

УДК 615.21:[613.65:612.014.32]-092.9-053

*Л.Т. Киричек, Л.П. Абрамова, Г.Н. Писаренко, А.В. Поляков, А.Ю. Голованова**Харьковский национальный медицинский университет*

СОСТОЯНИЕ СТРЕСС-СТИМУЛИРУЮЩИХ СИСТЕМ У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИИ И ЕГО ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ

Наиболее чувствительные к стрессу гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая и окислительно-антиоксидантная системы у крыс 1–3-месячного возраста сравнительно со взрослыми отличаются более низкой функциональной активностью, с высоким уровнем кортикостероидов в крови, но на иммобилизацию реагируют типичной стрессовой реакцией в виде увеличения продуктов ПОЛ, кортикостероидов и глюкозы крови, которые поддаются более выраженному, чем у взрослых, восстановлению пираретамом.

Ключевые слова: *стресс-стимулирующие системы, иммобилизация, возрастная зависимость, фармакологическая защита, пираретам.*

Незнакомые факторы у детей, особенно младшего возраста, вызывают выраженную отрицательную реакцию, сходную со стрессовой в стадии тревоги. Данные литературы по вопросам «детского» стресса однозначно указывают на зависимость его проявлений от возраста [1], однако описание характера возрастных особенностей психоэмоционального напряжения характеризуется разнонаправленностью. Прежде всего, известно ослабление стресс-реактивности у детей в связи с незрелостью физиологических систем организма, в том числе и систем адаптации [2]. В то же время в период новорожденности уровень кортикостероидов в крови достаточно высокий в связи с родовым стрессом и поступлением через плаценту материнских кортикостероидов [3]. В первые две недели после рождения количество кортикостероидов в крови животных не изменяется, даже при стрессе. У детей в возрасте от одного месяца до трех лет с инфекционно-токсическими нарушениями на фоне ОРВИ, пневмонии или кишечных инфекций отмечена активация процессов перекисления в виде увеличения в сыворотке крови малонового диальдегида (МДА), количество которого возрастает соответственно тяжести неврологической патологии [4]. Согласно теории пренатального происхождения приобретенных при жизни детей заболеваний их происхож-

дение обосновывается неблагоприятными воздействиями на плод в период беременности [5]. В связи с неоднозначностью данных литературы целью работы было изучение в эксперименте реакции стресс-стимулирующих систем у крыс разного возраста на иммобилизационный стресс и возможность ее коррекции введением пираретама.

Материал и методы. Работа выполнена на 64 белых беспородных крысах, сгруппированных по 6 особей по возрасту (1, 2 и 3 месяца), соответствующих им групп интактного контроля, контрольных и иммобилизованных 2-месячных крыс, получавших пираретам, и, соответственно, групп сравнения из взрослых половозрелых животных. Все возрастные группы животных отличались массой тела, которая у 1-месячных составляла 60–80 г, у 2-месячных – 90–100 г, у 3-месячных – 115–130 г и у взрослых крыс – 150–210 г.

Иммобилизация 1–3-месячных животных воспроизводилась путем фиксации их на спине в течение 3 часов, а взрослых крыс – в клетках-пеналах на протяжении 20 часов. О реакции организма на стресс судили по состоянию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и по прооксидантно-антиоксидантному равновесию (ПОЛ-АОЗ), которые первыми отвечают на действие стрессового фактора [6]. Их функциональ-

© Л.Т. Киричек, Л.П. Абрамова, Г.Н. Писаренко и др., 2015

ными показателями были весовые коэффициенты (ВК) зубной железы, надпочечников и селезенки, содержание аскорбиновой кислоты (АК) в надпочечниках, кортикостерона (КС) и глюкозы в сыворотке крови, состояние слизистой оболочки желудка (СОЖ) для гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и уровень диеновых конъюгат (ДК), МДА и активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в крови для системы ПОЛ-АОЗ. Все показатели определялись общепринятыми методами [7].

Пирацетам в экспериментально апробированной дозе 200 мг/кг (взрослым) и 20 мг/кг (2-месячным) вводился однократно внутривентриально за 30 минут до конца иммобилизации.

Цифровые данные сравнивали с данными собственного интактного контроля, с результатами опытов на взрослых крысах, а также между возрастными группами и оценивали статистически методом Стьюдента с поправкой Бонферрони [8].

Результаты и их обсуждение. Полученные данные, отражая в целом низкую функциональную активность изученных стресс-стимулирующих систем у контрольных крыс младшего возраста, вместе с тем по сравне-

нию с данными взрослых крыс характеризовались более высоким весовым коэффициентом зубной железы $[(0,171 \pm 0,040) \%$ против $(0,146 \pm 0,009) \%$] и существенным преобладанием в сыворотке крови уровня КС $[(120,70 \pm 5,39) \text{ нг/л}]$ против $(44,50 \pm 0,76) \text{ нг/л}]$ и количества глюкозы $[(7,22 \pm 1,10) \text{ ммоль/л}]$ против $(4,10 \pm 0,25) \text{ ммоль/л}]$.

После иммобилизации отдельные из изученных показателей изменяются, отражая стрессовую реакцию. Как видно из табл. 1, у 1-месячных крыс она проявляется нарушением окислительного равновесия в виде накопления продуктов ПОЛ и снижения активности антиоксидантных ферментов, при этом количество ДК и активность каталазы превышают их уровень у взрослых иммобилизованных крыс. Аналогичные изменения у крыс этой группы происходят и с глюкозой крови, уровень которой в контроле и под влиянием стресса превышает показатели контроля взрослых крыс. Участие в стрессовой реакции нейрогормональной регуляции менее выражено и отражается только на количестве АК в надпочечниках и КС в сыворотке крови, которые тоже превышают показатели взрослых крыс при иммобилизации, что, вероятно, связано с их преобладанием и в контроле.

Таблица 1. Показатели стресс-стимулирующих систем при иммобилизации у взрослых контрольных и 1-месячных крыс

Показатель	Взрослый контроль		1-месячные крысы	
	интактн.	иммобил.	интактн.	иммобил.
<i>Нейрогормональная регуляция</i>				
ВК, %				
тимуса	$0,146 \pm 0,009$	$0,119 \pm 0,003^*$	$0,166 \pm 0,04$	$0,172 \pm 0,007$
лев н/поч.	$0,020 \pm 0,001$	$0,025 \pm 0,002^*$	$0,013 \pm 0,003$	$0,012 \pm 0,003^v$
пр. н/поч.	$0,019 \pm 0,001$	$0,027 \pm 0,002^*$	$0,013 \pm 0,003$	$0,012 \pm 0,003^v$
селезенки	$0,539 \pm 0,015$	$0,303 \pm 0,020^*$	$0,340 \pm 0,070^\#$	$0,400 \pm 0,090$
АК в н/поч., мг %	$410,00 \pm 13,12$	$305,20 \pm 13,02^*$	$206,00 \pm 25,80^\#$	$214,00 \pm 19,20^v$
КС в сыворотке крови, нг/л	$44,50 \pm 0,76$	$85,50 \pm 0,30^*$	$120,90 \pm 6,17^\#$	$155,8 \pm 13,7^v$
Эозинофилы крови, $\times 10^6/\text{л}$	$218,20 \pm 6,82$	$61,80 \pm 2,55^*$	$119,0 \pm 30,3^\#$	$97,0 \pm 10,9^v$
СОЖ	0	$1,50 \pm 0,34^*$	0	$0,2 \pm 0^v$
<i>Метаболическая регуляция</i>				
ДК, моль/л	$12,60 \pm 0,25$	$13,90 \pm 1,15$	$14,30 \pm 0,81$	$24,20 \pm 2,51^{*v}$
МДА, мкмоль/л	$7,00 \pm 0,21$	$9,40 \pm 0,90^*$	$4,70 \pm 0,03^\#$	$9,10 \pm 1,53^*$
СОД, усл. ед.	$4,60 \pm 0,11$	$3,90 \pm 0,25^*$	$3,50 \pm 0,50$	$3,20 \pm 0,67$
Каталаза, усл. ед.	$4,60 \pm 0,11$	$2,20 \pm 0,28^*$	$2,80 \pm 0,03^\#$	$2,00 \pm 0,05^{*v}$
Глюкоза крови, ммоль/л	$4,10 \pm 0,25$	$6,22 \pm 0,32^*$	$7,01 \pm 0,06$	$9,34 \pm 0,07^{*v}$

Примечание. $p < 0,05$; *по сравнению с собственным контролем; $^\#$ со взрослым контролем, v с иммобилизацией у взрослых крыс.

Здесь и в табл. 2.

Анализ данных, полученных у 2- и 3-месячных крыс, показал, прежде всего, различные темпы развития реагирующих на стресс систем в связи с ростом животных (табл. 2).

высоким уровнем КС, приводящим к эозинопении и гипергликемии.

Учитывая отсутствие у крыс младшего возраста выраженных межвозрастных осо-

Таблица 2. Показатели стресс-стимулирующих систем при иммобилизации у взрослых контрольных 2- и 3-месячных крыс

Показатель	2-месячные крысы		3-месячные крысы	
	интактн.	иммобил.	интактн.	иммобил.
<i>Нейрогормональная регуляция</i>				
ВК, %				
тимуса	0,175±0,040	0,195±0,003 ^v	0,172±0,05	0,169±0,05
лев н/поч.	0,013±0,005	0,011±0,010 ^v	0,010±0 [#]	0,013±0,005 ^v
пр. н/поч.	0,010±0 [#]	0,012±0,003 ^v	0,010±0 [*]	0,013±0,003 [#]
селезенки	0,395±0,020 [#]	0,492±0,060 ^v	0,442±0,09	0,353±0,070 ^v
АК в н/поч., мг %	243,00±37,80	230,0±13,02 ^v	172,0±30,0 [#]	221,0±37,9 [#]
КС в сыворотке крови, нг/л	121,50±3,71	169,7±7,5 ^{#v}	119,6±6,3 ^{#v}	172,0±6,8 ^{#v}
Эозинофилы крови, ×10 ⁶ /л	149,00±3,81 [#]	79,1±5,1 ^{#v}	176,00±2,55 ^{v#}	80,0±12,5 ^{#v}
СОЖ	0	0,35±0 ^{#v}	0	0,4±0,05 ^{#v}
<i>Метаболическая регуляция</i>				
ДК, моль/л	14,30±0,77	27,41±2,43 ^{#v}	14,90±0,37	24,90±3,64 ^{#v}
МДА, мкмоль/л	5,10±0,36 [#]	9,50±0,69 [#]	4,50±0,54 [#]	9,30±1,21 [#]
СОД, усл. ед.	3,95±0,27	2,97±0,36	4,04±0,44	3,29±0,15
Каталаза, усл. ед.	2,89±0,29	2,01±0,39	2,77±0,42	2,15±0,56
Глюкоза крови, ммоль/л	7,43±1,42 [#]	10,88±0,71 ^{#v}	7,23±0,91	10,94±0,74 ^{#v}

Примечание. Данные взрослого контроля см. в табл. 1.

Более реактивной оказалась метаболическая регуляция, показатели которой уже у 2-месячных и тем более у 3-месячных крыс практически достигают контрольного уровня взрослых животных и при их иммобилизации, а в отдельных случаях (ДК, глюкоза) сильнее реагируют на стресс сравнительно с ними.

Нейрогормональная регуляция имеет такие же возрастные особенности, как у 1-месячной крысы, и при иммобилизации подобно им характеризуется повышением КС в сыворотке крови, эозинопенией и нарушением трофики СОЖ (гиперемия, отечность слизистой, небольшое растяжение сухожильной части желудка). Динамика и степень этих нарушений в возрастных группах не имеют между собой статистически достоверных отличий.

Таким образом, несмотря на особенности интактного контроля, у животных младшего возраста на иммобилизацию возникает стрессовая реакция в виде типичных нарушений со стороны стресс-стимулирующих систем, среди которых метаболическая регуляция про- и антиоксидантного равновесия быстрее достигает уровня взрослых животных, а нейрогормональная защита обеспечивается

бенностей в реакции на иммобилизационный стресс, введение пиретама проводили только 2-месячным животным за 30 минут до окончания иммобилизации и сравнивали его действие с действием у взрослых крыс (табл. 3). При этом отмечено восстановление контрольного уровня всех изученных метаболических показателей, которые по сравнению с эффектом пиретама у взрослых крыс отличались не только количественно, но и качественно. У молодых крыс пиретам повышает уровень ДК и МДА, снижает количество глюкозы в крови и практически не отличается по влиянию на активность антиоксидантных ферментов. Из показателей гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы наблюдается нормализация весовых коэффициентов селезенки, уровня аскорбиновой кислоты в надпочечниках и кортикостерона в крови. По сравнению с эффектом пиретама у взрослых крыс эти сдвиги колеблются разнонаправленно и приближаются к уровню иммобилизации. Остальные нейрогормональные показатели, как и у взрослых крыс, под влиянием пиретама изменяются, то есть проявляют тенденцию к восстановлению, без достижения уровня

Таблица 3. Влияние пирacetама на показатели стресс-стимулирующих систем у 2-месячных крыс при иммобилизации

Показатель	Взрослые крысы			2-месячные крысы		
	интактн.	иммобил.	иммобил.+ пирacetам 200 мг/кг	интактн.	иммобил.	иммобил.+ пирacetам 200 мг/кг
<i>Нейрогормональная регуляция</i>						
ВК, %						
тимуса	0,143±0,001	0,099±0,01*	0,121±0,010	0,175±0,040	0,195±0,030*	0,204±0,04 [#]
лев н/поч.	0,021±0,001	0,041±0,001	0,030±0,001* [#]	0,013±0,005	0,011±0,001	0,018±0,003* [#]
пр. н/поч.	0,021±0,001	0,040±0,001*	0,028±0,010* [#]	0,010±0	0,012±0,003	0,019±0,002 ^v
селезенки	0,548±0,011	0,245±0,012*	0,373±0,012* [#]	0,395±0,020	0,482±0,060	0,335±0,06 [#]
АК в н/поч., мг %	411,30±6,78	291,3±10,7*	348,3±10,7* [#]	243,0±37,8	230,0±52,2	134,0±41,2* ^v
КС в сыворотке крови, нг/л	41,80±1,27	91,90±1,27*	49,90±1,27 [#]	121,50±3,71 ^{#v}	169,7±7,9*	140,2±1,2 ^{#v}
Эозинофилы крови, ×10 ⁶ /л	216,00±5,38	54,2±1,9*	111,20±1,92* [#]	149,0±31,8	79,0±15,1*	91,0±2,3
СОЖ	0	2,20±0,31	1,30±0,21* [#]	0	0,35±0*	0,5±0,4 ^v
<i>Метаболическая регуляция</i>						
ДК, моль/л	12,90±0,25	39,20±0,93*	23,9±1,5* [#]	14,4±0,8	27,41±2,43*	16,56±1,56 ^{#v}
МДА, мкмоль/л	7,28±0,21	9,17±0,30*	8,89±0,15*	5,10±0,36	9,50±0,69*	5,10±0,26 ^{#v}
СОД, усл. ед.	4,80±0,10	2,93±0,16*	3,93±0,24* [#]	3,95±0,27	2,97±0,36*	4,05±0,58
Каталаза, усл. ед.	3,48±0,13	1,67±0,15*	3,09±0,15 [#]	2,89±0,29	2,01±0,39	2,93±0,26
Глюкоза крови, ммоль/л	4,02±0,15 [#]	6,44±0,22*	5,52±0,22* [#]	7,43±1,42	10,88±0,71	7,05±0,61 ^{#v}

Примечание. p<0,05; * по сравнению с собственным интактным контролем; # по сравнению с собственной мобилизацией; v по сравнению с пирacetамом у взрослых крыс.

интактного контроля. В целом, животные младшего возраста проявляют большую чувствительность к антистрессовому действию пирacetама, чем взрослые крысы [9], что отражает общую фармакологическую закономерность в педиатрии.

Выводы

1. Изученные стресс-стимулирующие системы у животных младшего возраста (1–3 месяца) по сравнению со взрослыми характеризуются в целом более низкой функциональной активностью, но более выраженной адаптогенностью по состоянию ти-

мико-лимфатических и кортико-надпочечниковых показателей.

2. Иммобилизация у крыс младшего возраста вызывает типичную стрессовую реакцию в виде сдвига со стороны окислительного равновесия за счет повышения активных продуктов ПОЛ, что стабильно воспроизводится у животных всех возрастных групп.

3. Пирacetам (20 мг/кг) в условиях иммобилизационного стресса у крыс младшего возраста проявляет стресс-протекторное действие, отражая их более высокую чувствительность к фармакотерапии по сравнению со взрослыми животными.

Литература

1. Барабой В.А. Фізіологія, біохімія і психологія стресу / В.А. Барабой, О.Г. Резников. – К.: Інтерсервіс, 2013. – С. 27–28.
2. Фролькіс В.В. Стресс – возраст – синдром / В.В. Фролькіс // Фізіологічний журнал. – 1991. – № 3. – С. 3–10.
3. Маркова И.В. Педиатрическая фармакология / И.В. Маркова, В.И. Калиничева. – Л.: Медицина, Ленингр. отд., 1980. – С. 152.
4. Бадалян Л.О. Состояние перекисного окисления липидов при инфекционно-токсических поражениях нервной системы у детей раннего возраста / Л.О. Бадалян, И.Т. Ильчук, Л.И. Берестов // Педиатрия. – 1983. – № 12. – С. 23–25.

5. Сергієнко Л.Ю. Ранній онтогенез – період «програмування» ендокринних та гормонально-залежних патологій / Л.Ю. Сергієнко // 8-мі Данилевські читання. – Харків, 2009. – С. 11–16.
6. Барабой В.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / В.А. Барабой, Д.А. Сутковой. – К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. – С. 112–116.
7. Лабораторные методики для изучения состояния антиоксидантной системы и уровня перекисного окисления липидов / Н.Г. Щербань, Т.В. Горбач, Н.Г. Гусева и др. – Харьков: ХГМУ, 2004. – 36 с.
8. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
9. Клінічна фармакологія: Підручник / О.М. Біловол, О.Ф. Возіанов, І.К. Латогуз та ін. / за ред. О.М. Біловола, І.К. Латогуза, А.Я. Циганенка: В 2 т. – К.: Здоров'я, 2005. – С. 113–143.

Л.Т. Киричок, Л.П. Абрамова, Г.М. Писаренко, О.В. Поляков, А.Ю. Голованова
СТАН СТРЕС-СТИМУЛЮЮЧИХ СИСТЕМ У ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ПРИ ІММОБІЛІЗАЦІЇ ТА ЙОГО ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ

Найбільш чутливі до стресу гіпоталамо-гіпофізарно-надниркова та окиснювально-антиоксидантна системи у щурів 1–3-місячного віку порівняно із дорослими відрізняються більш низькою функціональною активністю з високим рівнем кортикостероїдів у крові, але на іммобілізацію реагують типовою стресовою реакцією у вигляді збільшення продуктів ПОЛ, кортикостероїдів і глюкози крові, які піддаються більш вираженому, ніж у дорослих, відновленню пірацетамом.

Ключові слова: стрес-стимулюючі системи, іммобілізація, вікова залежність, фармакологічна корекція, пірацетам.

L.T. Kirichek, L.P. Abramova, G.N. Pisarenko, A.V. Polyakov, A.Yu. Golovanova
STATUS OF RAT'S STRESS-STIMULATING SYSTEMS OF DIFFERENT AGES IN THE IMMOBILIZATION AND PHARMACOLOGICAL CORRECTION

The most sensitive to the stress are hypothalamic-pituitary-adrenal and oxidation-antioxidant systems in 1–3 months age rats, compared with adult rats, are lower functional activity with high level of corticosteroids in blood, but for immobilization are responsible in increased level of lipid peroxidation products, corticosteroids and glucose in the blood. It gives in to more expressed restoration by piracetam than adult rats.

Key words: stress-stimulating system, immobilization, age dependency, pharmacological protection, piracetam.

Поступила 21.08.15