

ВИКОРИСТАННЯ РІЗНИХ МОДЕЛЕЙ ГОСТРОГО ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ**Вищий державний навчальний заклад України****«Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)****mn_koptev@ukr.net**

Робота виконана відповідно до теми науково-дослідної роботи кафедри оперативної хірургії і топографічної анатомії Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія» «Визначення закономірностей морфогенезу органів, тканин та судинно-нервових утворень організму в нормі, експерименті та під дією зовнішніх чинників. Морфо-експериментальне обґрунтування дії нових хірургічних шовних матеріалів при використанні їх в клінічній практиці», № держреєстрації 0113U001024.

Вступ. Стрес є виробленою в процесі еволюції сукупністю захисних і ушкоджувальних реакцій організму, які виникають у результаті нейро-ендокринних і метаболічних зрушень у відповідь на дію надзвичайних чи патологічних факторів. Таким чином стрес є важливою ланкою адаптаційного механізму, але за несприятливого перебігу він може стати складовою патогенезу багатьох захворювань. Проблема стресу, не зважаючи на досить тривале вивчення, продовжує залишатися актуальною темою для наукових досліджень [1]. Дослідження механізмів гострого стресу і пошук шляхів підвищення стійкості до нього – одна із сучасних актуальних медико-біологічних проблем. У вирішенні цих питань сучасним науковцям допомагають експериментальні дослідження із використанням різних моделей стресу.

Мета дослідження. Порівняти різні моделі гострого стресу на підставі даних літературних джерел та результатів власних досліджень.

На сьогодні для вивчення морфофункціональних змін, які виникають у організмі на тлі впливу гострого стресу, застосовуються різні його експериментальні моделі. Наприклад, для дослідження патогенетичних механізмів стресорних ушкоджень легень, на кафедрі біологічної хімії Української медичної стоматологічної академії проводилися експерименти на білих щурах-самицях лінії Вістар і сірих мишах лінії СБУ, гострий емоційно-больовий стрес у щурів відтворювали за методом O. Desiderato et al., а у мишей – шляхом підвищення атравматичним затискачем за шийну складку протягом 1 години [4]. На підставі отриманих даних було встановлено, що реакція легень на гострі стресорні подразнення проявляється зміною ліпідного складу біологічних мембран, активацією про-

цесів перекисного окиснення ліпідів, деполімеризацією сполучнотканинних структур, дисбалансом у системі протеоліз – інгібітори протеолізу, підвищенням проникності альвеоло-капілярної мембрани та гальмуванням механізмів антимікробного захисту легень. Подібні результати були одержані й при вивченні метаболічних механізмів розвитку імобілізаційного стресу [4,11].

На кафедрі медицини надзвичайних ситуацій з оперативною хірургією і топографічною анатомією Української медичної стоматологічної академії, за основу відтворення експериментальної моделі гострого імобілізаційного стресу було обрано методику Сельє [6]. Із цією метою ненаркотизованих щурів імобілізували у горизонтальному положенні на спині протягом 6 годин. Фіксація виконувалася за кінцівки, без ушкодження шкірних покривів та порушення гемоциркуляції. Експеримент проводився натщесерце з 9 до 15 години. Перевагою методики є простота у виконанні, проведення у зручний час, відсутність у необхідності складних пристроїв для фіксації піддослідних тварин.

Дана експериментальна модель добре зарекомендувала себе й продовжує широко використовуватися сучасними дослідниками [3,9,10,12]. Зокрема, її використовували для вивчення ролі ферментів у антиоксидантному захисті різних внутрішніх органів у щурів. Було показано, що цей захист здійснюється за участі тканинспецифічних антиоксидантних ферментних механізмів регуляції [12]. Застосування цієї ж методики імобілізації дозволило встановити, що розвиток гострого стресу у щурів-самців в умовах експериментального гіпо- та гіпергонадизму має свої відмінності, які полягають у різній активації гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової (ГГНС) та симпатно-адреналової систем. При дефіциті статевих гормонів баланс участі цих нейроендокринних систем був більш адаптивним, оскільки активувалися механізми обох. При надлишку – менш адаптивним, оскільки мала місце тільки значна активація ГГНС, що створювало можливість виснаження її механізмів [3]. Вивчення якісних і кількісних показників сперми при різних моделях гострого експериментального стресу у самців білих щурів показало, що при імобілізаційному стресі відмічалось значуще зниження цих параметрів, тоді як холодний

вплив призводить до поліпшення параметрів еякуляту. Отримані дані дозволили зробити висновок, що ступінь зміни параметрів сім'яної рідини залежить від сили і тривалості дії стресу, а кількісні та якісні параметри еякуляту можуть служити достовірним критерієм адаптаційних і дезадаптаційних процесів, що відбуваються в організмі під впливом стресових факторів [9]. У науковій літературі зустрічалися відомості про здатність експериментальної моделі тяжкого іммобілізаційного стресу із фіксацією щурів протягом 6 годин у положенні на спині, призводити до порушення кисневого гомеостазу та транспорту кисню до тканин внаслідок розвитку синдрому «стресорної легені». При цьому в легенях ушкоджується сурфактант, внаслідок чого відбувається збільшення виділення у кров і альвеоли перекисних сполук із розвитком метаболічного ацидозу [7,8].

Для вивчення ранніх морфологічних змін, які виникають у легенях щурів під впливом шестигодинного гострого іммобілізаційного стресу, нами було обрано другу годину після завершення періоду фіксації. Час для проведення експерименту було обрано не випадково, адже ранні морфофункціональні зміни, які виникають у легенях на тлі стресу залишалися не дослідженими. Згідно із відомими на той час публікаціями, шестигодинна іммобілізація при моделюванні гострого стресу, викликає стадію тривоги, яка триває близько 38-39 годин. Наступною є стадія резистентності, яка супроводжується значною стрес-індукованою альтерацією тканин, пік якої перепадає на 39 годину після закінчення впливу стресора. Репаративні процеси у легеневій тканині починають розвиватися лише на 4 добу [5]. Вивченню динаміки постстресорних змін у легенях також було присвячено кілька наукових робіт, у яких для дослідження легеневої тканини щурів після впливу експериментального гострого іммобілізаційного стресу, обирали терміни 39 годин, 4-ту та 5-ту добу [5,10]. При цьому морфологічні зміни, які відбуваються у легенях на початку стадії тривоги, також залишалися поза увагою.

Вивчення будови легень щурів після впливу шестигодинного гострого іммобілізаційного стресу із фіксацією у положенні лежачи на спині, макроскопічному рівні виявило численні поліморфні крововиливи у легеневу тканину та під вісцеральну плевру. На мікроскопічному рівні у респіраторному відділі легень спостерігалось значне розширення альвеол (на 63,8% у лівій легені та на 70,6% у правій), стоншення міжальвеолярних перегородок (на 42,3% зліва та на 40,4% справа), локальні явища деструкції альвеолярних стінок. Руйнування і десквамація респіраторних альвеолоцитів призводить до оголення базальних мембран та накопичення у просвітах альвеол, поблизу ушкоджених ділянок, конгломератів клітин на різних стадіях деструкції,

зруйнованих і неушкоджених альвеолярних макрофагів, альвеолоцитів II типу, еритроцитів, фібрину. Еластичний каркас стінок альвеол при цьому посилюється. У внутрішньолегенових бронхах ця експериментальна модель стресу також викликає деструктивні зміни (вакуолізацію цитоплазми епітеліоцитів, руйнування міжклітинних контактів, втрату цілісності та стовщення епітеліального шару, гіпергідратацію власної пластинки слизової оболонки, накопичення клітинного детриту в просвітах бронхів). Товщина епітелію слизової оболонки дрібних бронхів у щурів, порівняно з контрольною групою збільшилася у середньому зліва на 85,9% та на 87,4% справа. У власній пластинці слизової оболонки дрібних бронхів виявлялися ознаки набряку – розпушення колагенових і еластичних волокон аморфною речовиною. Достовірно збільшення товщини епітеліального шару слизової оболонки також відмічено у середніх бронхах: на 65,7% у лівій легені та на 65,9% у правій. Власна пластинка слизової оболонки середніх бронхів виявляла ознаки гіпергідратації.

Морфометричні дослідження показали достовірно збільшення діаметру судин гемомікроциркуляторного русла легень на тлі стресу. Середні значення діаметру просвіту капілярів підвищилися більш ніж удвічі, порівняно з контрольною групою, і відповідно склали $7,31 \pm 0,71$ та $3,62 \pm 0,25$ мкм зліва й $7,64 \pm 0,69$ та $3,68 \pm 0,22$ мкм справа ($p < 0,01$). Діаметр просвіту венул у лівій легені збільшився з $19,01 \pm 1,14$ мкм на 34,9% і сягав $25,64 \pm 1,76$ мкм ($p < 0,01$), а в правій – з $18,72 \pm 1,07$ до $26,08 \pm 1,59$ мкм, тобто на 39,3% ($p < 0,01$). В усіх ланках гемомікроциркуляторного русла визначалися явища стази крові, які у периферичних відділах легень супроводжувалися появою вогнищ діapedезу еритроцитів із судин в інтерстиційну сполучну тканину і просвіти альвеол [2].

Одержані результати показали ефективність даної експериментальної моделі для вивчення морфофункціональних змін, що виникають в організмі на тлі стресу.

Висновок. Використання експериментальної моделі гострого стресу з іммобілізацією щурів у горизонтальному положенні на спині протягом 6 годин дає змогу скоротити час експериментального дослідження, не потребує складного обладнання та використання додаткових чинників стресорного впливу, дозволяє виконувати фіксацію тварин у зручний ранковий час. Цей спосіб простий у застосуванні і може бути використаний для проведення досліджень із вивчення впливу іммобілізаційного стресу на організм.

Література

1. Haydey O.S. Etiolohiya stressu / O.S. Haydey // *Nauk.-tekh. byul. in-tu biolohiyi tvaryn ta Derzh. n.-d. kontrol. in-tu vetpreparativ ta korm. dobavok.* – 2012. – Vyp. 13, № 3/4. – S. 416-419.
2. Koptev M.M. Otsinka morfo-funktsionalnykh zmin peryferychnykh viddiliv leheni pislya vplyvu hostroho immobilizatsiynoho stresu / M.M. Koptev // *Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny: Visnyk Ukrainy skoyi medychnoyi stomatolohichnoyi akademiyi.* – 2013. – T. 13, № 4 (44). – S. 121-124.
3. Kuz'mina V.Ye. Funktsional'noye sostoyaniye muzhskikh gonad i razvitiye stress-reaktsii / V.Ye. Kuz'mina // *Vestnik SamGU – Yestestvennonauchnaya seriya.* – 2007. – T. 58, № 8. – S. 129-137.
4. Netyukhaylo L.H. Mekhanizmy rozvytku i rol zmin metabolichnykh protsesiv v lehenyakh pry hostromu stressi: avtoref. dys. na zdobuttya nauk. stupenya kand. med. nauk: spets. 14.03.04 „Patolohichna fiziolohiya” / L.H. Netyukhaylo. – Odesa, 2000. – 17 s.
5. Oshchepkova O.M. Zakonomernosti razvitiya stressornykh povrezhdeniy vnutrennykh organov i ikh preduprezhdeniye proizvodnyimi gliitsina (eksperim. issled.): avtoref. dis. na soiskaniye uchen. stepeni kand. med. nauk: spets. 14.00.16 „Patologicheskaya fiziolohiya” / O.M. Oshchepkova. – Irkutsk, 1995. – 20 s.
6. Pavlov S.Ye. Adaptatsiya / S.Ye. Pavlov. – M.: Parusa, 2000. – 282 s.
7. Podhayetska O.YE. Zahalni ta mistsevi osoblyvosti kysnevoho metabolizmu pry tyazhkomu immobilizatsiynomu stressi ta yikh rol v patohenezi parodontytu / O.YE. Podhayetska, V.I. Portnichenko, V.I. Nosar [ta in.] // *Med. reabyltatsyya, kurortolohyya, fzyoterapyya.* – 2008. – № 1. – S. 31-34.
8. Podhayetska O.YE. Mekhanizmy poshkodzhennya tkanyn parodonta pry hostromu stressi ta yikh korektsiya za dopomohoyu interval'nykh hipoksychnykh trenuvan: avtoref. dys. na zdobuttya nauk. stupenya kand. med. nauk: spets. 14.03.04 „Patolohichna fiziolohiya” / O.YE. Podhayetska. – Odesa, 2010. – 19 s.
9. Potemina T.Ye. Izmeneniye parametrov semennoy zhidkosti samtsov belykh krysv pri razlichnykh vidakh eksperimental'nogo stressa / T.Ye. Potemina, S.V. Kuznetsova, V.A. Lyalyayev // *Sovremennyye tekhnologii v meditsine.* – 2009. – № 2. – S. 23-26.
10. Ukrainskaya L.A. Stress-indutsirovannaya al'teratsiya legkikh i yeye korektsiya mediatorami i metabolitami stress-limitiruyushchikh sistem: avtoref. dis. na soiskaniye uchen. stepeni kand. biol. nauk: spets. 14.00.16 „Patologicheskaya fiziolohiya”, 03.00.25 „Gistologiya, tsitologiya, kletochnaya biologiya” / L.A. Ukrainskaya. – Irkutsk, 2002. – 17 s.
11. Fomochkina I.I. Metabolichni mekhanizmy rozvytku immobilizatsiynoho stresu ta yikh korektsiya: avtoref. dys. na zdobuttya nauk. stupenya kand. med. nauk: spets. 14.03.04 „Patolohichna fiziolohiya” / I.I. Fomochkina. – Donetsk, 2007. – 20 s.
12. Oishi K. Different effects of immobilization stress on the mRNA expression of antioxidant enzymes in rat peripheral organs / K. Oishi, K. Machida // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 2002. – Vol. 62, № 2. – P. 115-121.

УДК 613.86

ВИКОРИСТАННЯ РІЗНИХ МОДЕЛЕЙ ГОСТРОГО ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ

Коптев М. М.

Резюме. Стрес є виробленою в процесі еволюції сукупністю захисних і ушкоджувальних реакцій організму, які виникають у результаті нейро-ендокринних і метаболічних зрушень у відповідь на дію надзвичайних чи патологічних факторів. Таким чином стрес складає важливу ланку адаптаційного механізму, але за несприятливого перебігу він може стати складовою патогенезу багатьох захворювань. Проблема стресу, не зважаючи на досить тривале вивчення, продовжує залишатися актуальною темою для наукових досліджень. Метою роботи було порівняти різні моделі гострого іммобілізаційного стресу на підставі даних літературних джерел та результатів власних досліджень. Використана дослідниками з Української медичної стоматологічної академії модель дає змогу скоротити час експерименту, не потребує складного обладнання та використання додаткових чинників стресорного впливу. Цей спосіб простий у застосуванні і може бути використаний для проведення досліджень із вивчення впливу іммобілізаційного стресу на організм.

Ключові слова: стрес, іммобілізація, щури.

УДК 613.86

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МОДЕЛЕЙ ОСТРОГО ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Коптев М. М.

Резюме. Стресс является выработанной в процессе эволюции совокупностью защитных и повреждающих реакций организма, которые возникают в результате нейро-эндокринных и метаболіческих сдвигов в ответ на действие чрезвычайных или патологических факторов. Таким образом стресс – важное звено адаптационного механизма, которое при неблагоприятном течении может стать составляющей патогенеза многих заболеваний. Проблема стресса, несмотря на достаточно длительное изучение, продолжает оставаться актуальной темой для научных исследований. Целью работы было сравнить различные модели острого иммобилизационного стресса на основании данных литературных источников и результатов собственных исследований. Исползованная исследователями из Украинской медицинской стоматологической академии модель позволяет сократить время эксперимента, не требует сложного оборудования и использования дополнительных факторов стрессорного воздействия. Этот способ прост в проведении и может быть использован для изучения влияния иммобилизационного стресса на организм.

Ключевые слова: стресс, иммобилизация, крысы.

UDC 613.86

APPLICATION OF VARIOUS MODELS OF ACUTE IMMOBILIZATION STRESS IN EXPERIMENTAL STUDIES

Koptev M. M.

Abstract. Stress is determined as the totality of protective and damaging responses of the organism developed in the evolution process, which are caused by neuro-endocrine and metabolic changes in response to extreme or pathological factors. Thus, stress is an important link of adaptation mechanism, but in case of unfavorable course it can become an integral part of the pathogenesis of many diseases. The problem of stress, despite the long-term study, continues to be relevant for scientific research. Investigation of the acute stress mechanisms and finding the ways to increase resistance to it is one of the current medico-biological problems. Modern experimental studies, that apply various stress models provide solution of mentioned problems.

The aim of the study was to compare different models of acute stress based on the literature data and results of own investigations.

Nowadays, the various experimental models are used to study the morphofunctional changes occurring in the organism on the background of the acute stress effect. For example, to study the pathogenetic mechanisms of stress injury of the lungs the experiments on white female Wistar rats and gray mice of CBU line have been conducted at the Department of Biological Chemistry of the Ukrainian Medical Stomatological Academy. The acute emotional-painful stress in rats was imitated by O. Desiderato et al. method and in mice □ by hanging for cervical fold with atraumatic clamp for 1 hour. Considering the obtained data, it was determined that the lung response to acute stress irritation was manifested by changing of the lipid content in biological membranes, activation of lipid peroxidation processes, depolymerization of connective tissue structures, imbalance in the system of proteolysis – inhibitors of proteolysis, increased permeability of the alveolo-capillary membrane and inhibition of the antimicrobial protection mechanisms in the lungs. The method of Selye was chosen to imitate the experimental model of acute immobilization stress at the Department of Emergency Medicine with Operative Surgery and Topographic Anatomy of the Ukrainian Medical Stomatological Academy. For this purpose non-anesthetized rats were immobilized in the horizontal supine position for 6 hours. The extremities were fixed without skin damages and hemocirculation disorders. The experiment was conducted in the fasted state from 9 till 3 p.m. The advantages of chosen method are its simplicity in performing, possibility to carry out at convenient time, absence of necessity in complex devices for experimental animals fixation. This experimental model is well proven and widely used by modern researchers. Its application has caused the development of pronounced changes in the lungs of rats, hemorrhagic events and microcirculation disorders.

The investigation results have presented the effectiveness of this experimental model for studying of morphological and functional changes that occur in the organism on the background of acute immobilization stress.

Thus, the use of acute stress experimental models by rats immobilization in the horizontal supine position for 6 hours reduces the time of the experimental study, does not require complex equipment and additional stressing factors, enables to fix the animals in comfortable morning time. This method is easy to use and can be applied for research studies concerning the effects of immobilization stress on the body.

Keywords: stress, immobilization, rats.

*Рецензент – проф. Костенко В. О.
Стаття надійшла 27.05.2017 року*