

© Омельченко О. Є.

УДК 616. 3/. 4+612. 123]-092. 9:613. 22+613. 86

Омельченко О. Є.

СТРЕСОСТІЙКІСТЬ ОРГАНІВ ТРАВЛЕННЯ, ЗМІНИ ЛІПІДНОГО СПЕКТРУ КРОВІ У ЩУРІВ ПРИ ВИСОКОКАЛОРИЙНОМУ ХАРЧУВАННІ, ІММОБІЛІЗАЦІЙНОМУ СТРЕСІ ТА ЇХ ПОЄДНАНОМУ ВПЛИВІ

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія»

(м. Полтава)

Дана робота є фрагментом НДР «Метаболічні зміни та стресостійкість органів травлення та кісткової тканини при поєднанні впливів ожиріння і емоційного стресу», № держ. реєстрації 0114U001457

Вступ. Найбільш розповсюдженим хронічним захворюванням людства, яке набуває характеру пандемії, є ожиріння. За даними ВООЗ, в 2008 році більше ніж 1,6 мільярда дорослого населення планети мало надмірну вагу, в тому числі більше 500 мільйонів – ожиріння [15]. В Європі більше половини дорослого населення має надмірну масу тіла [1].

Порушення регуляції метаболічних процесів при ожирінні залежить як від дії генетичних факторів, так і соціальних змін у житті сучасної людини: споживання висококалорійних продуктів та зниження фізичної активності [4,5].

Існує тісний зв'язок між ожирінням і такими захворюваннями як цукровий діабет типу 2, артеріальна гіпертензія, атеросклероз, ішемічна хвороба серця та інші.

Рівень серцево-судинних захворювань зростає зі збільшенням маси тіла [18].

Механізми розвитку метаболічних змін при ожирінні досить складні. Багаточисленними дослідженнями встановлено, що провідними факторами, що складають патогенетичну основу ожиріння і метаболічного синдрому як наслідку прогресування патологічних змін, ініційованих ожирінням, є інсулінорезистентність, адипоцитарна дисфункція, надмірна секреція цитокінів, системне запалення, ендотеліальна дисфункція та ін.

Характерною ознакою сучасного життя людини є зростання емоційного напруження [10]. Роль емоційного стресу у розвитку психосоматичних захворювань добре обґрунтована. Загальноновизнано, що патогенетичну основу стресорних ушкоджень тканин (на молекулярному рівні) складають активація перекисного окиснення ліпідів, мембранодеструктивний ефект та дисбаланс системи протеолізу [7]. Проте, до цих пір досить обмежена інформація щодо поєданого впливу висококалорійного харчування та стресорних чинників, що може бути відображенням реалістичної ситуації у житті сучасної людини.

Мета дослідження – вивчити стресостійкість органів травлення (шлунок, підшлункова залоза) та

можливі зміни ліпідного спектру крові у щурів при висококалорійному харчуванні, іммобілізаційному стресі та їх поєданому впливі.

Об'єкт і методи дослідження. Робота виконана на 34 статевозрілих щурах самцях масою 230-270 г. На першому етапі досліджень тварин за масою тіла розподілили на дві рівнозначні групи: інтактні (14 щурів), які отримували стандартний корм і воду *ad libitum*, та дослідну (20 щурів), які протягом 9 тижнів перебували на змішаній дієті. Остання складалась із стандартного корму (47%), солодкого згущеного молока (44%), рослинної олії (8%) та крохмалю (1%) і води *ad libitum* [17]. У висококалорійній суміші вміст жирів був на 18,4%, вміст вуглеводів – на 17,2% більший, вміст білків на 40% менший порівняно зі стандартним кормом.

На другому етапі, через 9 тижнів від початку експерименту, щурів контрольної та дослідної груп рандомізували на 4 підгрупи: перша – інтактні щури; друга – іммобілізаційний стрес; третя – висококалорійна дієта (без іммобілізаційного стресу); четверта – моделювання іммобілізаційного стресу на тлі впливу висококалорійної дієти. Іммобілізаційний стрес у щурів моделювали за методом Г. Сельє [12] шляхом фіксації тварин у положенні на спині по 3 години щоденно впродовж 5 днів.

Евтаназію тварин здійснювали під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг маси), кров для біохімічних досліджень відбирали із порожнини серця. При проведенні експериментів дотримувались рекомендацій щодо медико-біологічних досліджень згідно міжнародних принципів Європейської конвенції "Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985) та норм біомедичної етики, які ухвалені Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2011).

Ульцерогенний ефект стресу оцінювали на підставі визначення частоти (кількість тварин з наявністю виразок в групах) та множинності (кількість виразок на 1 тварину) [11]. Вміст перексиду водню (H₂O₂) визначали у цільній крові [16], ТБК-реактив – в сироватці крові [14].

Концентрацію інсуліну в сироватці крові визначали методом ІФА з використанням стандартного

Показники стресорної реакції щурів за умов змішаної висококалорійної дієти (M ± SEM)

| Показник | Контроль (n=6) | Стрес (n=8) | Висококалорійна дієта, (n=10) | Висококалорійна дієта + стрес, (n=10) | P | |
|---------------------------|----------------|-------------|-------------------------------|---------------------------------------|----------------|-------|
| Виразки шлунка | частота, % | 0 | 87,5% | 70% | 100% | |
| | множинність | 0 | 1,57±0,48 | 1,71±0,75 | 2,20±0,29 | 0,002 |
| Перекис водню, ум. од. /л | 0,192±0,014 | 0,261±0,016 | 0,217±0,020 | 0,278±0,018 | 0,024 | |
| ТБК-реактанти мкмоль/л | 35,36±4,1 | 58,65±10,79 | 51,17±4,22 | 84,78±30,49 | 0,05 | |
| Інсулін, МО/л | 4,108±0,415 | 2,783±0,932 | 1,629±0,567 | 2,175±0,671 | 0,297 0,05* | |
| Глюкоза, ммоль/л | 5,81±0,018 | 4,83±0,38 | 3,63±0,61 | 3,47±0,59 | 0,002 | |

Примітка: * – достовірні якісні відмінності за непараметричним критерієм ТМФ (точний метод Фішера).

набору Rat Insulin (TMB) ELISA KIT DRG-diagnostics (Німеччина) та глюкози – глюкозооксидазним методом, вміст триацилгліцеролів, загального холестеролу, ліпопротеїнів низької щільності і ліпопротеїнів високої щільності оцінювали колориметричними методами. Статистичний аналіз результатів дослідження проводили за допомогою програми SPSS 17.0 для Windows методами варіаційної статистики. Для оцінки відмінностей між групами використовували тест Краскела-Уолліса. Критичний рівень значущості у дослідженнях приймали $\leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення.

Під впливом іммобілізаційного стресу у 87,5% щурів спостерігався розвиток виразок слизової оболонки шлунка (СОШ), множинність яких становила 1,57. Змішана висококалорійна дієта також сприяла утворенню виразок СОШ, хоча їх частота і множинність були значно меншими (табл. 1). При сполученому впливі іммобілізаційного стресу та висококалорійної дієти у 100% тварин виникли виразки СОШ, а їх множинність набула найбільших значень порівняно зі стресованими щурами, які отримували стандартний корм та тварин, які утримувались на висококалорійній дієті (табл. 1).

Отже, висококалорійна дієта здійснює стресіндукуючий ультрогенний вплив на шлунок, про що свідчить збільшення частоти і множинності виразкових ушкоджень СОШ. Це по суті відображає зниження проявів адаптації організму до іммобілізаційного стресу.

Універсальним механізмом стресорних реакцій є активація процесів вільнорадикального окиснення. Одним із найбільш інформативних показників вільнорадикального окиснення є рівень пероксиду водню (H₂O₂) в цільній крові [7].

У щурів під впливом іммобілізаційного стресу вміст перекисуводню достовірно підвищився на 36% порівняно з інтактними тваринами (1 підгрупа) та на 20% – порівняно з тваринами, які отримували тільки змішаний висококалорійний корм (3 підгрупа). Найвищих значень даний показник досяг в підгрупі тварин з поєднаним впливом іммобілізаційного стресу

та змішаної висококалорійної дієти. Аналогічна закономірність спостерігалась щодо змін вмісту ТБК-реактивів в сироватці крові досліджуваних груп щурів (табл. 1).

Отримані дані свідчать про те, що при висококалорійному харчуванні та іммобілізаційному стресі підсилюються процеси вільнорадикального окиснення, які здійснюють мембранодеструктивний ефект, що пояснює відмінності ультрогенезу при поєднаному впливі

обох факторів. Отже, іммобілізаційний стрес на тлі висококалорійної дієти ініціює окиснювальний стрес та посилює інтенсивність клітинних ушкоджень.

Під впливом іммобілізаційного стресу вміст інсуліну в сироватці крові становив лише 68% порівняно з групою інтактних щурів. При цьому рівень глікемії у досліджуваних підгрупах щурів суттєво не змінювався порівняно з інтактними тваринами (табл. 1). Найбільш відповідальну роль у порушенні синтезу інсуліну під впливом іммобілізаційного стресу, вірогідно, відіграє підвищення продукції перекису водню та його цитотоксичний ефект. В дослідженнях *in vitro* доведено, що перекис водню суттєво знижує життєздатність клітин і виявляє дозозалежну цитотоксичність [3].

Отримані нами результати досліджень про зниження рівня інсуліну під впливом іммобілізаційного стресу узгоджуються з приведеними в літературі про зменшення майже вдвічі продукції інсуліну у щурів-самців, яких піддавали впливу емоційного стресу, що ґрунтується на агресивному конфлікті впродовж 5 днів [9]. Зниження рівня інсуліну розглядають як прояв стадії резистентності стресу [8]. Висококалорійна змішана дієта у сполученні з іммобілізаційним стресом здійснює гальмівний вплив на секрецію інсуліну підшлунковою залозою. За цих умов спостерігали зниження вмісту глюкози в крові, природа якого потребує подальших досліджень (табл. 1). Слід зазначити, що раніше на основі використаної нами висококалорійної змішаної дієти автори відтворили модель неалкогольного стеатогепатозу [2]. Це свідчить про те, що при надмірному висококалорійному харчуванні порушення системи травлення набуває поліорганного характеру. За цих умов іммобілізаційний стрес знижує стресостійкість організму.

Через 9 тижнів від початку експерименту серед показників ліпідного спектру спостерігалось незначне підвищення вмісту холестеролу, а також концентрації ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) – в групах тварин з висококалорійним харчуванням (3-я група) та у сполученні з емоційним стресом (4-а

Показники ліпідного профілю сироватки крові у щурів при висококалорійному харчуванні, іммобілізаційному стресі та їх поєднаному впливі, (M ± m)

| Показники / Групи | Маса тіла, г | Холестерол, ммоль/л | Триацилгліце-роли, ммоль/л | ЛПВП ммоль/л | ЛПОНП ммоль/л | ЛПНП ммоль/л |
|---|----------------|---------------------|----------------------------|--------------|---------------|--------------|
| Контроль | 247,33 ± 9,12 | 1,63 ± 0,18 (n=6) | 1,26 ± 0,07 (n=6) | 0,80 ± 0,09 | 0,33 ± 0,082 | 0,495 ± 0,08 |
| Іммобілізаційний стрес | 237,88 ± 10,15 | 1,53 ± 0,05 (n=8) | 1,30 ± 0,046 (n=8) | 0,71 ± 0,045 | 0,26 ± 0,030 | 0,56 ± 0,03 |
| Висококалорійне харчування | 246,80 ± 11,87 | 1,67 ± 0,10 (n=10) | 1,31 ± 0,025 (n=10) | 0,77 ± 0,052 | 0,29 ± 0,04 | 0,60 ± 0,043 |
| Висококалорійне харчування + іммобілізаційний стрес | 262,20 ± 40,20 | 1,55 ± 0,12 (n=10) | 1,30 ± 0,12 (n=10) | 0,72 ± 0,08 | 0,21 ± 0,032 | 0,62 ± 0,037 |

група). Але підвищення рівня даних показників мало лише характер тенденції атерогенних змін (табл. 2).

Можливо, даний механізм є відображенням перебудови метаболізму, направленої на відновлення гомеостазу. В літературі приведені дані про підвищення вмісту загального холестеролу, триацилгліцеролів і атерогенних ліпопротеїнів (ЛПДНЩ та ЛПНЩ) через 39 годин після іммобілізаційного стресу у щурів, але вже через чотири та сім діб ці показники не відрізнялися від контрольних значень [13].

Аналізуючи зміни ліпідного спектру у щурів, необхідно враховувати видові особливості ролі печінки в обміні ліпідів, а саме обмежене утворення ЛПНЩ із ЛПДНЩ, так як гепатоцити більш специфічні до апобілка В-48, ніж до апобілка В-100 [6].

Висновки.

1. Змішана висококалорійна дієта асоціюється з гальмуванням продукції інсуліну, розвитком окиснювального стресу та виразок шлунка.

2. Висококалорійна дієта послаблює стресостійкість організму шляхом активації окиснювального стресу та посилення стресорного ушкодження тканин.

Перспективи подальших досліджень. Висококалорійна змішана дієта у сполученні з іммобілізаційним стресом здійснює гальмівний вплив на секрецію інсуліну підшлунковою залозою, але при цьому спостерігали зниження вмісту глюкози в крові, природа якого потребує подальших досліджень.

Література

1. Аметов А. С. Ожирение и сердечно-сосудистые заболевания / А. С. Аметов, Т. Ю. Демидова, А. Л. Целиковская // Терап. архив – 2001. – № 8. – С. 66-69.
2. Боднар П. М. Оцінка еластографії хвилі зсуву в діагностиці неалкогольної жирової хвороби печінки / П. М. Боднар, О. Б. Динник, Г. П. Михальчишин [та ін.] // Журн. НАМН України. – 2011. – Т. 17, № 4. – С. 422-430.
3. Гильяно Н. Я. Исследование роли супероксида оксида азота и ионов металлов переменной валентности в цитотоксическом эффекте перекиси водорода и бета-амилоида / Н. Я. Гильяно, С. И. Степанов, Л. А. Носкин [и др.] // Пат. физиол. и эксперим. терап. – 2013. – № 3. – С. 42-46.
4. Кундиев Ю. И. Роль стресса в формировании здоровья населения: структурный анализ / Ю. И. Кундиев, В. В. Кальниш, А. М. Нагорная // Журн. АМН Украины. – 2002. – Т. 8, № 2. – С. 335-345.
5. Лифтиев Р. Б. Роль пищевого поведения в формировании избыточной массы тела и ожирения взрослого населения г. Баку / Р. Б. Лифтиев, А. А. Агаев // Междунар. мед. журнал – 2011. – № 2. – С. 65-68.
6. Марри Р. Биохимия человека: В 2-х томах. Т. 1. Пер. с англ. / Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл – М. : Мир, 1993. – 384 с.
7. Меерсон Ф. З. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам / Меерсон Ф. З., Пшенникова М. Г. – М. : Медицина, 1988. – 256 с.
8. Панин Л. Е. Биохимические механизмы стресса / Л. Е. Панин. – Новосибирск : Наука, 1983. – 233 с.
9. Петрова Т. В. Функциональные возможности инсулярного аппарата поджелудочной железы в условиях длительного воздействия конфликтной ситуации и применения тиролиберина при сахарной нагрузке / Т. В. Петрова, М. В. Васин, Т. А. Орлова // Пат. физиол. и эксперим. терап. – 1992. – № 3. – С. 32-34.
10. Погосова Г. В. Признание значимости психоэмоционального стресса в качестве сердечно-сосудистого фактора риска первого порядка / Г. В. Погосова // Кардиология. – 2007. – Т. 47, № 2. – С. 65-72.
11. Пшенникова М. Г. Адаптация к стрессорным воздействиям повышает устойчивость к повреждениям желудка при остром стрессе у крыс популяции Вистар и снижает устойчивость у крыс линии Август: роль серотонина / М. Г. Пшенникова, Е. В. Попкова, М. В. Шимкович // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2002. – № 10. – С. 383-386.
12. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье. – М. : Медицина, 1960. – 254 с.
13. Солин А. В. Влияние регуляторных пептидов на стрессиндуцированные изменения липидного обмена у экспериментальных животных / А. В. Солин, В. И. Корозин, Ю. Д. Ляшев // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2013. – Т. 155, № 3. – С. 299-301.
14. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 66-68.

15. Finucane M. Global Burden of Metabolic Risk Factors of Chronic Diseases Collaborating Group (Body Mass Index): National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9,1 million participants / M. Finucane, G. Stevens, M. Cowan [et al.] // Lancet. – 2011. – Vol. 377. – P. 557-567.
16. Graf E. Method for determination of hydrogen peroxide with its application illustrated by glucose assay / E. Graf, T. P. John // J. Clin. Chem. – 1980. – Vol. 26, № 5. – P. 658-660.
17. West D. B. Dietary obesity in nine inbred mouse strains / D. B. West, C. N. Bozer, D. L. Moody [et al.] // Am. J. Physiol. – 1992. – № 262. – P. 1025-1032.
18. WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic / Geneva: World Health Organization, 2000. – 253 p.

УДК 616. 3/. 4+612. 123]-092. 9:613. 22+613. 86

СТРЕСОСТІЙКІСТЬ ОРГАНІВ ТРАВЛЕННЯ, ЗМІНИ ЛІПІДНОГО СПЕКТРУ КРОВІ У ЩУРІВ ПРИ ВИСОКОКАЛОРИЙНОМУ ХАРЧУВАННІ, ІММОБІЛІЗАЦІЙНОМУ СТРЕСІ ТА ЇХ ПОЄДНАНОМУ ВПЛИВІ

Омельченко О. Є.

Резюме. Метою дослідження було вивчити стресостійкість органів травлення (шлунок, підшлункова залоза) та можливі зміни ліпідного спектру крові у щурів при висококалорійному харчуванні, іммобілізаційному стресі та їх поєднаному впливі. На 34 статевозрілих щурах-самцях доведено що, змішана висококалорійна дієта асоціюється з гальмуванням продукції інсуліну, розвитком окиснювального стресу та виразок шлунка. Висококалорійна дієта послаблює стресостійкість організму шляхом активації окиснювального стресу та підсилення стресорного ушкодження тканин.

Ключові слова: висококалорійна дієта, іммобілізаційний стрес, інсулін, перекис водню, стресостійкість.

УДК 616. 3/. 4+612. 123]-092. 9:613. 22+613. 86

СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ, ИЗМЕНЕНИЯ ЛИПИДНОГО СПЕКТРА КРОВИ У КРЫС ПРИ ВЫСОКОКАЛОРИЙНОМ ПИТАНИИ, ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕССЕ И ИХ СОЧЕТАНОМ ВЛИЯНИИ

Омельченко А. Е.

Резюме. Целью исследования было изучить стрессоустойчивость органов пищеварения (желудок, поджелудочная железа) и возможные изменения липидного спектра крови у крыс при высококалорийном питании, иммобилизационном стрессе и их сочетанном влиянии.

На 34 половозрелых крысах-самцах доказано, что смешанная высококалорийная диета ассоциируется с торможением продукции инсулина, развитием окислительного стресса и язв желудка. Высококалорийная диета ослабляет стрессоустойчивость организма путем активации окислительного стресса и усиления стресорного повреждения тканей.

Ключевые слова: высококалорийная диета, иммобилизационный стресс, инсулин, пероксид водорода, высококалорийная диета.

UDC 616. 3/. 4+612. 123]-092. 9:613. 22+613. 86

Stress Resistance of Digestive Organs, Changes of Lipid Spectrum of Blood in Rats at High Calorie Diet, Immobilization Stress and their Combined Effect

Omelchenko O. Y.

Abstract. The aim of the present study was to investigate stress resistance of the digestive organs (stomach and pancreas) and possible changes of the lipid spectrum of blood in rats at high calorie diet, immobilization stress and their combined effect. 34 adult male rats with body mass 230 – 270 g were randomly divided into four groups. Group 1 was intact animals; group 2 was subjected to immobilization stress; group 3 was fed a high calorie diet (West D. B., 1992) without immobilization stress; group 4 was fed a high calorie diet and subjected to immobilization stress. Ulcerogenic effect of stress was assessed. Concentration of hydrogen peroxide was measured in whole blood, levels of TBA-reactants was measured in blood plasma. Insulin concentration was assayed with Rat Insulin (TMB) ELISA Kit (DRG-diagnostics, Germany), glucose concentration was determined with the glucose oxidase method, the lipid spectrum was assayed with colorimetric methods.

We found that high calorie diet gives rise to a stress-inducing ulcerogenic effect on the stomach, that is consistent with an increased frequency and multiplicity of ulcer lesions of the gastric mucosa in group 4.

Immobilization stress causes a significant 36% increase of hydrogen peroxide concentration compared to that of the intact animals (group 1), and a 20% increase compared to the rats fed a high calorie diet (group 3). The highest levels of hydrogen peroxide were found in the animals that were subjected to a combined effect of immobilization stress and high calorie diet. A similar association was observed in changes of TBA-reactant levels in blood plasma of the groups of rats. Thus, a combination of immobilization stress and high calorie diet initiates oxidative stress and aggravates cellular lesions.

Insulin concentration in blood plasma of the rats subjected to immobilization stress only was 68% of that in the group of intact animals. Glycemic levels did not change significantly in the experimental groups compared to the

intact animals. It can be assumed, that increased generation of hydrogen peroxide and its cytotoxic effect play the most important role in the decrease of insulin synthesis caused by immobilization stress. High calorie mixed diet combined with immobilization stress inhibits pancreatic secretion of insulin. The decrease of glucose concentration in blood that was observed at the conditions needs further investigation.

Minor increases of blood concentrations of cholesterol and low density lipoproteins (LDL) of all the indices of the lipid spectrum was found in the group of animals that were fed a high calorie diet and the group with combined effect of high calorie diet and immobilization stress. Nevertheless, the increases only indicated a tendency to atherogenic alterations. An analysis of changes of the lipid spectrum in rats should account for the peculiarities of role of the liver in lipid metabolism in the species. The peculiarities include a limited generation of LDL from very low density lipoproteins, as the rat hepatocytes are more specific to apolipoprotein B-48 than to apolipoprotein B-100.

Thus, a mixed high calorie diet is associated with inhibition of insulin production, and development of oxidative stress and ulcer lesions.

A high calorie diet decreases stress resistance of the organism through activation of oxidative stress and aggravated stress-induced lesions of tissues.

Keywords: high calorie diet, immobilization stress, insulin, hydrogen peroxide, stress resistance.

Рецензент – проф. Тарасенко Л. М.

Стаття надійшла 20. 01. 2015 р.