

# Влияние повторных эпизодов иммобилизационного стресса на устойчивость к комбинированному воздействию физической нагрузки и низкой температуры, уровень кортикостерона и соотношение между прооксидантными и антиоксидантными ферментами в крови крыс с различной устойчивостью к гипоксии

1 - ООО «Челябинск «Доктор Ост», г. Челябинск; 2 - Высшая Медико-Биологическая Школа ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (Национально-Исследовательский Университет)», г. Челябинск.

Kuzina O.V., Komelkova M.V., Tseilikman V.E.

## The effect of repeated episodes of immobilization stress on resistance to combined effects of exercise and low temperature, the level of corticosterone and the relationship between prooxidant and antioxidant enzymes in the blood of rats with different resistance to hypoxia

### Резюме

У животных обладающих промежуточной устойчивостью к гипоксии был исходно более высокий уровень кортикостерона, чем у интактных животных и у животных как с высокой устойчивостью, так и с низкой устойчивостью к гипоксии. Животные с промежуточной устойчивостью к гипоксии характеризовались большей выносливостью во время плавания при низкой температуре.

**Ключевые слова:** гипоксия, кортикостерон, поведенческая активность, тревожность

### Summary

In animals with intermediate resistance to hypoxia, there was initially a higher level of corticosterone than in intact animals and in animals with both high resistance and low resistance to hypoxia. Animals with intermediate resistance to hypoxia were characterized by greater endurance during swimming at a low temperature.

**Key words:** hypoxia, corticosterone, behavioral activity, anxiety

### Введение

С позиций теории адаптационных стратегий адаптивные реакции в экстремальных условиях могут быть направлены или на реализацию парадигмы «борьба-бегство» (резистентная стратегия) или на пассивное восприятие действия раздражителя (толерантная стратегия) [2]. Предполагается, что резистентная и толерантная стратегия различаются нейро-эндокринным и метаболическим статусом. Так для резистентной стратегии характерен повышенный уровень потребления кислорода. Метаболический фон резистентной стратегии гомологичен наблюдаемому, в первую фазу реакции тревоги при стрессе и характеризуется усилением катаболических процессов. Напротив, для толерантной стратегии характерно уси-

ление анаболических процессов. Ввиду динамичности адаптационных реакций, достаточно часто возникают ситуации, когда на фоне экстремальных воздействий характер нейро-эндокринных сдвигов находится в кажущемся противоречии с метаболическим и иммунным статусом. Для облегчения интерпретации в подобных случаях целесообразно ориентироваться на сопоставление лабораторных показателей с однозначно трактуемыми результатами функциональных проб [2]. Для интегральной оценки механизмов резистентной (т.е. стрессорной) стратегии адаптации используется тест «принудительного плавания», принцип которого сводится к оценке продолжительности жизни животных в условиях физической нагрузки при относительно низкой температуре

воды. Одним из критериев определяющим предрасположенность к использованию толерантной стратегии является повышенная устойчивость к гипоксии. В условиях неизбежных стрессорных воздействий первоначальная резистентная стратегия адаптации оказывается неэффективной и ей на смену приходит толерантная стратегия. Экспериментально показано, что для повторных эпизодов иммобилизационного стресса характерен переход от резистентной к толерантной стратегии адаптации, выражавшийся в повышенной устойчивости к гипоксии и в сниженной устойчивости к физической нагрузке при низкой температуре. Однако длительное поддержание толерантной стратегии адаптации после завершения неизбежного стресса может негативно отразиться на адаптивных возможностях организма, так как при этом становится затруднительной реализация реакции «борьба-бегство». При этом остается неизвестным насколько возможно поддержание механизмов толерантной стратегии адаптации в более отдаленные сроки после завершения стрессорных воздействий. В данном контексте речь идет о постстрессорном нивелировании толерантной стратегии, после того как она перестает быть необходимой. Кроме того, быстрота смены адаптационных стратегий определяется такими индивидуальными особенностями организма как устойчивость к гипоксии. Животные с высокой, низкой и промежуточной устойчивостью к гипоксии различаются уровнем свободнорадикального окисления. Ряд ферментов, генерирующих активные формы кислорода, являются глюкокортикоид-зависимыми. Поэтому в данной работе мы сопоставляли между собой постстрессорные изменения уровня кортикостерона и уровень активности некоторых прооксидантных и антиоксидантных ферментов крови у крыс с различной устойчивостью к гипоксии спустя 24 часа и 72 часа после завершения повторных эпизодов иммобилизационного стресса.

## Материалы и методы

Исследование выполнено на 46 белых беспородных крысах. Иммобилизационный стресс моделировался путем ежедневного помещения животных в узкие пеналы на 180 минут в течение трех дней. Этот режим периодических стрессорных воздействий воспроизводился после того как животные были распределены на отдельные группы по устойчивости к гипоксии. Исходную толерантность крыс к гипобарической гипоксии определяли в соответствии с рекомендациями, предусматривающими пребывание крыс на «высоте» 11 500 м. Для определения возможности распределения крыс на фенотипические группы по устойчивости к гипоксии был проведен двухэтапный кластерный анализ с автоматическим определением числа кластеров. Проведенный анализ показал, что животных можно распределить на три фенотипические группы: высокоустойчивые (ВУ), низкоустойчивые (НУ) и животные с промежуточной устойчивостью (ПрУ) к гипоксии.

К НУ фенотипу относили животных, у которых в течение первых 3-х минут пребывания в барокамере на

«высоте» 11 500 м появлялись судороги. Если в течение 10 минут вышеуказанные симптомы не появлялись – животные классифицировались как ВУ. Все остальные животные были отнесены к группе ПрУ. Крысы, селекционированные на группы по устойчивости к гипоксии, подвергались периодическим стрессорным воздействиям спустя 60 дней после пребывания в барокамере. У животных изучались постстрессорные изменения исследованных показателей через 24 и 72 часа после завершения повторных иммобилизаций.

Уровень кортикостерона в сыворотке оценивали флюорометрическим микрометодом [1]. Активность МАО-В определяли по методике [2].

Для обработки результатов исследования использован пакет прикладных программ Statistica 8.0 for Windows.

## Результаты и обсуждение

Перед началом фенотипирования устойчивости к гипоксии у крыс был предварительно определен уровень кортикостерона крови. Оказалось, что у животных обладающих промежуточной устойчивостью к гипоксии (ПрУ) был исходно более высокий уровень кортикостерона (табл.№1), чем у интактных животных и у животных как с высокой устойчивостью (ВУ), так и с низкой устойчивостью (НУ) к гипоксии. Если гипоксическое воздействие рассматривать как стресс, то тогда проявление препаративной функции глюкокортикоидов говорит о подготовке организма к предстоящему стрессу, а различия между ВУ, НУ ПрУ крысами могут проявиться на уровне ГГАС. Для скрининга стрессорной реактивности часто используют предварительное тестирование поведенческой активности. За 12 дней до начала повторных эпизодов иммобилизационного стресса и через 2 дня после завершения гипоксического воздействия животные были помещены в «открытое поле» (табл.№2). Обнаружено, что как ВУ, так и НУ животные характеризовались сниженным уровнем горизонтальной двигательной активности по сравнению с интактными крысами. Однако для ПрУ животных не отмечено статистически значимых различий по сравнению с интактными животными. Одновременно со снижением двигательной активности ВУ и НУ животные по сравнению с ПрУ животными характеризовались сниженным уровнем анксиогенной дефекации. Напротив, ПрУ животные и по значению этого показателя не характеризовались статистически значимыми различиями с контрольными животными. При этом уровень анксиогенной дефекации у ПрУ животных оказался выше, чем у НУ животных. Через 30 дней после завершения гипоксического воздействия животные были подвергнуты плаванию в холодной воде.

ВУ животные характеризовались сниженной устойчивостью к действию физической нагрузки при низкой температуре по сравнению с НУ и ПрУ животными. Так по сравнению с НУ животными время плавания ВУ животных снижено на 20% ( $p=0,032U$ ), а по сравнению с ПрУ животными время плавания ВУ животных было снижено на 17% ( $p=0,038U$ ). В связи с этим необходимо

Таблица 1. Содержание кортикостерона в крови и активность MAO-B в печени у низкоустойчивых и высокоустойчивых крыс до начала фенотипирования по устойчивости к гипоксии.

| Показатели                                 | Интактные животные<br>n=11 | ВУ животные<br>n=12 | ПрУ животные<br>n=12 | НУ животные<br>n=11 |
|--|----------------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
| Содержание Кортикостерона в крови, (мкг %) | 12,67±3,81                 | 13,58±3,41          | 28,46±2,41<br>P<0,05 | 12,357±2,146        |
| Активность MAO-B (нмоль/орган/мин)         | 145,3±11,4                 | 115,6±3,42          | 92,53±3,44           | 127,54±4,27         |

Таблица 2. Показатели поведенческой активности высоко устойчивых и низкоустойчивых крыс в «открытом поле» после фенотипирования.

| Показатели           | Интактные животные<br>n=11 | ВУ животные<br>n=12  | ПрУ животные<br>n=12 | НУ животные<br>n=11  |
|----------------------|----------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Выглядывания         | 12,73±0,89                 | 10,03±0,89           | 9,34±0,29            | 9,5±1,19             |
| Стойки               | 15,9±2,43                  | 9,88±1,29            | 12,83±3,12           | 12,33±2,62           |
| Пересечения          | 58,68±5,45                 | 32,22±4,42<br>P<0,05 | 62,25±3,24           | 35,75±7,02<br>P<0,05 |
| Число актов груминга | 3,13±0,99                  | 3,92±0,6             | 4,83±0,68            | 3,75±0,73            |
| Болвасы              | 3,13±0,68                  | 1,07±0,36            | 3,33±0,21            | 1,5±0,68             |

отметить, что у ВУ животных сниженная устойчивость к плаванию при низкой температуре ассоциировано со снижением уровня циркулирующего кортикостерона. Данный факт также характеризуют наличие у глюкокортикоидов препаративной функции, заключающейся в подготовке организма к экстремальным воздействиям. Также следует обратить внимание на высокий уровень тревожности у ВУ животных. Известно, что глюкокортикоиды могут усиливать выработку экстрагипоталамического кортиколиберина, являющегося основным медиатором тревожности [6; 7; 8]. Следует отметить, что рост тревожности можно рассматривать как адаптивную поведенческую реакцию, позволяющую осуществить необходимую мобилизацию ресурсов. У ПрУ животных наряду с ростом анксиогенной дефекации также отмечен повышенный уровень горизонтальной локомоторной активности, что свидетельствует о готовности к реализации резистентной стратегии адаптации.

## Заключение

В данном исследовании прослеживаются различия между ВУ животными с НУ и ПрУ животными. При этом между собой НУ и ПрУ животные сходны по эндокринному и поведенческому статусу. Если ВУ животные склонны к развитию толерантной стратегии адаптации, то НУ и ПрУ животные, скорее всего, проявляют склонность

к резистентной стратегии. Наши исследования показали, что у НУ животных более высокий уровень активности MAO-B в печени по сравнению с ПрУ животными. Продукты MAO-реакции участвуют в индукции оксидативного стресса. К тому же оба фермента митохондриальные и усиление их активности могут косвенно свидетельствовать об усилении функциональных возможностей митохондрий у ПрУ животных. ■

Выполнение исследования поддержано грантом РФФ №17-15-013418.

**Кузина О.В.**, главный врач клиники «Доктор Ост», г. Челябинск. **Комелькова М.В.**, к.б.н., старший научный сотрудник, Высшей Медико-Биологической Школы ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (Национально-Исследовательский Университет)», г. Челябинск. **Цейликман В.Э.**, д.б.н., профессор, директор Высшей Медико-Биологической Школы ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (Национально-Исследовательский Университет)», г. Челябинск. Ответственный за ведение переписки: Кузина Оксана Владимировна - главный врач клиники «Доктор Ост», г. Челябинск. Адрес для переписки: 454016, г. Челябинск, ул. Университетская набережная, д.34, тел. (351) 225-29-29, e-mail: fz.74@mail.ru.

**Литература:**

1. Балаиов Ю.Г. Флюорометрический микрометод определения кортикостероидов: сравнение с другими методами. 12:280-283/.
2. Волчегорский И.А. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптационных реакций организма. 2000; 167.
3. Жуков Д.А. Биология поведения: гуморальные механизмы. 2007; 443. Жуков Д.А. Биология поведения: гуморальные механизмы 2007; 443.
4. Перцов С.С. Интенсивность окислительных и антиоксидантных процессов в головном мозге крыс с разными параметрами поведения при острой стрессорной нагрузке 2011; 152 (7): 4-8.
5. Armario A. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis: what can it tell us about stressors? A.Armario. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*. 2006; 5 (5): 485-501.
6. Dallman M.F. Modulation of stress responses: how we cope with excess glucocorticoids.2007; 206 (2): 179.
7. De Kloet E.R. Hormones and the stressed brain. 2004; 1018:1-15/.
8. Gold P.W. Melancholic and atypical subtypes of depression represent distinct pathophysiological entities: CRH, neural circuits, and the diathesis for anxiety and depression. 2013; 18 (6): 632-634.