УДК: 616.45-001.1/.3-092-06:616.1/4-053.7-055-092.9

ПОВРЕЖДАЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА НА ОРГАНИЗМ МОЛОДЫХ ЖИВОТНЫХ РАЗНОГО ПОЛА

И.Р. МИЦ, О.В. ДЕНЕФИЛЬ, А.П. АНДРИИШИН
ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МЗО Украины», Украина, г. Тернополь

ҲАР ХИЛ ЖИНСДАГИ ЁШ ҲАЙВОНЛАР ОРГАНИЗМИГА СУРУНКАЛИ ПСИХОЭМОЦИОНАЛ СТРЕССНИНГ САЛБИЙ ТАЪСИРИ

И.Р. МИЦ, О.В. ДЕНЕФИЛЬ, А.П. АНДРИИШИН
И.Я. Горбачевский номидаги Тернополь Давлат університети, Украина, Тернополь

THE DAMAGING EFFECTS OF CHRONIC PSYCHO-EMOTIONAL STRESS ON THE BODY OF YOUNG ANIMALS OF DIFFERENT SEXES

I.R. MITS, O.V. DENEFIL, O.P. ANDRIYISHIN
SHEE «Ternopil State Medical University named by I.Ya. Horbachevskiy MHP Ukraine», Ukraine, Ternopil

Тадқиқот ишида ҳар хил жинсдаги ёш каламушлар организмига сурункали пренатал, постнатал ва комбинациялашган стресс таъсири ўрганилди. Стресс юракда липидлар перекисли оксидланишини ниҳоятда фаоллаштиради. Юракдаги минимал морфологик ўзгаришлар пренатал стресс билан эркак каламушларда, максимал эса комбинациялашган стресс билан урғочи каламушларда аниқланди. Сурункали стрессда бўлган барча ҳайвонларда иммунитетнинг гуморал звеноси фаоллашади, эркак каламушларда бу жараён пренатал стрессда кўпроқ намоён бўлади. Иммуноглобулинлар ва циркуляциядаги иммун комплексларнинг ошиши сурункали яллиғланиш касаллиги, аутоиммун касалликлар ривожланишидан дарак беради, хусусан эндокрин тизим аъзоларида.

Калит сўзлар: *дистресс, каламушлар, юрак, липидларнинг перекисли оксидланиши, иммунитет, эндокрин тизим.*

It was investigated the effects of chronic prenatal, postnatal and combined stress on the body of young rats of different sex. Stress causes significant activation of lipid peroxidation in the the heart. Minimal morphological changes were found in males with prenatal stress, the maximal – in females with combined stress. In all animals with chronic stress was activates humoral immunity, in males the maximum increase observed during prenatal stress. Increasing the immunoglobulins and circulated immune complexes may be predictor of the development of chronic inflammatory diseases, autoimmune diseases in the organs of endocrine system.

Keywords: *distress, rat, heart, lipid peroxidation, immune system, endocrine system.*

Актуальность проблемы. Последним временем возрастает важность изучения влияния стресса на организм человека. Тревожность, страх, умственное и физическое переутомление, гиподинамия вызывают нейро-гуморальные измениения, которые приводят к развитию заболеваний, таких как ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, язвенная болезнь желудка, неврозы, острое воспаление, опухолевый рост [1,5,8,11]. Пренатальный стресс увеличивает концентрацию кортизола [14], ранний постнатальный стресс вызывает нарушение деятельности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси у подростков [9]. Стресс по-разному влияет на лиц мужского и женского пола разного возраста [2,7]. Пренатальный стресс имеет большее повреждающее действие на лиц мужского пола, постнатальный – на женского [13]. При обеих видах стресса страждает сердечно-сосудистая система [12]. Пренатальный стресс вызывает эпигенетические изменения в эмбриональном рецепторе гена глюкокортикоидов; способствует развитию аллергической иммунной реакции [13]. У пренатально стресированного потомства увеличено число воспалительных заболеваний [8], у самцов нарушается выработка тестостерона [6], у самок – повышается риск развития бесплодия [10]. Хронический стресс приводит к инволюции тимуса, увеличению массы надпочечников [7]. Независимо от вида стресса у крыс возникают соматические и нейроендокринные изменения организма [15].

Материалы и методы. Исследования выполнены на 44 беспородистых половозрелых крысах-самцах и 48 самках возрастом 3 месяца. Пренатальный стресс вызывали у беременных самок по стандартной методике [1]. Постнатальный стресс вызывали с 1,5 до 3 месяцев, размещая животных в клетках с ограниченным жизненным пространством. В день эксперимента крыс фиксировали один час спинкой вниз. При комбинированном стрессе использовали обе методики. Эвтаназию крыс проводили путём тотального кровоиспускания из сердца после

предыдущего внутрибрюшинного введения тиопентал-натриевого наркоза (60 мг·кг$^{-1}$ массы). Для дальнейшего исследования забирали кровь и сердце. В гомогенате сердца определяли концентрацию продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновых конъюгатов (ДК) [2] и продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП) по методу И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили (1977) [4], в крови определяли содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) [3], концентрации Ig A, M, G [5]. Для гистологического исследования забирали сердце, тимус, надпочечники, щитовидную железу, яички или яичники. Микропрепараты окрашивали гематоксилином и эозином. Опыты выполнены согласно норм Конвенции Совета Европы о защите позвоночных животных, которые используются для исследований и других научных целей (Страсбург, 18.03.1986 г.), решений Первого национального конгресса по биоэтике (Киев, 2001) и приказа МЗО Украины № 690 от 23.09.2009 г. Статистическую обработку цифровых данных выполнено в отделе системных статистических исследований ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МЗО Украины» с помощью программного обеспечения «STATISTICA» 10.0 («Statsoft», США) с использованием непараметрических методов оценки полученных реультатов.

Результаты. В сердце интактных животных наблюдались половые различия между показателями ПОЛ (табл. 1): у самцов были большими концентрация ДК на 7,09 % ($p<0,01$) и ТБК-АП на 5,36 % ($p<0,02$). При всех используемых нами моделях стресса у крыс независимо от пола значительно активизировались процессы ПОЛ. Так, ДК возросли у самцов с пренатальным стрессом по сравнению с контролем на 53,09 % ($p<0,001$), с постнатальным – на 44,42 % ($p<0,001$), с комбинированным – на 56,15 % ($p<0,001$). У самок с пренатальным стрессом ДК увеличились на 65,66 % ($p<0,001$), с постнатальным – на 66,31 % ($p<0,001$), с комбинированным – на 48,89 % ($p<0,001$). Исчезали половые различия между животными. Концентрация ТБК-АП тоже увеличилась при всех видах стресса. У самцов с пренатальным стрессом по сравнению с контролем содержание ТБК-АП возросло на 124,05 % ($p<0,001$), с постнатальным – на 85,86 % ($p<0,001$), с комбинированным – на 136,29 % ($p<0,001$). У самок концентрация ТБК-АП увеличилась по сравнению с контролем соответственно на 158,82 % ($p<0,001$), на 197,28 % ($p<0,001$) и на 132,35 % ($p<0,002$). У самок крыс с постнатальным стрессом было на 49,15 % ($p<0,05$) большее значения ТБК-АП по сравнению с самцами. Так как выявлено активацию процессов ПОЛ при всех исследуемых видах хронического стресса, то следующим этапом был анализ микропрепаратов сердца.

В сердце крыс с пренатальным стрессом было обнаружено умеренное расширение элементов гемомикроциркуляторного русла. В их просветах наблюдалось небольшое количество форменных элементов крови. Периваскулярные пространства были обычными. Сократительные кардиомиоциты сохраняли обычную форму и расположение. В некоторых клетках эухроматические ядра хорошо контурировались на фоне неравномерно просветлённой саркоплазмы. В нешироких прослойках соединительной ткани между мышечными волокнами хорошо были видны фибробласты и фиброциты. В сердечной мышце самок описанные изменения были значительнее, чем у самцов (рис. 1).

В гистологических препаратах сердца животных с постнатальным стрессом расширение компонентов микроциркуляторного русла было выражено больше, просветы часто были заполнены форменными элементами крови. Периваскулярные пространства были незначительно расширены и просветлены. Больше выявлялось изменённых клеток, их ядра содержали больше гетерохроматина по сравнению с контролем. Выявленные изменения были более выражены у самцов (рис. 2).

Комбинированный стресс вызвал максимальные изменения в миокарде. Значительное расширение элементов гемомикроциркуляторного русла и их кровенаполнение сопровождалось выходом форменных элементов крови из сосудистого русла. Наблюдалась лимфогистиоцитарная инфильтрация просветлённых периваскулярных пространств. Изменения в миокарде характеризировались наличием мелкоочаговых участков изменённых клеток, местами они сливались. Описанные изменения более выражены были в миокарде самок (рис. 3).

Следующим этапом работы было определить степень изменения иммуннологического состояния организма и спрогнозировать возможность развития патологии в организме, подвергающимся влиянию стресса. В контроле у крыс разного пола показатели иммунологического состояния организма (ЦИК, Ig A, Ig M и Ig G) существенно не отличались между собой (табл. 2). После стресса у всех животных увеличилось содержание ЦИК. У самцов с пренатальным стрессом они возрасли в 1,75 раза ($p<0,001$), с постнатальным – в 1,44 раза ($p<0,002$), с комбинованным – в 1,85 раза ($p<0,001$). Самыми низкими значения ЦИК были при постнатальном

стрессе (по сравнению с пренатальным – на 20,90 % ($p<0,05$), с комбинированным – на 28,36 %, ($p<0,01$)). У самок эти показатели были выше при разных видах стресса соответственно в 2,16 раза ($p<0,001$), в 2,07 раза ($p<0,001$) и в 2,06 раза ($p<0,001$). Отмечены половые различия в содержании ЦИК: у самок с постнатальным стрессом они больше на 29,58 % ($p<0,02$).

Таблица 1.

Изменения показателей перекисного окисления липидов, вызванные стрессом, в сердце животных разного пола

Пол	Контроль (самцы – n=10, самки – n=10)	Вид стресса		
		Пренатальный (самцы n=12, самки n=12)	Постнатальный (самцы n=12, самки n=12)	Комбинованный (самцы n=12, самки n=12)
Диеновые конъюгаты, $\cdot 10^3$ усл. ед./кг				
Самцы	0,317±0,004	0,485±0,014*	0,458±0,023*	0,495±0,031*
Самки	0,296±0,006#	0,491±0,015*	0,493±0,022*	0,441±0,023*
ТБК-активные продукты, мкмоль/кг				
Самцы	0,474±0,020	1,062±0,125*	0,881±0,094*	1,120±0,097*
Самки	0,442±0,018	1,144±0,150*	1,314±0,150*,#	1,027±0,135*

Примечание: тут и в следующих таблицах 1. * –достоверные показатели по сравнению с контролем;
2. ** – достоверные показатели, по сравнению с пренатальным стресом;
3. ## – достоверные показатели, по сравнению с постнатальным стресом;
4. # –достоверные показатели, по сравнению с самками.

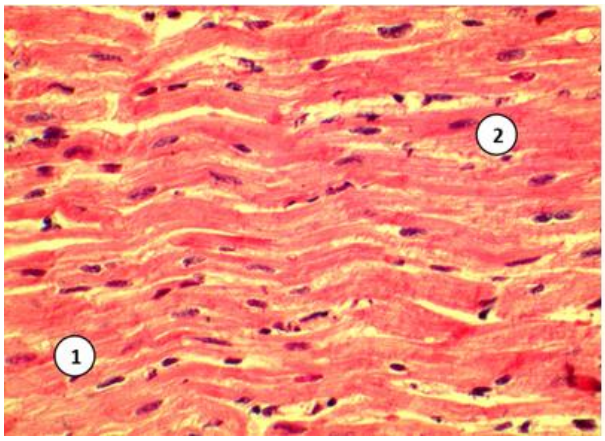

Рис. 1. Фрагмент миокарда самки с пренатальным стрессом. Окр. гематоксилин-эозином. Ув. ок.8 Х об. 20. 1 – просвет гемокапилляра с форменными элементами крови, 2 – неравномерное просветление саркоплазмы кардиомиоцитов.

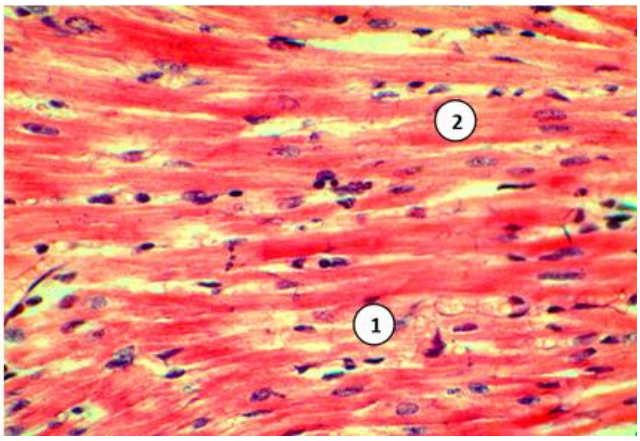

Рис. 2. Фрагмент миокарда крысы самца с постнатальным стрессом. Окр. гематоксилином и эозином. Ув. ок.8 Х об. 20. 1 – скопление форменных элементов крови в просвете гемокапилляра, 2 – тинкториальная неоднородность сократительных кардиомиоцитов.

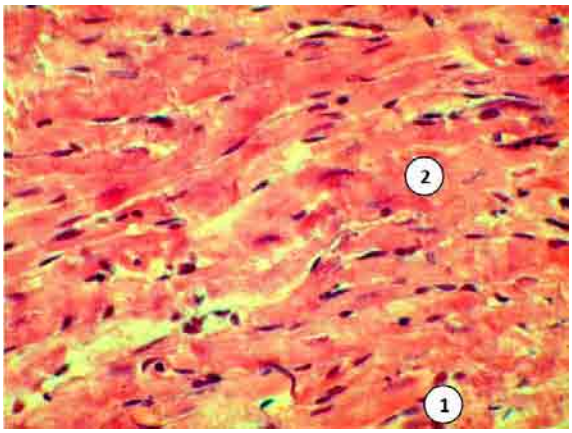

Рис. 3. Изменения в миокарде крысы самки с комбинованным стрессом. Окр. гематоксилином и эозином. Ув. ок.8 Х об. 20. 1 – выраженное кровенаполнение гемокапилляра, 2 – сократительные кардиомиоциты.

Таблиця 2.

Изменения показателей гуморального иммунитета, вызванные стрессом, в крови животных разного пола

Пол	Контроль (самцы – n=10, самки – n=10)	Вид стресса		
		Пренатальный (самцы – n=12, самки – n=12)	Постнатальный (самцы – n=12, самки – n=12)	Комбинованный (самцы – n=10, самки – n=14)
ЦИК, усл. ед.				
Самцы	77,80±4,39	135,92±6,98*	112,42±7,77*,**	144,30±4,29$^{*,\#\#}$
Самки	70,40±3,01	151,92±8,27*	145,67±10,43$^{*,\#}$	145,00±7,51*
Ig A, г/л				
Самцы	0,254±0,006	0,697±0,037*	0,511±0,069*,**	0,565±0,044*,**
Самки	0,263±0,009	0,644±0,023*	0,580±0,044*	0,658±0,031*
Ig M, г/л				
Самцы	0,505±0,082	0,871±0,024*	0,744±0,040*,**	0,738±0,029*,**
Самки	0,489±0,023	0,875±0,015*	0,815±0,049*	0,832±0,021$^{*,\#}$
Ig G, г/л				
Самцы	1,132±0,0274	1,721±0,054*	1,470±0,061*,**	1,456±0,055*,**
Самки	1,109±0,029	1,562±0,110*	1,576±0,057*	1,537±0,061*

У всех стрессированных крыс возросла концентрация иммуноглобулинов. У самцов с пренатальным стрессом Ig A увеличились в 2,74 раза ($p<0,001$), с постнатальным – в 2,01 раза ($p<0,01$), с комбинированным – в 2,22 раза ($p<0,001$). Значения Ig A у самцов были максимальными при пренатальном стрессе (разница с постнатальным – 36,40 % ($p<0,05$), с комбинированным – 23,36 %, ($p<0,05$)). У самок наблюдалось увеличение Ig A при разных видах стресса соответствнно в 2,45 раза ($p<0,001$), в 2,20 раза ($p<0,001$) и в 2,50 раза ($p<0,001$).

У самцов с пренатальным стрессом содержание Ig M возросло в 1,72 раза ($p<0,001$), с постнатальным – в 1,47 раза ($p<0,001$), с комбинированным – в 1,46 раза ($p<0,001$). Значения Ig M у самцов были максимальными при пренатальном стрессе (разница с постнатальным – 17,07 % ($p<0,01$), с комбинированным – 18,02 %, ($p<0,001$)). У самок увеличилась концентрация Ig M при разных видах стресса соответственно в 1,79 раза ($p<0,001$), в 1,67 раза ($p<0,001$) и в 1,70 раза ($p<0,001$). Наблюдались половые различия в содержании Ig M при комбинированном стрессе: значения были больше на 12,74 % ($p<0,02$) у самок. У самцов с пренатальным стрессом Ig G увеличились в 1,52 раза ($p<0,001$), с постнатальным – в 1,30 раза ($p<0,01$), с комбинированным – в 1,29 раза ($p<0,01$). Значения Ig G у самцов были максимальными при пренатальном стрессе (разница с постнатальным – 17,07 % ($p<0,01$), с комбинированным – 18,20 %, ($p<0,001$)). У самок Ig G увеличивался соответственно в 1,41 раза ($p<0,002$), в 1,42 раза ($p<0,001$) и в 1,39 раза ($p<0,001$).

Полученные результаты свидетельствуют о нарушении иммунологического статуса, ведущему к увеличению риска развития аутоиммунных заболеваний у стрессированных животных.

В тимусе обнаружены признаки инволюции в виде уменьшения количества лимфоцитов, их вакуольная дистрофия, больше всего выраженная у самцов с пренатальным стрессом. Интенсивность окрашивания коллоида в фолликулах щитовидной железы уменьшалась, а при комбинированном стрессе, особенно у самок, наблюдалась лимфоцитарная инфильтрация паренхимы органа. В надпочечниках интенсивность окрашивания клубочковой и пучковой зон изменялась, клетки первой становились светлее по сравнению с контролем, а второй – окрашывались несколько интенсивнее, за счет чего наблюдалось сглаживание зон коры.

Капсулы яичников были утолщены, сосуды микроциркуляторного русла кровенаполены, выявлялась лимфогистиоцитарная инфильтрация паренхимы. В корковом веществе наряду с третичными фолликулами были кистозно измененные фолликулы. Морфологические изменения были максимальными у самок с комбинированным стрессом. Капсулы яичек были тоже незначительно утолщены, сосуды кровенаполнены, в просвете извитых канальцев не обнаруживались зрелые сперматозоиды.

Выводы. 1. Хронический пренатальный, постнатальный и комбинированный стресс вызывает значительную активацию перекисного окисления липидов в серце животных разного пола. Минимальные морфологические изменения выявлены у самцов с пренатальным стрессом, максимальные – у самок с комбинированным стрессом. 2. У всех животных с хроническим стрессом активизируется гуморальное звено иммунитета, у самцов это наиболее выражено

при пренатальном стрессе. Повышение иммуноглобулинов и циркулирующих иммунных комплексов может быть прогностическим критерием развития хронических воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, в частности в органах эндокринной системы.

Литература:

1. Абрамов А.В. Состояние толерантности к глюкозе у самцов, перенесших хронический пренатальный стресс / Абрамов А.В., Колесник Ю.М., Тихоновская М.А. // Запорожский медицинский журнал. – 2004. – № 6. – С. 38-41.
2. Гриневич Ю.А. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных / Ю. А. Гриневич, А. М. Алферов // Лабораторное дело. – 1981. – № 8. – С. 493-495.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. Авіценна, 2001. 528 с.
4. Чернушенко Е.Ф. Иммунологические исследования в клинике / Е.Ф. Чернушенко, Л.С. Когосова. – К.: Здоров'я, 1978. – 159 с.
5. Barrett E.S. Stress and Androgen Activity During Fetal Development / Barrett E.S., Swan S.H. // Endocrinology. – 2015. – Vol. 156 (10). – P. 3435-3441.
6. Chronic subordinate colony housing (CSC) as a model of chronic psychosocial stress in male rats / Nyuyki K.D., Beiderbeck D.I., Lukas M. [et al.] // PLoS One. – 2012. – Vol. 7 (12). – e52371.
7. Fishmeal supplementation during ovine pregnancy and lactation protects against maternal stress-induced programming of the offspring immune system / Fisher-Heffernan R.E., Or'Rashid M.M., Al-Zahal O. [et al.] // BMC Vet. Res. – 2015. – Vol. 11. – P. 266.
8. Individual differences in early adolescents' latent trait cortisol (LTC): Relation to recent acute and chronic stress / Stroud C.B., Chen F.R., Doane L.D., Granger D.A. // Psychoneuroendocrinology. – 2016. – Vol. 70. – P. 38-46.
9. Maternal stress before and during pregnancy and subsequent infertility in daughters: a nationwide population-based cohort study / Plana-Ripoll O., Li J., Kesmodel U.S. [et al.] // Hum Reprod. – 2016. – Vol. 31 (2). – P. 454-62.
10.Parswani M.J. Mindfulness-based stress reduction program in coronary heart disease: A randomized control trial / Parswani M.J., Sharma M.P., Iyengar S. // Int. J. Yoga. – 2013. – Vol. 6 (2). – P. 111-117.
11.Prenatal maternal bereavement and congenital heart defects in offspring: a registry-based study / Zhu J.L., Olsen J., Sørensen H.T. [et al.] // Pediatrics. – 2013. – Vol. 131 (4). – P. 1225-1230.
12.Prenatal Stress, Prematurity, and Asthma / Medsker B., Forno E., Simhan H., Celedón J.C. // Obstet. Gynecol. Surv. – 2015. – Vol. 70 (12). – P. 773-779.
13.Prenatal transportation stress alters temperament and serum cortisol concentrations in suckling Brahman calves / Littlejohn B.P., Price D.M., Banta J.P. [et al.] // J. Anim. Sci. – 2016. – Vol. 94 (2). – P. 602-609.
14.Sex-specific effects of prenatal stress on glucose homoeostasis and peripheral metabolism in rats / Brunton P.J., Sullivan K.M., Kerrigan D. [et al.] // J. Endocrinol. – 2013. – Vol. 217 (2). – P. 161-173.
15.Stress vulnerability during adolescence: comparison of chronic stressors in adolescent and adult rats. / Duarte J.O., Cruz F.C., Leão R.M. [et al.] // Psychosom. Med. – 2015. – Vol. 77 (2). – P. 186-199.

ПОВРЕЖДАЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА НА ОРГАНИЗМ МОЛОДЫХ ЖИВОТНЫХ РАЗНОГО ПОЛА

И.Р. МИЦ, О.В. ДЕНЕФИЛЬ,
А.П. АНДРИИШИН

ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МЗО Украины», Украина, г. Тернополь

Изучено влияние хронического пренатального, постнатального и комбинированного стресса на организм молодых крыс разного пола. Стресс вызывает значительную активацию перекисного окисления липидов в серце. Минимальные морфологические изменения в сердце выявлены у самцов с пренатальным стрессом, максимальные – у самок с комбинированным стрессом. У всех животных с хроническим стрессом активизируется гуморальное звено иммунитета, у самцов это наиболее выражено при пренатальном стрессе. Повышение иммуноглобулинов и циркулирующих иммунных комплексов может быть прогностическим критерием развития хронических воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, в частности в органах эндокринной системы.

Ключевые слова: *дистресс, крысы, сердце, перекисное окисление липидов, иммунитет, эндокринная система.*