

УДК.57.024

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕТАБОЛИЗМА КОЛЛАГЕНА У КРЫС С РАЗЛИЧНЫМ ЭМОЦИОНАЛЬНЫМ СТАТУСОМ ПРИ ОСТРОМ СТРЕССЕ

Подковкин В.Г., Иванов Д.Г.

Самарский государственный университет, Самара

Подробная информация об авторах размещена на сайте

«Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

В работе исследовалось изменение метаболизма коллагена при остром стрессе у крыс с различным эмоциональным статусом. Острый стресс индуцировали, помещая животных в пластиковые камеры с отверстием для доступа воздуха на 1 час, 2,5 часа и 6 часов. Наблюдалось различие в реакции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и динамике показателей метаболизма коллагена у крыс с разным эмоциональным статусом.

Введение

В последнее время усилилось давление стресса на живые организмы. Поэтому исследования, посвященные адаптационным возможностям человека и животных, не теряют своей актуальности. Интерес представляют как реакции организма на долгосрочное действие экстремальных факторов среды, так и изменения, происходящие в нем при остром стрессе.

В настоящее время реакция гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой (ГГНС) и симпато-адреналовой (САС) систем в условиях стресса, а также риск развития патологий желудочно-кишечного тракта, сердечной-сосудистой и дыхательной систем освещены достаточно полно [1,2,3]. В то время как морфофункциональное состояние соединительной ткани, и в частности костной ткани, при остром стрессе остается недостаточно исследованным. Ранее нами было показано, что изменение метаболизма коллагена при действии повышенной температуры среды протекает на фоне повышенной активности коры надпочечников и является результатом системной реакции организма на экстремальные условия [7].

В последнее время общепринятой является точка зрения, согласно которой реакция организма на действие стрессора зависит от индивидуальных особенностей нервной системы. В этой связи, метаболизм соединительной ткани в условиях

стресса необходимо исследовать с учетом индивидуальных особенностей животных, которые зачастую выражаются в поведенческих реакциях организма. Поэтому целью настоящей работы было проанализировать изменение метаболизма коллагена при остром стрессе у крыс с различным эмоциональным статусом.

Материалы и методы

Эксперимент выполнен на 52 белых беспородных крысах массой 110-150 г. Процедуры над животными проводились в соответствии с международными правилами работы с лабораторными животными [4].

Согласно цели эксперимента крысы были разделены на четыре группы. Животные трех опытных групп однократно подвергались действию стрессирующего фактора в течение 1 часа, 2,5 часов и 6 часов. Для этого животных помещали в пластмассовые цилиндрические камеры с отверстиями для доступа воздуха, размер которых как в длину, так и в диаметре превышает размеры животного на 0,5 – 1 см. Это позволяло животному переворачиваться внутри камеры и свободно изменять свою позу. То есть, данный способ воздействия не являлся иммобилизацией. Группа интактных животных служила контролем.

Не позднее, чем за 10 дней до введения животных в эксперимент определяли эмоциональный статус крыс в тесте «Открытое поле» [5] по общему числу уриаций и дефекаций. Группы формиро-

вали методом парных аналогов так, чтобы в каждой группе оказалось равное количество животных с различной эмоциональностью. Вместе с этим крыс рандомизировали по массе (табл.1).

Животных выводили из эксперимента путем декапитации сразу же после истечения сроков действия стрессирующего фактора. Плазму для биохимического

анализа собирали с 5% раствором ЭДТА. Надпочечники взвешивали и рассчитывали относительную массу желез. Содержание 11-оксикортикостероидов (11-ОКС) определяли по методу Ю.А. Панкова, И.Я. Усватовой, в модификации В.Г. Подковкина [6]. Свободный и белковосвязанный оксипролин определяли по реакции с *n*-диметиламинобензальдегидом [8].

Таблица 1. Эмоциональный статус и масса крыс составляющих экспериментальные группы

Группа	Показатель	Высоко-эмоциональные	Низко-эмоциональные	Всего
Контроль	Число особей в группе, шт	6	10	16
	Эмоциональный статус	4,66±0,33	1,00±0,44	2,38±0,73
	Масса, г	144,60±11,90	134,18±12,69	138,09±8,74
1 час	Число особей в группе, шт	6	8	14
	Эмоциональный статус	5,00±0,56	0,25±0,25	2,29±0,99
	Масса, г	128,43±10,97	131,2±9,48	130,01±17,39
2,5 часа	Число особей в группе, шт	4	10	14
	Эмоциональный статус	5,5±0,5	0,8±0,37	2,14±2,41
	Масса, г	134,6±3,9	126,18±17,07	128,59±31,52
6 часов	Число особей в группе, шт	6	8	14
	Эмоциональный статус	4,33±0,88	1,00±0,58	2,43±2,15
	Масса, г	128,87±1,90	143,90±11,51	137,47±18,26

Проверку результатов на нормальное распределение проводили с помощью критерия Шапиро-Уилкинса. Средние результаты в группах сравнивались помощью стандартного *t*-критерия Стьюдента [8]

Результаты исследования

Помещение животных в камеры приводило к развитию стрессовой реакции, которая обнаруживалась по увеличению массы надпочечников и повышению уровня 11-ОКС в крови крыс (табл. 2).

Как видно из результатов, приведенных в таблице 2, средняя концентрация 11-ОКС в крови крыс увеличивалась уже через час после помещения животного в камеру, и оставалась на том же уровне до 2,5 часов. У животных, находившихся в камере 6 часов, содержание 11-ОКС снижалось до первоначального уровня. Аналогичную

динамику изменения имела и относительная масса надпочечников.

У крыс с различным эмоциональным статусом функция коры надпочечников при помещении в камеру изменялась неодинаково. Так, у крыс с низкой эмоциональностью максимальная активность коры надпочечников была отмечена через 1 час после помещения в камеру, в то время как у животных с высокой эмоциональностью реакция со стороны ГНС не обнаруживалась. Через 2,5 часа пребывания в камере у крыс с низким эмоциональным статусом уровень 11-ОКС в крови несколько снижался относительно максимума и не изменялся вплоть до 6 часов, оставаясь, тем не менее, выше значений этого показателя у контрольных животных.

Таблица 2. Изменение уровня 11-оксикортикостероидов в крови и относительной массы надпочечников у крыс с различным эмоциональным статусом

Время воздействия	Уровень 11-ОКС, мкг/мл			Относительная масса надпочечников, %		
	Все особи	Низко-эмоциональные	Высоко-эмоциональные	Все особи	Низко-эмоциональные	Высоко-эмоциональные
0 часов (Контроль)	1,62±0,17	1,51±0,09	1,79±0,44	0,016±0,001	0,018±0,002	0,017±0,003
1 час	2,45±0,35*	2,98±0,50*	1,74±0,33	0,022±0,001*	0,024±0,001*	0,013±0,003
2,5 часа	2,50±0,25*	2,22±0,30	2,92±0,35*	0,021±0,002*	0,017±0,001	0,021±0,004
6 часов	1,85±0,12	2,01±0,12*	1,53±0,19	0,020±0,001*	0,019±0,001	0,020±0,001

* - отличие от контроля статистически значимо, $p < 0.05$

Максимум активности коры надпочечников у крыс с высоким эмоциональным статусом отмечался через 2,5 часа пребывания в камере. После этого уровень 11-ОКС в крови и относительная масса надпочечников снижались и достигали первоначальных значений к 6 часам экспериментального воздействия.

По мере нахождения в камере у животных активизировались процессы дегра-

дации коллагена, что приводило к увеличению уровня свободного оксипролина в крови, через 2,5 часа после введения крыс в эксперимент (табл. 3). Изменение содержания в крови животных белковосвязанного оксипролина - маркера синтеза коллагена, в это время обнаружено не было. У животных, находившихся в камере в течение 6 часов, наблюдалось снижение обоих показателей.

Таблица 3. Изменение содержания оксипролина в плазме крови при остром стрессе у крыс с различным эмоциональным статусом

Время воздействия	Содержание оксипролина, мкг/мл					
	Свободный			Белковосвязанный		
	Все особи	Низко-эмоциональные	Высоко-эмоциональные	Все особи	Низко-эмоциональные	Высоко-эмоциональные
0 часов (Контроль)	1,57±0,06	1,54±0,09	1,61±0,08	26,37±2,13	25,91±2,75	27,14±3,66
1 час	1,71±0,13	1,53±0,07	1,96±0,26*	25,74±2,33	22,68±1,95	29,83±4,47
2,5 часа	2,35±0,32*	1,82±0,24	1,94±0,12*	24,69±2,16	27,79±0,68	21,59±3,85
6 часов	1,22±0,04*	1,23±0,04*	1,19±0,10*	18,89±1,48*	21,02±1,71	14,63±1,12*

* - отличие от контроля статистически значимо, $p < 0.05$

У крыс с различным эмоциональным статусом динамика изменения свободного и белковосвязанного оксипролина отличалась от общей тенденции. У низкоэмоциональных животных статистически значимых изменений показателя обмена коллагена в крови не обнаружилось в течение 2,5 часов эксперимента. В результа-

те 6 часов действия стрессорного фактора у них наблюдалось снижение уровня свободного оксипролина в крови. Напротив, у животных с высокой эмоциональностью содержание оксипролина нарастало в течение 1 часа пребывания в камере и оставалось неизменным вплоть до 2,5 часов эксперимента. После этого значения пока-

зателя снижались и у животных, находившихся в камере 6 часов, были достоверно ниже, чем у контрольных крыс.

Изменения активности процессов синтеза коллагена определяемое по уровню белковосвязанного оксипролина обнаруживалось только у высоко эмоциональных животных, находившихся в камерах 6 часов.

Обсуждение

В результате произведенного в эксперименте воздействия у животных усиливалась функциональная активность ГГНС и развивалась стресс-реакция. Учитывая то, что динамика изменения активности коры надпочечников у крыс с различным эмоциональным статусом была неодинакова, а также относительно короткие сроки нахождения животных в камерах, можно полагать, что у крыс развивалось эмоциональное напряжение. Вместе с тем, нельзя считать, что, наблюдаемая в эксперименте, стресс-реакция была обусловлена иммобилизацией, так как объем камер, в которые помещались животные, превышал размеры крыс, что позволяло животным переворачиваться и изменять свою позу.

Согласно данным литературы [10] у крыс с различным эмоциональным статусом в тесте «открытое поле» обнаружены различия в активности основных медиаторных систем центральной нервной системы, что обуславливает различие реакции со стороны ГГНС в стрессовой ситуации.

В связи с тем, что метаболическая активность коллагена в костной ткани выше, чем в других тканях, содержание метаболитов коллагена в виде свободного и белковосвязанного оксипролина в биологических жидкостях отражает в основном метаболизм костного коллагена [11].

Поэтому можно полагать, что при остром стрессе, активируется функция коры надпочечников, что приводит к выбросу глюкокортикоидов в кровь. Увеличение уровня этих гормонов в крови оказывает ингибирующее влияние на остеобласты и активирует остеокласты, оказывая прямое воздействие на эти клетки. Кроме того, глюкокортикоиды способны усиливать процессы костной резорбции, и, как следствие, деградации костного коллагена, че-

рез подавление эндокринной функции семенников и стимуляцию секреции паратиреоидного гормона [12]. У крыс с различным эмоциональным статусом динамика уровня 11-ОКС неодинакова, что, в свою очередь, оказывает влияние на процессы обмена коллагена.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Воробьева О.В. Русский медицинский журнал, 2005. Т.13. №12. С.798.
2. Вознесенская Т.Г. Русский медицинский журнал, 2006. Т.14. №9. С.694.
3. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. М.: Медицина, 1988. - 256с.
4. Guide for the care and use of laboratory animals National Academy Press Washington, D.C. 1996. 128p.
5. Буреш Я, Бурешова О., Хьюстон Дж. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Наука, 1992. – 250с.
6. Подковкин В.Г. Модификация метода определения 11-оксикортикостероидов Деп. в ВИНТИ 4.7.1988 №5348-В 88
7. Подковкин В.Г., Иванов Д.Г. // Вестник Самарского государственного университета, 2006. №9. С.237.
8. Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. - М.: Медицина, 1977. - 392с.
9. Фролов Ю.П. Математические методы в биологии. ЭВМ и программирование. Самара: Изд-во СамГУ, 1997. – 265 с.
10. Исмаилова Х.Ю., Агаев Т.М., Семенова Т.П. Индивидуальные особенности поведения: (моноаминергические механизмы). Баку: Нурлан, 2007. – 228 стр.
11. Герасимов А.М., Фурцева Л.Н. Биохимическая диагностика в травматологии и ортопедии. М.: Медицина, 1986. – 240 с.
12. Дедов И.И., Рожинская Л.Я., Марова Е.И. Первичный и вторичный остеопороз: патогенез, диагностика, принципы профилактики и лечения. М.: Медицина, 2002. – 143 с.

**THE ALTERATION OF COLLAGEN METABOLISM MARKERS IN RAT WITH
DIFFERENT EMOTIONALITY UNDER ACUTE STRESS**

Podkovkin V.G., Ivanov D.G.
Samara state university, Samara

The alteration of collagen metabolism markers in rat with different emotionality under acute stress was investigated. Placing animals in plastic containers for 1, 2.5 and 6 hours induced the acute stress. The distinction of hypothalamo-pituitary-adrenal axis reaction and collagen metabolism markers dynamic in rat with different emotionality was observed.