

## ОСОБЛИВОСТІ ПОШКОДЖУВАЛЬНОЇ ДІЇ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ НА СЕРЦЕ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ

*Досліджено вплив хронічного пренатального, постнатального стресу та їх комбінації на показники пероксидного окиснення ліпідів,  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази, аспартат- і аланінамінотрансферази, морфологічну структуру серця щурів різної статі. Виявлено збільшення продуктів пероксидного окиснення ліпідів незалежно від стресу, підвищення активності  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази в самців і дисбаланс в її роботі у самиць, зростання аланінамінотрансферази в самців. Найбільше некрозів відмічено при постнатальному стресі в серці самців, при комбінованому – в самиць.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: стрес, щури, серце, пошкодження.

ВСТУП. Останнім часом усе більш важливим стає вивчення впливу стресу на організм людини. Відчуття тривоги, перенавантаження, гіподинамія викликають нейрогуморальні зміни, які призводять до розвитку психосоматичних захворювань [5, 6]. Стрес по-різному впливає на осіб різної статі [9]. Пренатальний стрес має більшу пошкоджувальну дію на осіб чоловічої статі, постнатальний та поєднання пренатального і постнатального – жіночої [8, 10]. При обох видах стресу страждає серцево-судинна система [7]. Тому метою даної роботи було визначити пошкоджувальний вплив пренатального, постнатального стресу та їх поєднання на серце щурів різної статі.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 44 безпородних статевозрілих щурах-самцях і 48 самицях віком 3 місяці. Пренатальний стрес викликали у вагітних самиць за стандартною методикою [1]. Постнатальний стрес викликали у тварин, починаючи з 1,5-місячного віку. Їх утримували в клітках з обмеженням життєвого простору до 3 місяців. У день експерименту щурів фіксували протягом 1 год спинкою донизу. Комбінований стрес включав поєднання пре- і постнатального стресу.

Досліди виконано з дотриманням норм Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших

© І. Р. Міц, О. В. Денефіль, 2016.

наукових цілей (Страсбург, 1986), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) і наказу МОЗ України від 23.09.2009 р. № 690.

Евтаназію щурів проводили шляхом тотального кровопускання із серця після попереднього тіопентал-натрієвого наркозу (60 мг·кг<sup>-1</sup> маси тіла тварини внутрішньочеревно). Для подальшого експериментального дослідження забирали кров і шматочки серця. У крові та гомогенаті серця визначали концентрацію іонів натрію та калію, активність  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази [4]. Також на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі "Humalyzer-2000" з використанням наборів фірми "Human" у крові визначали активність аспартатамінотрансферази (АсАТ) і аланінамінотрансферази (АлАТ). Ступінь структурних порушень оцінювали за результатами світлової та поляризаційної мікроскопії [2]. Проводили дослідження міокарда лівого шлуночка, на який припадає максимальне навантаження.

Статистичну обробку цифрових даних виконано у відділі системних статистичних досліджень Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського за допомогою програмного забезпечення STATISTICA 10.0 ("Statsoft"). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі за критерієм Стюдента, в інших випадках – за критерієм Манна-Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У тканині серця інтактних тварин відмічено статеву різницю між показниками пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) (табл. 1). Так, концентрація первинних продуктів ПОЛ була статистично достовірною більшою у контрольних самців, що, можливо, пов'язано з інтенсивнішою роботою серця, внаслідок переважання впливу симпатичної нервової системи на організм самців і парасимпатичної нервової системи – на самиць [3]. При всіх видах хронічного психоемоційного стресу в серці самців і самиць спостерігали значну активацію процесів ПОЛ. Статевої різниці в концентрації дієнових кон'югатів при різних видах стресу не відмічено.

Концентрація ТБК-активних продуктів зростала при всіх видах стресу. Відмічено на 49,15 % ( $p < 0,05$ ) більше значення показника в самиць, які зазнали постнатального стресу, порівняно із самцями.

Оскільки виявлено зростання ПОЛ, ми провели морфологічне дослідження міокарда. При розгляді препаратів у поляризованому світлі в самців, які зазнали пренатального стресу, було відмічено контрактурні зміни кардіоміоцитів I–II ступенів, постнатального і комбінованого – II–III ступенів. У самиць при пре- і постнатальному стресі відзначали зміни II–III ступенів, при комбінованому – поодинокі вогнища міоцитолізу. Основним критерієм змін у міокарді були наявність деструктивних уражень м'язових волокон і порушення їх тинкторіальних властивостей.

При забарвленні препаратів за Генденгайном відмічено наявність вогнищ некрозу, яка була більшою серед самців з постнатальним стресом і самиць з комбінованим стресом. У самиць з пренатальним і комбінованим стресом площа

некрозів, порівняно із самцями цих же груп, була статистично достовірною більшою.

Оскільки виявлено пошкодження кардіоміоцитів, ми досліджували роботу  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази та концентрацію іонів натрію і калію в серці та крові щурів (табл. 2).

У контролі була більшою концентрація іонів натрію в серці та крові самиць порівняно із самцями – на 18,42 % ( $p < 0,001$ ) і 20,69 % ( $p < 0,02$ ) відповідно. Також у самиць була вищою активність  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази – в 5,29 раза ( $p < 0,001$ ).

У самців, які зазнали стресу, відмічено підвищення активності  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази. Збільшення активності ферменту призвело до зростання вмісту натрію в сироватці крові, особливо при пре- і постнатальному стресі, але цього виявилось недостатньо для нормалізації концентрації натрію в серці при даних видах стресу. Іншою причиною може бути виділення надлишку натрію зі зруйнованих кардіоміоцитів, що теж імовірно, оскільки зростає концентрація калію в сироватці крові. Також у самців, які зазнали будь-якого досліджуваного стресу, спостерігали явище імпринтингу, що можна пояснити зміною автономної регуляції серцевої діяльності.

У самиць, які зазнали хронічного стресу, відмічено лише збільшення калію в сироватці крові. При пренатальному стресі зростала тільки концентрація калію в сироватці крові, що також може свідчити про дисбаланс у роботі  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази, пов'язаний із некрозом кардіоміоцитів. При постнатальному стресі одночасно знижувалась активність  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази, що, очевидно, і пояснює сповільнення повернення калію в кардіоміоцити. При комбінованому стресі в самиць спостерігали зменшення концентрації натрію в серці та збільшення калію в сироватці

Таблиця 1 – Зміни показників пероксидного окиснення ліпідів, викликані стресом, у серці тварин різної статі

Стать	Контроль (самці – n=10, самиці – n=10)	Вид стресу		
		пренатальний (самці – n=12, самиці – n=12)	постнатальний (самці – n=12, самиці – n=12)	комбінований (самці – n=10, самиці – n=14)
Дієнові кон'югати, ум. од./г·10 <sup>3</sup> ум. од./кг				
Самці	0,317±0,004	0,485±0,014* * – p<0,001	0,458±0,023* * – p<0,001	0,495±0,031* * – p<0,001
Самиці	0,296±0,006# # – p<0,01	0,491±0,015* * – p<0,001	0,493±0,022* * – p<0,001	0,441±0,023* * – p<0,001
ТБК-активні продукти, мкмоль/кг				
Самці	0,474±0,020	1,062±0,125* * – p<0,001	0,881±0,094* * – p<0,001	1,120±0,097* * – p<0,001
Самиці	0,442±0,018	1,144±0,150* * – p<0,001	1,314±0,150*# * – p<0,001 # – p<0,05	1,027±0,135* * – p<0,002

Примітка. Тут і в наступних таблицях: \* – показники достовірні порівняно з контролем; \*\* – показники достовірні порівняно з пренатальним стресом; # – показники достовірні порівняно з постнатальним стресом; # – показники достовірні порівняно із самцями.

Таблиця 2 – Зміни показників натрію і калію в серці й сироватці крові та Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФази, викликані стресом, у тварин різної статі

Стать	Контроль (самці – n=10, самиці – n=10)	Вид стресу		
		пренатальний (самці – n=12, самиці – n=12)	постнатальний (самці – n=12, самиці – n=12)	комбінований (самці – n=10, самиці – n=14)
Натрій, серце, ммоль/кг				
Самці	128,10±1,99	147,17±4,69* * – p<0,01	136,67±3,40	137,30±2,73* * – p<0,02
Самиці	151,70±2,91# # – p<0,001	149,00±4,34	143,08±4,53	137,86±3,24*,** * – p<0,01 ** – p<0,05
Натрій, сироватка крові, ммоль/л				
Самці	142,60±2,01	196,50±6,44* * – p<0,001	178,33±5,54*,** * – p<0,001 ** – p<0,05	183,20±4,86* * – p<0,001
Самиці	172,10±11,03# # – p<0,02	180,50±5,41	168,75±9,95	186,43±3,89
Калій, серце, ммоль/кг				
Самці	5,63±0,36	5,88±0,21	5,12±0,24** ** – p<0,05	5,20±0,19** ** – p<0,05
Самиці	5,00±0,31	5,42±0,32	5,52±0,29	5,50±0,22
Калій, сироватка крові, ммоль/л				
Самці	5,52±0,24	9,27±0,45* * – p<0,001	9,17±0,31* * – p<0,001	9,43±0,17* * – p<0,001
Самиці	5,76±0,17	9,32±0,28* * – p<0,001	9,42±0,24* * – p<0,001	9,70±0,33* * – p<0,001
Na <sup>+</sup> ,K <sup>+</sup> -АТФаза, нмоль Рн/(хв·мг)				
Самці	0,125±0,012	1,360±0,341* * – p<0,001	0,368±0,094* * – p<0,02 ** – p<0,02	1,082±0,325* * – p<0,01 ## – p<0,05
Самиці	0,661±0,149# # – p<0,001	0,841±0,290	0,296±0,047* * – p<0,05	1,086±0,270 ## – p<0,01

крові, що можна пояснити дисбалансом у роботі Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФази, порушенням процесів деполаризації, внаслідок руйнування кардіоміоцитів, це підтверджують дані морфометричного аналізу.

Пошкодження кардіоміоцитів може призвести до цитолізу. В інтактних тварин різної статі виявили вищі показники АсАТ у самців (на 44,26 %,

p<0,001) і АлАТ у самиць (на 25,40 %, p<0,01) (табл. 3).

При комбінованому стресі активність АсАТ у самців була достовірно найменшою порівняно з контролем та іншими видами стресу. В самиць не виявили достовірних змін показника. Значення АлАТ зростало в самців при всіх видах стресу.

Таблиця 3 – Зміни показників цитолітичного синдрому, викликані стресом, у тварин різної статі

Стать	Контроль (самці – n=10, самиці – n=10)	Вид стресу		
		пренатальний (самці – n=12, самиці – n=12)	постнатальний (самці – n=12, самиці – n=12)	комбінований (самці – n=10, самиці – n=14)
Аспаратамінотрансфераза, Од./л				
Самці	360,77±19,28	306,29±19,54	316,78±22,31	222,99±11,76*,**,** * – p<0,001 ** – p<0,01 ## – p<0,01
Самиці	250,09±8,55# # – p<0,001	254,08±18,96	275,57±21,66	242,31±14,09
Аланінамінотрансфераза, Од./л				
Самці	63,67±4,80	89,53±7,57* * – p<0,02	102,11±7,84* * – p<0,001	94,72±9,42* * – p<0,01
Самиці	79,84±1,73# # – p<0,01	88,40±7,49	95,27±7,42	81,07±4,09

Оскільки АлАТ локалізована переважно в цитозолі клітин, а при всіх видах стресу в самців виявлено порушення проникності мембран, то це може вказувати на зниження функції внутрішніх органів. Також у самців з пренатальним і комбінованим стресом відмічено явище імпринтингу. В самців з комбінованим стресом виявлено менше значення АсАТ порівняно з тваринами з пре- і постнатальним стресом, що можна розцінювати як неоднакове некротичне ураження органів.

Таким чином, виявлено статеві відмінності у реагуванні молодих щурів на пренатальний, постнатальний і комбінований хронічний психоемоційний стрес.

**ВИСНОВКИ.** 1. Хронічний психоемоційний стрес призводить до значної активації процесів пероксидного окиснення ліпідів незалежно від його виду.

2. Хронічний психоемоційний стрес викликає зростання активності  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФази у самців і дисбаланс в її роботі у самиць.

3. Хронічний психоемоційний стрес призводить до підвищення активності ферменту аланінамінотрансферази в сироватці крові самців.

4. За результатами морфологічних досліджень серця, постнатальний стрес викликає найбільше пошкодження серця самців, а комбінований – самиць.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абрамов А. В. Состояние толерантности к глюкозе у самцов, перенесших хронический пренатальный стресс / А. В. Абрамов, Ю. М. Колесник, М. А. Тихоновская // Запорож. мед. журн. – 2004. – № 6. – С. 38–41.
2. Автандилов Г. Г. Система кардиомиоцит-капилляр сердца человека в норме и при остром инфаркте миокарда (стереометрическое исследование) / Г. Г. Автандилов, Т. А. Гевондян // Кардиология. – 1979. – **19**, № 10. – С. 79–83.
3. Денефіль О. В. Вплив анаприліну на автономний баланс серцевого ритму щурів при адреналіновому пошкодженні серця залежно від різних типів погоди / О. В. Денефіль // Галиц. лікар. вісн. – 2008. – № 3. – С. 20–22.
4. Остапченко Л. І. Біологічні мембрани: методи дослідження структури та функцій : навч. посіб. / Л. І. Остапченко, І. В. Михайлик. – К. : Видавничо-поліграфічний центр “Київський університет”, 2006. – С. 163–165.
5. Parswani M. J. Mindfulness-based stress reduction program in coronary heart disease: A randomized control trial / M. J. Parswani, M. P. Sharma, S. Iyengar // Int. J. Yoga. – 2013. – **6** (2). – P. 111–117.
6. Physiological responses to emotional excitement in healthy subjects and patients with coronary artery disease / O. P. Piira, J. A. Miettinen, A. J. Hautala [et al.] / Auton. Neurosci. – 2013. – **177** (2). – P. 280–285.
7. Prenatal maternal bereavement and congenital heart defects in offspring: a registry-based study / J. L. Zhu, J. Olsen, H. T. Sorensen [et al.] // Pediatrics. – 2013. – **131** (4). – P. 1225–1230.
8. Sex-specific effects of prenatal stress on glucose homeostasis and peripheral metabolism in rats / P. J. Brunton, K. M. Sullivan, D. Kerrigan [et al.] // J. Endocrinol. – 2013. – **217** (2). – P. 161–173.
9. Sex-specific interaction effects of age, occupational status, and workplace stress on psychiatric symptoms and allostatic load among healthy Montreal workers / R. P. Juster, D. S. Moskowitz, J. Lavoie, B. D'Antono / Stress. – 2013. – **16** (6). – P. 616–629.
10. The relationship of chronic and momentary work stress to cardiac reactivity in female managers: feasibility of a smart phone-assisted assessment system / M. A. Lumley, W. Shi, C. Wiholm [et al.] // Psychosom. Med. – 2014. – **76** (7). – P. 512–518.

## ОСОБЕННОСТИ ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА НА СЕРДЦЕ КРЫС РАЗНОГО ПОЛА

### Резюме

Исследовано влияние хронического пренатального, постнатального стресса и их комбинации на показатели пероксидного окисления липидов,  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы, аспартат- и аланинаминотрансферазы, морфологическую структуру сердца крыс разного пола. Выявлено увеличение продуктов пероксидного окисления липидов независимо от стресса, повышение активности  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы у самцов и дисбаланс в ее работе у самок, возрастание аланинаминотрансферазы у самцов. Наибольшее количество некрозов отмечено при постнатальном стрессе в сердце самцов, при комбинированном – у самок.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: стресс, крысы, сердце, повреждение.

I. R. Mits, O. V. Denefil

I. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

## FEATURES OF THE DAMAGING EFFECT OF CHRONIC STRESS ON RATS' HEART OF DIFFERENT SEX

### Summary

We investigated the effect of chronic prenatal, postnatal stress and their combination on changes in lipid peroxidation,  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase, AST and ALT, the morphological structure of the rats' heart of different sex. It was revealed the increase in lipid peroxidation products, increase in the activity of sodium-potassium ATPase in males and the imbalance of its work in females, an increase of ALT in males. Most increase of necrosis' amount was observed at postnatal stress in the heart of the males, combined – in females.

KEY WORDS: stress, rats', heart, damage.

Отримано 29.02.16

Адреса для листування: І. Р. Міц, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.