DOI: 10.21802/artm.2019.1.9.95.
УДК612.017.2-02:612.766.2-06:616-001.8-092.19]-092.9

СТРЕС-ЛІМІТУЮЧІ МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЇ ДО ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ ВИСОКОРЕЗИСТЕНТНИХ ДО ГІПОКСИЧНОЇ ГІПОКСІЇ САМЦІВ І САМИЦЬ ЩУРІВ

Ю.М. Ординський, М.О. Рябоконь, О.В. Денефіль, О.О. Болюх

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра патологічної фізіології,
м. Тернопіль, Україна,
ORCIDID: 0000-0002-2291-7018, ORCIDID: 0000-0002-6873-3206,
ORCIDID: 0000-0001-7241-3726, ORCIDID: 0000-0002-3606-5215,
e-mail: y.ordinskiy20@gmail.com

Резюме. В основі розвитку багатьох хвороб лежить гіпоксія, зокрема кардіоваскулярної системи. Малорухомий спосіб життя також призводить до розвитку захворювань серцево-судинної системи. Для забезпечення адекватної адаптації до шкідливих факторів довкілля необхідна активація стрес-лімітуючих систем. До них відносять антиоксидантну, холінергічну системи.

Мета – визначити показники антиоксидантної системи та стан автономної нервової системи у щурів різної статі з високою резистентністю до гіпоксії при іммобілізаційному стресі.

Матеріали і методи. Іммобілізаційний стрес моделювали 4 рази одногодинною іммобілізацією щурів спинкою донизу з інтервалом 24 години. У серці визначали активність супероксиддисмутази (СОД), каталази, концентрацію відновленого глутатіону, активність глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонредуктази (ГР), у крові – пероксидазну активність (ПАК). Тваринам проводили кардіоінтервалографію.

Результати. У інтактних високостійких до гіпоксії щурів-самців порівняно із самицями більша активність СОД, каталази, ПАК, ГР, менша – ГП. Іммобілізація самиць призводить до активації СОД, каталази, ГР та зменшення показників системи глутатіону, ПАК. У самців залишаються на рівні значень контролю СОД, каталаза, відновлений глутатіон, знижуються ПАК, ГП, ГР. У інтактних самців переважають симпатичні впливи на серце, зокрема виділення адреналіну. Іммобілізація призводить до зменшення адренергічних впливів у самців та їх зростання у самиць.

Висновки. У інтактних високостійких до гіпоксії щурів-самців порівняно із самицями більша активність антиоксидантів. Іммобілізація самиць призводить до активації супероксиддисмутази, каталази, глутатіонредуктази та зменшення показників системи глутатіону, пероксидази крові. У самців залишаються на контрольному рівні значення супероксиддисмутази, каталази, відновленого глутатіону, знижуються пероксидази крові, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза. У інтактних самців переважають адренергічні впливи на серце. Іммобілізація щурів призводить до зниження тонусу симпатичного відділу автономної нервової системи у самців, що має кисеньзберігаючий ефект, та його зростання у самиць.

Ключові слова: іммобілізаційний стрес, щурі, резистентність до гіпоксії, антиоксидантна система, кардіоінтервалографія.

Вступ. Індивідуальна реакція організму на стрес може залежати від багатьох факторів, зокрема віку, статі, стану нервової, ендокринної систем [9]. Стреси є невід'ємними супутниками нашого життя, оскільки вони спричинюють як адаптаційний ефект, так і пошкоджуючий [10, 11]. При надмірному стресі, тривалій гіподинамії може виникнути дистрес, при якому настає зрив адаптаційних механізмів і виникають різні захворювання, зокрема серцево-судинної системи [8]. У популяціях є особини з різною стійкістю до стресу, гіпоксії тощо. До механізмів, які забезпечують підвищену стійкість до гіпоксії, належать антиоксидантна система та підвищені холінергічні впливи на серце [9]. Визначення адаптаційних механізмів, які забезпечують пристосування у осіб із високою резистентністю до гіпоксії, може сприяти розробці індивідуальних методів профілактики та корекції різних патологічних процесів.

Мета: визначити показники антиоксидантної системи та стан автономної нервової системи у щурів різної статі з високою резистентністю до гіпоксії при іммобілізаційному стресі.

Матеріал і методи дослідження. Досліди виконано на 72 безпородних високостійких до гіпоксії щурах віком 5,5-6 місяців. Тварин поділено на три групи – контрольну та дві дослідних (які зазнали різних режимів іммобілізаційного стресу). У кожній із груп було по 12 самців і 12 самиць. Виділення із загальної когорти тварин особин із різною стійкістю до гіпоксії проводили за методикою Березовського В.Я. (1978) [1]. Стрес моделювали шляхом чотириразової одногодинної іммобілізації щурів спинкою донизу з інтервалом у 24 години між окремими стресовими епізодами [3].

Усі експерименти проводили в першій половині дня в спеціально відведеному приміщенні при температурі 18-22 ^{o}C, відносній вологості 40-60 % і освітленості 250 лк. 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.), ухва-

ли Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Евтаназію щурів проводили шляхом тотального кровопускання з серця після попереднього тіопентало-натрієвого наркозу (60 мг·кг$^{-1}$ маси тіла тварини внутрішньочеревно). Для подальшого експериментального дослідження у гомогенаті серця визначали активність супероксиддисмутази (СОД) [7], каталази [4, 6], пероксидазну активність крові (ПАК) [5, 6], відновлений глутатіон (GSH) [12], глутатіонпероксидазу (ГП), глутатіонредуктазу (ГР) [2]. Для дослідження варіабельності серцевого ритму було використано метод варіаційної кардіоінтервалометрії. Для реєстрації використовували пристрій "Кардіолаб" (Харків, Україна). Проводили запис 1000 послідовно розташованих кардіо інтервалівR–R.

Статистичну обробку цифрових даних виконано за допомогою програмного забезпечення "Excel" ("Microsoft", США) та "STATISTICA" 6.0 ("Statsoft", США). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі за критерієм Стьюдента, в інших випадках – за допомогою непараметричних методів.

Результати й обговорення. З метою дослідження механізмів захисту при окисному стресі досліджували зміни показників антиоксидантної системи (табл. 1).

Таблиця 1

Зміни показників антиоксидантного стану, викликані стресом, у серці та крові самців і самиць щурів, M±m, n=12

Група	Показник		
	Супероксиддисму-таза, ум.од.·мг$^{-1}$	Каталаза, мкат/кг	Пероксидазна активність крові, мг/л
Самці			
Контроль	0,98±0,02	1,61±0,16	342,90±1,21
Стрес	1,02±0,16	1,74±0,31	128,81±13,91*
Самиці			
Контроль	0,81±0,01$^{\#}$	0,35±0,03$^{\#}$	283,71±1,97$^{\#}$
Стрес	1,83±0,16$^{*,\#}$	4,71±0,48$^{*,\#}$	111,86±6,21*

Примітки: 1. * – показники достовірні, порівняно з контролем;
2. # – показники достовірні, порівняно з самцями.

При стресі у самців активність СОД і каталази достовірно не змінилися, ПАК зменшилася на 62,44% (p<0,001).При стресі у самиць зросла активність СОД у 2,24 раза (p<0,001), активність каталази в 13,28 раза (p<0,001). ПАК зменшилася на 60,57% (p<0,001).

В інтактних самців порівняно з самицями були вищі активності СОД на 16,79% (p<0,001), каталази – на 77,95% (p<0,001), ПАК – на 17,26% (p<0,001). При порівнянні результатів при стресі у самиць порівняно із самцями виявлено більшу активність СОД (на 79,10%, p<0,002) та каталази (у 2,71 раза, p<0,001).

Антиоксидантні системи протидіють прооксидантним системам.Первинніактивніформи кисню інактивуютьсясупероксиддисмутазою (СОД), каталазою та пероксидазами. СОД каталізує реакціюдисмутаціїдвох молекул супероксиданіону зутворенням перекису водню та кисню. H_2O_2є субстратом для каталази та пероксидази, які знешкоджують його з утворенням води та кисню.Пероксидази також каталізують редукцію гідроперекисів жирних кислот. Спорідненість їїдоперекису водню вища,ніж укаталази, і вона більше знешкоджує H_2O_2за низьких концентрацій, а при окиснювальному стресіключовароль взахисті клітинвідH_2O_2належить каталазі [12]. У наших дослідах у контролі більше антиоксидантів у самців, а при стресі у самиць, що можливо пов'язано з адаптацією до стресу останніх.

При вивченні показників системи глутатіону виявлено наступне (табл. 2). При стресі у самців знизилася активність ГП (на 11,16%, p<0,001) і ГР (на 28,47%, p<0,001).

Таблиця 2

Зміни показників системи глутатіону, викликані стресом, у серці високостійких до гіпоксії тварин різної статі, M±m (n=12)

Група	Показник		
	Відновлений глутатіон, мкмоль/г	Глутатіон-пероксидаза, ммоль/хв · кг	Глутатіон-редуктаза, ммоль/хв · кг
Самці			
Контроль	776,32±22,04	0,441±0,002	0,621±0,004
Стрес	714,91±60,28	0,392±0,008*	0,444±0,017*
Самиці			
Контроль	820,17±13,33	0,512±0,001$^{\#}$	0,297±0,009$^{\#}$
Стрес	192,98±7,48$^{*,\#}$	0,387±0,014*	0,385±0,012$^{*,\#}$

Примітки: 1. * – показники достовірні, порівняно з контролем;
2. # – показники достовірні, порівняно з самцями відповідної групи.

При стресі у самиць зменшилося значення GSH на 76,47% (p<0,001) і ГР – на 29,57% (p<0,001), активність ГП зросла на 24,40% (p<0,001).

При порівнянні результатів самців і самиць виявлено наступне. В контролі у самців були більші показники ГР на 52,15% (p<0,001). При стресі у сам-

ців були більші показники GSH на 73,01% (p<0,001), значення ГП не відрізнялися, а ГР була вища на 13,31% (p<0,02).

Суттєву роль у підтриманні редокс-потенціалу клітин крові, який визначає ефективність їх функціонування, відіграють SH-групи протеїнів і відновлений глутатіон. Вони виконують роль акцепторів гідроксильного радикала (HO•) і синглетного кисню, знижуючи деструктивну і цитотоксичну дію активних форм кисню. Оскільки у самців відмічено стабільні показники концентрації відновленого глутатіону, а у самиць – його зниження, то можна думати, що потужнішу роботу глутатіонової системи у самців.

При дослідженні показників кардіоінтервалографії (табл. 3) виявлено, що у самців при стресі порівняно з контролем достовірно збільшилася Мо (на 20,26%, p<0,05). У самиць при стресі зросла тільки АМо (на 17,12%, p<0,05).

Таблиця 3

Зміни показників кардіоінтервалографії, викликані стресом, у високостійких до гіпоксії тварин різної статі (M±m)

Група	Показник			
	Мо, с	АМо, %	ВР, $x10^{-2}$, с	ІН, $x10^{2}$, ум.од.
Самці				
Контроль (n=12)	0,128±0,002	28,32±1,75	0,69±0,07	182,05±27,03
Стрес (n=9)	0,154±0,011*	33,13±4,48	0,78±0,11	224,69±59,27
Самиці				
Контроль(n=10)	0,144±0,003#	32,57±1,37	0,57±0,03	207,24±20,46
Стрес (n=10)	0,145±0,001	38,15±1,79*	0,54±0,04	268,95±34,45

Примітки: 1. * – показники достовірні, порівняно з контролем;
2. # – показники достовірні, порівняно з самцями відповідної групи.

При порівнянні показників між самцями і самицями виявлено у контрольних самців менші значення Мо (на 12,28 %, p<0,001). При стресі змін показників у тварин різної статі не було.

Отже, у контролі в самиць порівняно з самцями менші адренергічні впливи на серце. При стресі у самців зменшуються адренергічні впливи на серце гуморальними каналами, а у самиць зростають нервовими шляхами. Очевидно це сприяє меншому споживанню кисню серцем в умовах стресу у самців, спричинює зменшення оксидативних процесів. У самиць зростання симпатичних впливів, очевидно, попереджує розвиток аритмій. Можна думати, що у тварин спрацьовують адекватні регуляторні механізми у відповідь на стрес, які залежать від статі, але в обох випадках є адаптивними.

Висновки:

1. У інтактних високостійких до гіпоксії щурів-самців порівняно із самицями більша активність антиоксидантів. Іммобілізація самиць призводить до активації супероксиддисмутази, каталази, глутатіонредуктази та зменшення показників системи глутатіону, пероксидази крові. У самців залишаються на контрольному рівні значення супероксиддисмутази, каталази, відновленого глутатіону, знижуються пероксидази крові, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза.

2. У інтактних самців переважають адренергічні впливи на серце. Іммобілізація щурів призводить до зниження тонусу симпатичного відділу автономної нервової системи у самців, що має кисеньзберігаючий ефект, та його зростання у самиць.

Перспективи подальших досліджень. Вивчити механізми забезпечення підвищеної стійкості до стресу у тварин різної статі, які зазнали різних моделей іммобілізаційного стресу.

References:

1. Crea F, Battipaglia I, Andreotti F. Sex differences in mechanisms, presentation and management of ischaemicheartdisease.2015; 241(1):157-168. [in English].
2. Rodin R, Bonanno GA, Rahman N, Kouri NA, Bryant RA, Marmar CR, Brown AD.Expressive flexibility in combat veterans with posttraumatic stress disorder and depression.J. Affect. Disord., 2016; 207:236-241. [in English].
3. Kötter T, Niebuhr F. Resource-oriented coaching for reduction of examination-related stress in medical students: an exploratory randomized controlled trial. Adv. Med. Educ. Pract., 2016; 7:497-504. [in English].
4. Pimple P, Shah AJ, Rooks C, Bremner JD,NyeJ, IbeanuI, Raggi P, and VaccarinoV. Angina and mental stress-induced myocardial ischemia. J. Psychosom. Res. 2015; 78(5):433-437. [in English].
5. Kupriyanov R, Zhdanov R. The eustress concept: Problems and outlooks. World Journal of Medical Sciences.2014; 11(2):179-185. [in English].
6.IghodaroOM,AkinloyeOA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria Journal of Medicine. 2018; 54(4):287-293. [in English].
7. Rakytianskyi VM &Yefimov VH. Peroksydazna ta katalazna aktyvnist krovi u holshtynskoikhudobyza dii hidrohumatu i mikroelementiv [Peroxidase and catalase activity of blood in Holstein cattle for the effects of hydrogum and microelements] Naukovyivisnyk LNUVMBT imeni S.Z. Gzhytskoho - Scientific Herald of LNUWMBT named after SZ Gzhytsky.2010; 12:250-255.[inUkrainian].
8. Tipple TE, Rogers LK. Methods for the Determination of Plasma or Tissue Glutathione Levels. Methods Mol Biol. 2012; 889:315-324. [in English].
9. Richard A. Lawrence. Reprint of “Glutathione Peroxidase Activityin Selenium-Deficient RatLiver”. –

Biochemical and Biophysical Research Communications. 2012;425(3):503-509.[inEnglish].

УДК 612.017.2-02:612.766.2-06:616-001.8-092.19]-092.9

СТРЕСС-ЛИМИТИРУЮЩИЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ К ИММОБИЛИЗАЦИОННОМУ СТРЕССУ ВЫСОКОРЕЗИСТЕНТНЫХ К ГИПОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ САМЦОВ И САМОК КРЫС

Ю.Н. Ордынский, М.А. Рябоконь, О.В. Денефиль, О.А. Болюх

Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я.Горбачевского МОЗ Украины,кафедра патологической физиологии, г.Тернополь, Украина,
ORCID ID: 0000-0002-2291-7018,
ORCID ID: 0000-0002-6873-3206,
ORCID ID: 0000-0001-7241-3726,
ORCID ID: 0000-0002-3606-5215,
e-mail: y.ordinskiy20@gmail.com

Резюме. В основе развития многих заболеваний лежит гипоксия, в частности сердечно-сосудистой системы. Малоподвижный образ жизни также приводит к развитию заболеваний сердечно-сосудистой системы. Для обеспечения адекватной адаптации к вредным факторам окружающей среды необходима активация стресс-лимитирующих систем. К ним относят антиоксидантную, холинергическую системы.

Цель – определить показатели антиоксидантной системы и состояние вегетативной нервной системы у крыс разного пола с высокой резистентностью к гипоксии при иммобилизационном стрессе.

Материал и методы. Иммобилизационный стресс моделировали 4 раза часовой иммобилизацией крыс спинкой вниз с интервалом 24 часа. В сердце определяли активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, концентрацию восстановленного глутатиона, активность глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР) в крови –пероксидазной активностью (ПАК). Животным проводили кардиоинтервалографии.

Результаты. У интактныхвысокостойких к гипоксии крыс-самцов по сравнению с самками больше активность СОД, каталазы, ПАК, ГР, меньше – ГП. Иммобилизация самок приводит к активации СОД, каталазы, ГР и уменьшению показателей системы глутатиона, ПАК. У самцов остаются на уровне значений контроля СОД, каталаза, восстановленный глутатион, снижаются ПАК, ГП, ГР. В интактных самцов преобладают симпатические влияния на сердце, в частности выделение адреналина. Иммобилизация приводит к уменьшению адренергических влияний у самцов и их росту в самок.

Выводы. У интактныхвысокостойких к гипоксии крыс-самцов по сравнению с самками больше активность антиоксидантов. Иммобилизация самок приводит к активации супероксиддисмутазы, каталазы,глутатионредуктазы и уменьшению показателей системы глутатиона, пероксидазы крови. У самцов остаются на контрольном уровне значение супероксиддисмутазы, каталазы, восстановленногоглутатиона, снижаются пероксидаза крови, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза. У интактных самцов преобладают адренергические влияния на сердце. Иммобилизация крыс приводит к снижению тонуса симпатического отдела вегетативной нервной системы у самцов, что имеет кислородсохраняющий эффект, и его росту в самок.

Ключевые слова: иммобилизационный стресс, крысы, резистентность к гипоксии, антиоксидантная система, кардиоинтервалография.

UDC612.017.2-02:612.766.2-06:616-001.8-092.19]-092.9

STRESS-LIMITING MECHANISMS OF ADAPTATION TO IMMOBILIZATION STRESS IN HIGH-RESISTANT AND LOW-RESISTANT TO HYPOXIC HYPOXIA FEMALE AND MALE RATS

Yu.M. Ordynskyi, M.O.Riabokon, O.V.Denefil, O.O. Bolyukh

I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University of MoH of Ukraine, Department of Pathophysiology, Ternopil, Ukraine,
ORCIDID: 0000-0002-2291-7018,
ORCIDID: 0000-0002-6873-3206,
ORCIDID: 0000-0001-7241-3726,
ORCIDID: 0000-0002-3606-5215,
e-mail: y.ordinskiy20@gmail.com

Abstract. The basis of the development of many diseases is hypoxia, in particular the cardiovascular system. The sedentary lifestyle also leads to the development of diseases of the cardiovascular system. In order to ensure adequate adaptation to harmful environmental factors, activation of stress-limiting systems is required. These include antioxidant and cholinergic systems.

The aim of the research is to determine parameters of the antioxidant system and condition of the autonomous nervous system in rats of different gender with a low-resistance to hypoxia with immobilization stress.

Material and methods. Immobilizationstress was modelled 4 times by an hour-long immobilization of rats the back down with an interval each 24 hours. In the heart, the activity of superoxide dismutase (SOD), catalase, the concentration of reduced glutathione, activity of glutathione peroxidase (GP), glutathione reductase (GR), and peroxidase activity in blood were determined. Animals underwent cardiointervalography.

Results. In intact male rats, compared with females, there was higher activity of SOD, catalase, PAC, GH, and less - GP. Immobilization of females leads to activation of SOD, catalase, GH and reduction of glutathione system, PAK. In males, they remain at the level of control values of SOD, catalase, reduced glutathione, reduced PAC, GP, GR. In intact males, sympathetic cardiovascular effects, in particular adrenaline excretion, prevail. Immobilization leads to decrease of adrenergic effects in males and their increase in females.

Conclusions. In intact low-resistance to hypoxia male rats, compared with females, higher antioxidant activity. Immobilization leads to activation of superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase and decrease in the glutathione system, blood peroxidase. In males, the levels of superoxide dismutase, catalase, reduced glutathione, blood peroxidase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase remain at the control level. In intact males adrenergic effects on the heart prevail. Immobilization of rats leads to decrease tone of the sympathetic portion of the autonomic nervous system, which has an oxygen-retaining effect and its increase in females.

Keywords: immobilization stress, rats, resistance to hypoxia, antioxidant system, cardiointervalography.

Стаття надійшла вредакцію 15.02.2019 р.