

Труды молодых ученых 2010: сб. науч. работ / Белорус. гос. мед. ун-т; под общ. ред. С.Л. Кабака. – Т. 78 Минск: БГМУ, 2010. – С. 20–24.

С.В. Глинник

**Характеристика гормонального и прооксидантно-антиоксидантного статуса крыс при
иммобилизационном стрессе**

Белорусский государственный медицинский университет,

кафедра биоорганической химии

По современным представлениям стресс является защитной нейро-эндокринной реакцией, обусловленной изменением деятельности, как нервной системы, так и активности системы гипоталамус-гипофиз-надпочечники [1, 3]. Одним из наиболее распространенных стрессовых факторов, действующих на современного человека, является пониженная двигательная (физическая) активность. По данным литературы при иммобилизационном и гипокинетическом стрессах наблюдаются различные нарушения деятельности сердечно-сосудистой, опорно-двигательной и эндокринной систем, обменных процессов, снижение активности иммунной системы организма [4, 8].

Цель исследования: изучение влияния 3-х часового иммобилизационного стресса на гормональный и прооксидантно-антиоксидантный статус крыс.

Материалы и методы исследования. Исследования были проведены на белых нелинейных крысах-самцах массой 180-200 г, разделенных на 2 группы (по 8 крыс в каждой): 1) контроль, 2) стресс. Иммобилизационный стресс (ИС) создавался путем помещения крыс на три часа в индивидуальные деревянные клетки-пеналы длиной 15 см и шириной 6 см, которые на протяжении всего срока стрессового воздействия находились в условиях свето- и звукоизоляции. Животных снимали с эксперимента под тиопенталовым наркозом (60-80 мг/кг) путем забора крови из сонной артерии. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тканях (печень, мозг) и крови оценивали по уровню диеновых конъюгатов (ДК) [2, 5] и ТБК-активных продуктов (по наработке малонового

диальдегида (МДА) [10]). Также в исследуемых тканях и крови определяли активность глутатионредуктазы (ГР) [11], супероксиддисмутазы (СОД) [9], каталазы (КАТ) [6] и глутатионпероксидазы (ГП) [7]. Содержание в сыворотке крови тироксина (T_4) (нмоль/л), трийодтиронина (T_3) (нмоль/л), кортизола (нмоль/л) и инсулина (пмоль/л) определяли методом радиоиммунологического анализа с использованием стандартных наборов производства ИБОХ НАН Беларуси. Статистическая обработка полученных данных была выполнена в программе «Statistica 6.0». Для оценки достоверности различий между группами использовали тест Манна-Уитни. Достоверными считались различия при $p < 0,05$. Полученные данные представлены как медиана и 50% интерквартильный размах (медиана: 25%-й процентиль – 75%-й процентиль), а также в виде относительных величин.

Результаты и их обсуждение. Наши исследования показали, что ИС сопровождался увеличением содержания в сыворотке крови крыс всех исследованных гормонов (рис. 1). Так, уровень кортизола у экспериментальных животных при ИС увеличивался на 61,5% по сравнению с группой «контроль», что свидетельствовало о развитии выраженной стрессовой реакции в ответ на 3-х часовую иммобилизацию.

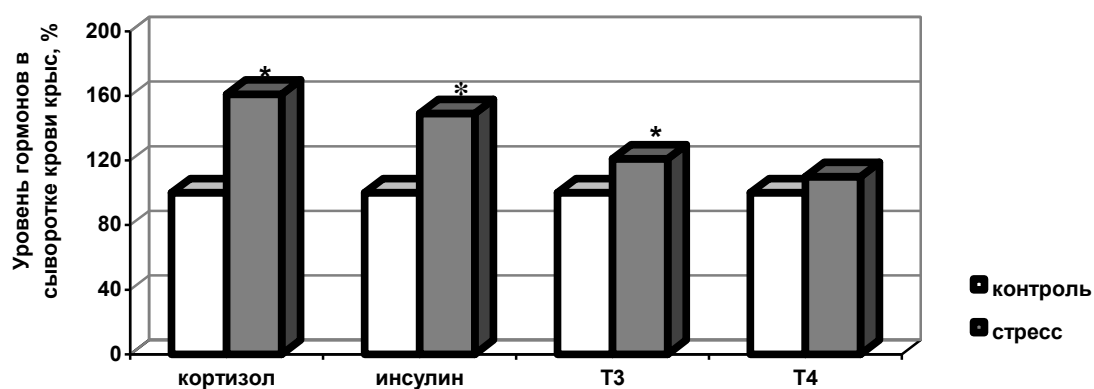


Рисунок 1 – Изменение уровней кортизола, инсулина, T_3 и T_4 в сыворотке крови крыс при иммобилизационном стрессе

Примечание –* - $p < 0,05$ по сравнению с группой «контроль».

Также нами было обнаружено повышение на 21% содержания T_3 и на 10% уровня T_4 , что, вероятно, объясняется активацией функции щитовидной железы при действии на

организм стрессовых факторов. Содержание в сыворотке крови животных инсулина при ИС по сравнению с группой «контроль» увеличилось на 49% (рис.1), что, возможно, является ответной реакцией на повышение содержания в крови глюкозы при любом виде стресса [3].

Со стороны прооксидантно-антиоксидантного статуса экспериментальных животных отмечалось снижение интенсивности процессов ПОЛ в изученных тканях при ИС (табл. 1).

Таблица 1 – Состояние процессов перекисного окисления липидов (по уровню ДК и МДА) в печени, мозге и крови крыс при иммобилизационном стрессе

Группы животных	ДК (ммоль/г ткани; ΔD_{233} на 1 мл плазмы)			МДА (мкмоль/г ткани; мкмоль/мг Hb)		
	печень	мозг	кровь	печень	мозг	кровь
Контроль n=8	0,89: 0,87–0,99	0,35: 0,31–0,42	2,66: 2,37–4,14	0,37: 0,34–0,45	0,42: 0,39–0,46	1,37: 1,20–1,96
Стресс n=8	0,81: 0,77–1,03	0,35: 0,27–0,40	1,43: 1,42–1,49*	0,38: 0,33–0,51	0,33: 0,29–0,36*	1,33: 1,28–1,52

Наиболее значительные изменения уровня ДК и ТБК-активных продуктов в ответ на иммобилизационное воздействие были отмечены в крови и мозге крыс: уровень ДК в крови снижался на 46,3%, МДА в мозге – на 20,8% по сравнению с контрольной группой крыс (табл. 1). Также ИС сопровождался увеличением активности большинства исследованных антиоксидантных ферментов в изученных тканях, что, возможно, и обусловило обнаруженное уменьшение накопления продуктов ПОЛ (ДК и МДА) (табл. 2).

Таблица 2 – Активность ферментов антиоксидантной защиты в печени, мозге и крови крыс при иммобилизационном стрессе

Группы животных	СОД (ед./мг белка; ед./мг Hb)			КАТ, (мкмоль H ₂ O ₂ /мг белка·мин; мкмоль H ₂ O ₂ /мг Hb·мин)		
	печень	мозг	кровь	печень	мозг	кровь
Контроль n=8	49,22: 44,65–55,30	4,69: 4,56–5,70	9,60: 8,65–11,0	1122,50: 924,38– 1240,30	3,93: 2,96–4,21	21,00: 18,95–23,70

Стресс n=8	52,30: 45,10–63,30	5,42: 5,21–6,20*	9,75: 8,30–10,60	1056,70: 983,45– 1324,90	4,16: 3,59–5,06	22,00: 20,35–24,35
---------------	-----------------------	---------------------	---------------------	--------------------------------	--------------------	-----------------------

Продолжение таблицы 2

Группы животных	ГП, (ммоль восст. GSH/мг белка·мин; мкмоль восст. GSH/г Hb·мин)			ГР, (мкмоль НАДФН·Н ⁺ /мг белка·ч; мкмоль НАДФН·Н ⁺ /г Hb·ч)		
	печень	мозг	кровь	печень	мозг	кровь
Контроль n=8	5,75: 4,48–9,73	20,25: 19,01–26,25	2,17: 1,81–3,84	30,10: 23,25–34,20	129,35: 118,00– 143,60	7,28: 5,11–10,10
Стресс n=8	6,19: 3,88–8,98	18,96: 12,86–22,4*	2,56: 2,47–3,57	37,05: 26,97–49,90	137,32: 124,45– 153,20	7,06: 6,22–10,06

Активность каталазы повышалась в мозге и крови крыс, ГР – в печени и мозге, ГП – в крови и печени экспериментальных животных (табл. 2). Повышение активности СОД наблюдалось во всех исследованных тканях и наиболее значительно в мозге крыс – на 16%, в то же время было отмечено достоверное снижение активности ГП на 6,4% по сравнению с группой «контроль» в мозге крыс при ИС.

Таким образом, ИС у экспериментальных животных характеризовался увеличением в сыворотке крови уровней кортизола, инсулина и Т₃, уменьшением интенсивности процессов ПОЛ в печени, мозге и крови крыс при повышении активности большинства ферментов антиоксидантной защиты в исследованных тканях.

Выводы:

1. Иммобилизационный стресс у экспериментальных животных характеризуется увеличением в сыворотке крови уровней кортизола, инсулина, трийодтиронина.
2. Иммобилизационный стресс сопровождается уменьшением интенсивности процессов липопероксидации в печени, мозге и крови крыс при повышении активности большинства ферментов антиоксидантной защиты в исследованных тканях.

Литература:

1. Виноградов, В.В. Стресс: Морфобиология коры надпочечников / В.В. Виноградов. – Минск: Беларуская навука, 1998. – 319 с.
2. Гаврилов, В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В.Б. Гаврилов, М.И. Мишкорудная // Лабораторное дело. – №3. – 1983. – С. 33–35.
3. Зайчик, А.Ш. Основы общей патологии: учебное пособие: в 2 т. / А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов. – Спб.: Элби, 1999–2000. – Т. 1: Основы общей патофизиологии / А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов. – 1999. – 624 с.
4. Изменения в системе крови при длительной гипокинезии / Ю.Г. Камскова [и др.] // Вестник ЧГПУ. – 2000. – Сер. 9, № 1. – С. 90–93.
5. Костюк, В.А. Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов / В.А. Костюк, А.И. Потапович, Е.Ф. Лунец // Вопросы мед. химии. – 1984. – № 4. – С. 125–127.
6. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
7. Моин, В.И. Простой и чувствительный метод определения глутатионпероксидазы в эритроцитах / В.И. Моин // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С. 724–727.
8. Хулуп, Г.Я. Структурные повреждения кардиомиоцитов в условиях иммобилизационного стресса / Г.Я. Хулуп, Т.Э. Владимирская, И.А. Швед // Здоровоохранение. – 2005. – № 9. – С. 9–11.
9. Чумаков, В.Н. Количественный метод определения активности цинк-, медь-зависимой супероксиддисмутазы в биологическом материале / В.Н. Чумаков, Л.Ф. Осинская // Вопросы медицинской химии. – 1977. – Т. 23, № 5. – С. 712–716.
10. Asakawa, T. Coloring conditions of thiobarbituric acid test, for detecting lipid hydroperoxides / T. Asakawa, S. Matsushita // Lipids. – 1980. – Vol. 15. – P. 137–140.

11. Wendell, P.Z. Distribution of glutathione reductase and detection of glutathione-cystine transhydrogenase in rat tissues / P.Z. Wendell // Biochim. Biophys. Acta. – 1968. – Vol. 159, № 1. – P. 179–181.

Summary.

S. V. Hlinnik

**Characteristic of hormonal status and lipid peroxidation activity in rats
under immobilization stress.**

Belarusian State Medical University, bioorganic chemistry department

Hormonal status and lipid peroxidation activity in rats under immobilization stress were studied. Increasing of cortisol, insulin, triiodothyronine level of the blood serum, decreasing of lipid peroxidation activity in liver, brain and blood, increasing of antioxidant enzymatic activity in these tissues in rats under immobilization stress were observed.