

УДК.57.024

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

В.Г. Подковкин, Д.Г. Иванов

*Самарский государственный университет, Самара, Россия
(443000, Россия, г. Самара, ул. Академика Павлова, д. 1) yarovoi@ssu.samara.ru*

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, метабо-

лизм 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 уринаций и дефекаций. Группы формировали 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 стрессирующе-

го 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. Ана-

логичную 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 ГГНС 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 результате 6 часов действия стрессорного фактора у них наблюдалось снижение уровня свободного оксипролина в крови. Напротив, у животных с высокой эмоционально-

стью содержание оксипролина нарастало в течение 1 часа пребывания в камере и оставалось неизменным вплоть до 2,5 часов эксперимента. После этого значения показателя 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 эмоциональ-

ных 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, через подавление эндокринной функции семенников и стимуляцию секреции паратиреоидного гормона [12]. У крыс с различ-

ным 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. Микромодификация 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. Исмайлова 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**

V.G. Podkovkin, D.G. Ivanov
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.