

ПОШКОДЖУВАЛЬНИЙ ВПЛИВ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ НА МОЛОДИХ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ

У роботі досліджено вплив хронічного пренатального, постнатального стресу та їх комбінації на зміни перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту в щурів різної статі. Виявлено їх зростання. Найменший антиоксидантний захист при найбільшому зростанні перекисного окиснення ліпідів був у самців при пренатальному стресі, самиць – при постнатальному та пренатальному стресі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: стрес, щури, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система.

ВСТУП. Вагітні часто перебувають у стресовому стані, що негативно впливає на їх потомство, в якого виникає пренатальний стрес [11]. Більше при цьому страждають особи чоловічої статі [10]. Постнатальний стрес, особливо гострий на фоні хронічного, впливає більше на осіб жіночої статі [12]. При обох видах стресу страждає серцево-судинна система [9]. Визначення патогенетичних ланок, які б змогли розкрити механізми пошкоджувального впливу пренатального, постнатального стресу та їх комбінації на осіб чоловічої і жіночої статі, допоможе в пошуку лікарських засобів, що мають протекторний вплив. Тому метою цієї роботи було визначити зміни перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантного захисту в щурів різної статі, які зазнали впливу пренатального, постнатального стресу та їх комбінації.

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

Досліди виконано з дотриманням норм Конвенції Ради Європи про захист хребетних тварин, що використовуються для досліджень та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.), ухвали Першого національного конгресу з © І. Р. Міц, 2014.

біоетики (Київ, 2001) і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Евтаназію щурів проводили шляхом тотального кровопускання із серця після попереднього тіопентало-натрієвого наркозу (60 мг·кг⁻¹ маси тіла тварини внутрішньочеревно). Для подальшого експериментального дослідження забирали кров і шматочки серця. У гомогенаті серця визначали концентрацію дієнових кон'югат (ДК), ТБК-активних продуктів, трієнових кон'югат (ТК) [3], активність супероксиддисмутази (СОД) [7], каталази [6], вміст відновленого глутатіону, активність глутатіонредуктази (ГР) і глутатіонпероксидази (ГП) [5, 8], у сироватці крові – пероксидазну активність крові (ПАК) [4], вміст церулоплазміну (ЦП) [4].

Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень університету в програмному пакеті Statsoft STATISTIKA. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі за критерієм Стьюдента [4], в інших випадках – за допомогою непараметричних методів.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У контрольних самиць виявлено нижчу активність процесів ПОЛ порівняно з самцями, про що свідчили менші показники ДК, ТБК-активних продуктів, ТК, відповідно, на 7,02 % (p<0,001), 7,10 % (p<0,002), 5,50 % (p<0,001) (табл. 1). При стресі відмічено значне збільшення продуктів ПОЛ.

Найбільше зростання продуктів ПОЛ у самців було при комбінованому та пренатальному стресі. Так, вміст ДК, ТБК-активних продуктів і

Таблиця 1 – Зміни показників перекисного окиснення ліпідів, викликані стресом (M±m)

Група	Показник		
	дієнові кон'югати, ум. од.·г ⁻¹	ТБК-активні продукти, мкмоль/кг	трієнові кон'югати, ум. од.·г ⁻¹
Самці			
Контроль (n=10)	0,317±0,001	0,474±0,006	0,318±0,001
Пренатальний стрес (n=12)	0,485±0,004 [*]	1,062±0,038 [*]	0,498±0,004 [*]
Постнатальний стрес (n=12)	0,458±0,007 ^{**}	0,881±0,028 ^{**}	0,462±0,007 ^{**}
Комбінований стрес (n=10)	0,495±0,010 ^{*.##}	1,120±0,032 ^{*.##}	0,500±0,011 ^{*.##}
Самиці			
Контроль (n=10)	0,296±0,002 [#]	0,442±0,006 [#]	0,302±0,002 [#]
Пренатальний стрес (n=12)	0,491±0,005 [*]	1,144±0,045 [*]	0,493±0,005 [*]
Постнатальний стрес (n=12)	0,493±0,007 [#]	1,314±0,045 [#]	0,497±0,006 [#]
Комбінований стрес (n=14)	0,441±0,006 ^{*.#}	1,027±0,038 [*]	0,446±0,006 ^{*.#}

Примітки. Тут і в наступних таблицях:

1. * – показники достовірні порівняно з контролем.
2. ** – показники достовірні порівняно з пренатальним стресом.
3. ## – показники достовірні порівняно з постнатальним стресом.
4. # – показники достовірні порівняно із самицями.

ТК збільшився, відповідно, в 1,56 (p<0,001), 2,36 (p<0,001) і 1,57 (p<0,001) раза при першому і в 1,53 (p<0,001), 2,24 (p<0,001) і 1,57 (p<0,001) раза при другому. У самиць найбільше зростання продуктів ПОЛ відмічено при пост- та пренатальному стресі. Вміст ДК, ТБК-активних продуктів і ТК збільшився, відповідно, в 1,66 (p<0,001), 2,97 (p<0,001) і 1,65 (p<0,001) раза та в 1,66 (p<0,001), 2,59 (p<0,001) і 1,63 (p<0,001) раза.

Відзначено і статеву різницю: досліджувані показники були достовірно більшими при постнатальному стресі серед самиць, при комбінованому – самців.

При вивченні ферментативної ланки антиоксидантного захисту (табл. 2) виявлено, що в контролі у самців, порівняно із самицями, вищі показники ПАК – у 1,98 раза (p<0,05), каталази – на 5,04 % (p<0,05) і ЦП – на 12,59 % (p<0,001).

Таблиця 2 – Зміни показників ферментативної ланки антиоксидантного захисту, викликані стресом (M±m)

Група	Показник			
	пероксидазна активність крові, (мкмоль/хв)·л	супероксид-дисмутаза, ум. од.·мг ⁻¹	каталаза, мкат/кг	церулоплазмін, мг/л
Самці				
Контроль (n=10)	91,43±19,09	0,1224±0,0033	3,66±0,06	5,320±0,108
Пренатальний стрес (n=12)	468,62±9,77 [*]	1,8237±0,0547 [*]	3,72±0,04 [*]	11,171±0,139 [*]
Постнатальний стрес (n=12)	545,48±2,90 ^{**}	2,2035±0,0536 ^{**}	4,92±0,15 ^{**}	8,225±0,090 ^{**}
Комбінований стрес (n=10)	279,83±11,15 ^{*.##}	2,1809±0,0376 [*]	3,36±0,07 ^{*.##}	11,532±0,216 ^{*.##}
Самиці				
Контроль (n=10)	46,23±1,96 [#]	0,1138±0,0026	3,49±0,04 [#]	4,725±0,101 [#]
Пренатальний стрес (n=12)	448,38±6,80 [*]	1,6306±0,0552 ^{*.#}	3,54±0,07 [#]	10,113±0,213 ^{*.#}
Постнатальний стрес (n=12)	532,43±4,40 ^{*.#}	1,5405±0,0585 ^{*.#}	3,79±0,07 ^{**.#}	9,063±0,134 ^{**.#}
Комбінований стрес (n=14)	340,77±7,32 ^{*.#}	2,0342±0,0394 ^{**.#.##}	3,06±0,04 ^{**.#.##}	11,887±0,151 ^{**.#.##}

Під впливом стресу у тварин відмічено зростання активності ферментативної ланки антиоксидантної системи як у серці, так і в крові, що вказує на наявність стадії тривоги або

розвиток резистентності до стресу [2]. У самців найбільше зростання ПАК, СОД і каталази виявлено при постнатальному стресі, ЦП – комбінованому. В самиць найбільше зростання ПАК і каталази було при постнатальному стресі, СОД і ЦП – комбінованому.

При вивченні показників системи глутатіону (табл. 3) виявлено вище значення активності ферментів у самиць порівняно із самцями (ГП – на 28,19 %, $p < 0,001$, ГР – на 18,76 %, $p < 0,001$) і, відповідно, менше значення відновленого глутатіону в перших (на 12,21 %, $p < 0,001$).

Таблиця 3 – Зміни показників системи глутатіону, викликані стресом ($M \pm m$)

Група	Показник		
	відновлений глутатіон, мкмоль/г	глутатіонпероксидаза, (мкмоль/хв)·кг	глутатіонредуктаза, (мкмоль/хв)·кг
Самці			
Контроль (n=10)	838,60±16,81	0,1763±0,0033	0,0826±0,0007
Пренатальний стрес (n=12)	1241,23±23,14 [*]	0,2995±0,0053 [*]	0,1027±0,0033 [*]
Постнатальний стрес (n=12)	1000,00±12,87 ^{*,**}	0,2646±0,0035 ^{*,**}	0,1313±0,0032 ^{*,**}
Комбінований стрес (n=10)	998,25±24,98 [*]	0,3035±0,0050 ^{*,##}	0,1306±0,0052 [*]
Самиці			
Контроль (n=10)	747,37±9,68 [#]	0,2260±0,0044 [#]	0,0981±0,0014 [#]
Пренатальний стрес (n=12)	1118,42±20,07 ^{*,#}	0,3011±0,0051 [*]	0,1704±0,0051 ^{*,#}
Постнатальний стрес (n=12)	1162,28±9,92 ^{*,#}	0,2563±0,0049 ^{*,**}	0,1472±0,0065 ^{*,**}
Комбінований стрес (n=14)	1254,39±16,38 ^{*,**,##}	0,2826±0,0045 ^{*,**,##}	0,0989±0,0042 ^{*,**,##}

Під дією стресу у тварин відмічено зростання активності ферментів системи глутатіону. В самців найбільше зростання ГП спостерігали при комбінованому стресі, ГР – постнатальному, відновленого глутатіону – пренатальному. В самиць найбільше зростання ГП і ГР відзначено при пренатальному стресі, відновленого глутатіону – комбінованому.

Отримані результати вказують на те, що в контролі у молодих щурів-самців процеси ПОЛ перебігали на вищому рівні порівняно із самицями. Під впливом стресу статистично достовірно зросли показники як перекисного окиснення ліпідів, так і антиоксидантної системи у тварин двох статей. Відмічено статеву різницю у механізмах адаптації до стресу. В самців найменше зростали показники анти-

оксидантної системи при пренатальному стресі. У самиць спостерігали найбільше зростання ГП при пренатальному стресі, ПАК і каталази – постнатальному, СОД і ЦП – комбінованому, тобто при комбінованому стресі відзначено максимальний протекторний ефект.

ВИСНОВКИ. 1. В інтактних тримісячних щурів-самців, порівняно із самицями такого ж віку, спостерігають вищу активність процесів ПОЛ.

2. Стрес призводить до активації процесів ПОЛ і антиоксидантного захисту у тварин незалежно від статі.

3. Найбільшу інтенсифікацію процесів ПОЛ при меншому антиоксидантному захисті в самців відмічено при пренатальному стресі, у самиць – при пост- та пренатальному.

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. Барабой В. А. Фізіологія, біохімія і психологія стресу / В. А. Барабой, О. Г. Резніков. – К. : Інтерсервіс, 2013. – 314 с.

3. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.

4. Клінічна та лабораторна діагностика. Нормативні директивні правові документи. – К. : МВЦ "Медінформ", 2003. – 856 с.

5. Круглікова Г. О. Глутатіонпероксидазна та глутатіонредуктазна активність печінки щурів

після введення селеніту натрію / Г. О. Круглікова, І. М. Штутман // Укр. біохім. журн. – 1976. – № 2. – С. 227–233.

6. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.

7. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.

8. Moffat J. A. Investigations into the role of sulfhydryl groups in the mechanism of action of the nitrates / J. A. Moffat, P. W. Armstrong, G. S. Marks // Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. – 1982. – 60, № 10. – P. 1261–1266.

9. 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.

10. 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.

11. The association between perceived emotional support, maternal mood, salivary cortisol, salivary cortisone, and the ratio between the two compounds in response to acute stress in second trimester pregnant women / La Marca- P. Ghaemmaghami, R. La Marca, S. M. Dainese [et al.] // J. Psychosom. Res. – 2013. – 75 (4). – P. 314–320.

12. 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.

И. Р. Миц

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПОВРЕЖДАЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА НА МОЛОДЫХ КРЫС РАЗЛИЧНОГО ПОЛА

Резюме

В работе исследовано влияние хронического пренатального, постнатального стресса и их комбинации на изменения перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у крыс разного пола. Выявлен их рост. Наименьшая антиоксидантная защита при наибольшем росте перекисного окисления липидов была у самцов при пренатальном стрессе, самок – постнатальном и пренатальном стрессе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: стресс, крысы, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.

I. R. Mits

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

DAMAGING EFFECT OF CHRONIC STRESS ON YOUNG RATS OF DIFFERENT SEX

Summary

We was investigated the effect of chronic prenatal, postnatal stress and their combination on changes in lipid peroxidation and antioxidant protection in rats of different sexes. Revealed their growth. The lowest antioxidant protection at the greatest increase in lipid peroxidation was in males with prenatal stress, females –postnatal and prenatal stress.

KEY WORDS: stress, rats, lipid peroxidation, antioxidant system.

Отримано 24.07.14

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