -тестом Стьюдента, кількість тварин – 7–9).

оцінювали за непарним двостороннім t -тестом Стьюдента. Вірогідними вважали відмінності за $p < 0,05$. Значення в таблиці та на рисунку представлено як середнє ± стандартна похибка середнього.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Проведені дослідження дозволили встановити зниження на 53 % концентрації ТАГ у плазмі крові тварин через 30 хв після одноразового введення адреналіну порівняно з контрольною групою щурів (рис.). Водночас у печінці цієї групи тварин вміст ТАГ був у 1,5 раза більшим, ніж в інтактній групі. У м'язах спостерігали недостовірне зменшення вмісту ТАГ. Через 30 хв після дворазового введення адреналіну концентрація ТАГ у плазмі крові піддослідних тварин була нижчою на 67 % порівняно з контрольною групою (рис.). Стосовно концентрації ТАГ у печінці щурів, то слід відмітити зростання цього показника в 1,3 раза порівняно з контролем. Вміст ТАГ у м'язах піддослідних та інтактних тварин достовірно не відрізнявся. Через 24 год після дворазового введення адреналіну концентрація ТАГ у плазмі крові щурів була нижчою на 56 %, ніж у контролі (рис.), вміст ТАГ у печінці та м'язах достовірно не відрізнявся від значень інтактних тварин.

За одноразового введення адреналіну через 30 хв концентрація ХЛ у піддослідних тварин була нижчою на 59 % у плазмі крові (табл.) й одночасно зростала в печінці та м'язах в 2,6 і 2,3 раза відповідно порівняно з інтактними щурами. Дослідження цього показника через 30 хв після дворазового введення адреналіну дозволило встановити істотне зниження його на 44, 66 і 48 % у плазмі крові, печінці та м'язах відповідно порівняно з контрольними тваринами. Рівень ХЛ у печінці та м'язах за дворазового введення адреналіну із забором матеріалу через 30 хв був нижчим у 7,5 і 4,3 раза відповідно, ніж у щурів при одноразовому введенні. Через 24 год після дворазового введення концентрація ХЛ у плазмі крові була нижчою на 40 %, у печінці й м'язах перебувала в межах значень інтактних тварин (табл.).

Проведені нами дослідження є першим кроком у запланованому вивченні метаболічних процесів в органах експериментальних тварин за дії різних доз адреналіну в ранні та пізні терміни спостереження. Отримані результати вказують на подібний характер змін рівня ТАГ і ХЛ у плазмі крові за умов одно- і дворазового введення адреналіну з наступним забором матеріалу через 30 хв (рис.). При цьому слід зауважити дещо інший напрям змін показників ліпідного обміну в печінці експериментальних тварин. Зокрема, при одноразовому введенні

Таблиця – Концентрація холестеролу в плазмі крові (ммоль/л), гомогенатах м'язів та печінки (ммоль/г тканини) за експериментального адреналінового стресу

Група тварин	Показник		
	плазма крові, ммоль/л	печінка, ммоль/г тканини	м'язи, ммоль/г тканини
Контрольна (n=7)	1,59±0,11	5,90±0,59	2,39±0,14
Одноразове введення із забором матеріалу через 30 хв (n=7)	0,66±0,10*	15,09±2,41*	5,38±0,25*
Дворазове введення із забором матеріалу через 30 хв (n=7–10)	0,89±0,17*	2,01±0,35*	1,24±0,11*
Дворазове введення із забором матеріалу через 24 год (n=7)	0,96±0,16*	4,29±0,41	3,87±1,03

Примітки:

- * – результати, які відрізняються від показників контрольної групи ($p < 0,05$ за t -тестом Стьюдента).
- Усі показники представлено як середне±стандартна похибка середнього.

відмічено накопичення ТАГ і ХЛ у печінці щурів, однак після дворазового введення рівень ТАГ залишався високим, а рівень ХЛ різко знижувався. Результати вивчення досліджуваних показників у м'язах вказують на низький рівень ТАГ незалежно від часу та способу введення адреналіну, натомість інший характер змін спостерігали стосовно рівня ХЛ.

Отримані нами дані частково узгоджуються з результатами досліджень учених [12, 13], які вказують на те, що стимуляція синтезу ліпідів

тетрахлористим вуглецем у печінці щурів опосередкована катехоламінами, зокрема адреналіном [13].

ВИСНОВКИ. За умов адреналінового стресу показники ліпідного обміну, зокрема рівень ТАГ і ХЛ у плазмі крові, не повною мірою відображають характер змін у печінці та м'язах. Такі дані спонукають до поглибленого комплексного вивчення метаболічних процесів в органах і тканинах експериментальних тварин з урахуванням дози адреналіну й терміну спостереження.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Влияние адреналина и кортикостерона на захват и распределение атерогенных и антиатерогенных липопротеинов в миокарде / Л. Е. Панин, В. Ф. Максимов, А. Р. Колпаков [и др.] // Пробл. эндокринологии. – 2004. – 50, № 4. – С. 45–48.
2. Вплив хронічного соціального стресу на метаболізм ліпідів у золотистих сірійських хом'ячків / А. Л. Загайко, Л. М. Вороніна, П. А. Каліман [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2008. – 80, № 4. – С. 120–128.
3. Зміни вмісту цинку в крові та клітинах різних органів при стресових впливах / Т. В. Берегова, Н. В. Григорова, Ю. В. Єщенко [та ін.] // Фізіол. журн. – 2007. – 53, № 6. – С. 29–33.
4. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / [И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария и др.]. – 3-е изд., перераб. и доп. – К.: Вища школа, 1983. – 383 с.
5. Лепявко А. А. Морфометричний аналіз ступеня структурного пошкодження міокарда в щурів різного віку і статі при дії токсичної дози адреналіну / А. А. Лепявко, М. Р. Хара // Клініч. та експерим. патологія. – 2009. – 8, № 4. – С. 29–31.
6. Мисула І. Р. Морфологічні зміни серцевого м'яза щурів при гіпоергічному та гіперергічному перебігу адреналінової міокардіопатії в експерименті / І. Р. Мисула, А. Б. Бойків // Здобутки клініч. і експерим. медицини. – 2008. – 8, № 1. – С. 47–50.
7. Міщенко І. В. Реакції перекисного окислення ліпідів і гемостазу у різних тканинах при гострому емоційно-больовому стресі / І. В. Міщенко // Фізіол. журн. – 2002. – 48, № 6. – С. 66–69.
8. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes / The European Parliament and The Council of the European Union // Official Journal of the European Union. – 2010. – L273. – P. 33–79.
9. Functional metabolism: Regulation and adaptation / K. B. Storey (ed.). – Hoboken, New Jersey: Wiley-Liss, Inc., 2004. – 594 p.
10. Lifestyle, stress and genes in peptic ulcer disease: a nationwide twin cohort study / I. Rähä, H. Kempainen, J. Kaprio [et al.] // Arch. Intern. Medicine. – 1998. – 158, № 7. – P. 698–704.
11. Remnant lipoproteins are related to intima-media thickness of the carotid artery independently of LDL cholesterol and plasma triglycerides / F. Karpe, S. Boquist, R. Tang [et al.] // J. Lipid. Res. – 2001. – 42, № 1. – P. 17–21.
12. Stern P. H. Rat liver and plasma lipids after carbon tetrachloride administration / P. H. Stern, T. Furukawa, T. M. Brody // J. Lipid Res. – 1965. – 6, № 2. – P. 278–286.

13. Suzuki H. Effect of adrenalectomy on liver lipid content of fasted rats / H. Suzuki, M. Mizugashira // J. Nutr. – 1979. – **109**, № 8. – P. 1413–1418.

14. Tspiranlis G. Inflammation in atherosclerosis and other conditions: a response to danger / G. Tspiranlis // Kidney Blood Press. Res. – 2005. – **28**, № 4. – P. 211–217.

15. What is the optimal dose of epinephrine during cardiopulmonary resuscitation in a rat model? / M. H. Chen, J. Y. Lu, L. Xie [et al.] // Am. J. Emerg. Med. – 2010. – **28**, № 3. – P. 284–290.

С. В. Шкурашивская, Г. М. Эрстенюк
ИВАНО-ФРАНКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ АДРЕНАЛИНОВОМ СТРЕССЕ

Резюме

Заболевания населения, особенно в странах с высокой степенью урбанизации, все чаще связывают с влиянием различных стрессов, включая эмоциональный, сопровождающийся выделением адреналина в кровь. Было исследовано влияние адреналина на содержание триацилглицеролов (ТАГ) и холестерина (ХЛ) в плазме крови, печени и мышцах крыс линии Вистар. Установлено, что при кратковременной адреналиновой нагрузке (однократное введение адреналина с забором материала через 30 мин) уровень ТАГ в плазме крови снижался и одновременно повышался в печени. При этом концентрация ХЛ в плазме крови снижалась, но возрастала в печени и мышцах. Двукратное введение адреналина со следующим забором материала через 30 мин приводило к снижению концентрации ТАГ в плазме крови и повышению ее в печени. В данных условиях уровень ХЛ снижался в плазме, печени и мышцах. Через 24 часа после двукратного введения адреналина наблюдали пониженный, в сравнении с контролем, уровень ТАГ и ХЛ в плазме крови, тогда как в печени и мышцах он достоверно не отличался от контроля. Такие изменения показателей липидного обмена при адреналиновом стрессе необходимо учитывать во время оценивания патологического процесса в том или ином органе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: адреналин, стресс, триацилглицеролы, холестерол.

S. V. Shkurashivska, H. M. Erstenyuk
IVANO-FRANKIVSK NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

DYNAMICS OF CHANGES IN LIPID METABOLISM INDICES IN ORGANS AND TISSUES OF EXPERIMENTAL ANIMALS UNDER ADRENALINE STRESS

Summary

Diseases of human population, especially in the countries with high level of urbanization, are more often associated now with the influence of different stresses, including emotional one, which is accompanied by adrenaline release. It has been investigated the effect of adrenaline on triacylglycerol (TAG) and cholesterol (CL) content in different tissues of Wistar rats. It has been determined that under short-term adrenaline load (single injection of adrenaline followed by sample collection after 30 min) TAG level in blood plasma decreased and simultaneously increased in liver. At the same time CL concentration in blood plasma decreased, while increased in liver and muscles. Double injection of adrenaline followed by sample collection after 30 min caused a decrease in TAG concentration in blood plasma and its increase in liver. Twenty four hours after double adrenaline injection it has been observed decreased TAG and CL levels in blood plasma, whereas it has not differed significantly from control in muscles and liver. Such changes of lipid metabolism under adrenaline stress should be taken into account during evaluation of pathologic process in certain organs.

KEY WORDS: adrenalin, stress, triacylglycerols, cholesterol.

Отримано 05.10.15

Адреса для листування: С. В. Шкурашівська, Івано-Франківський коледж фізичного виховання, вул. Гетьмана Мазепи, 142А, Івано-Франківськ, 76026, Україна, e-mail: shkurashivskasvitlana@gmail.com.