

УДК 612.015.11-02:618.3-06:616.45-001.1/.3]-092.9

©І. Р. Міц, О. В. Денефіль

ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”

ЗМІНИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕСУ

ЗМІНИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕСУ – У роботі представлено дані впливу пренатального стресу на організм щурів. Досліди виконано на 22 самцях і 22 самицях віком 3 місяці. Досліджували вплив пренатального стресу на пероксидне окиснення ліпідів і антиоксидантну систему. Виявлено, що в інтактних щурів-самців, порівняно з самицями такого ж віку, спостерігається вища активність процесів пероксидного окиснення ліпідів. Пренатальний стрес активує процеси пероксидного окиснення ліпідів у тварин незалежно від статі, при більшій активності антиоксидантної системи у самців, що може вказувати на напруженість у них процесу адаптації.

ИЗМЕНЕНИЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕССА – В работе представлены данные влияния пренатального стресса на организм крыс. Опыт выполнен на 22 самцах и 22 самках возрастом 3 месяца. Исследовали влияние пренатального стресса на перекисное окисление липидов и антиоксидантную систему. Обнаружено, что в интактных самцов, по сравнению с самками того же возраста, большая активность процессов перекисного окисления липидов. Пренатальный стресс активирует процессы перекисного окисления липидов у животных независимо от пола, при большей активности антиоксидантной системы в самцах, что может указывать на напряженность в них процесса адаптации.

CHANGES IN LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN RATS UNDER THE INFLUENCE OF PRENATAL STRESS – The article presents data on the effects of prenatal stress on rats. Experiments performed on 22 males and 22 females animals aged 3 months. Investigated the effects of prenatal stress on lipid peroxidation and antioxidant system. It was found that in intact male rats compared to females of the same age, there is a higher activity of lipid peroxidation processes. Prenatal stress activates the processes of lipid peroxidation in animals regardless of sex, the greater the antioxidant activity of the males, which may indicate the tension in their adaptation process.

Ключові слова: пренатальний стрес, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система.

Ключевые слова: пренатальный стресс, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.

Key words: prenatal stress, lipid peroxidation, antioxidant system.

ВСТУП У повсякденному житті пренатальний стрес постійно супроводжує вагітних жінок [7, 15]. Особливо страждають при цьому хлопчики, які народилися від матерів, що зазнали пренатального стресу [12, 14, 16]. Крім змін поведінки [9], функціонування головного мозку [8], ендокринної системи [10], страждає й серцево-судинна система [13]. Визначення патогенетичних ланок, які б змогли розкрити механізми пошкоджувального впливу пренатального стресу на осіб чоловічої статі, допоможе в пошуку лікарських засобів, які мають протекторний вплив.

Тому метою нашої роботи було визначити зміни пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантного за-

хисту в щурів різної статі, які зазнали впливу пренатального стресу.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Досліди виконано на 44 безпорідних статевозрілих щурах-самцях і самицях віком 3 місяці. Пренатальний стрес викликали у вагітних самиць за стандартною методикою [1], тварин у першій половині дня з 15 до 21 дня вагітності протягом години утримували у тисних пластикових пеналах. Після народження тварин утримували у звичайних умовах і стандартному раціоні віварію. До 1 місяця вони перебували у клітці з матір'ю, потім їх розміщували по 10 особин.

Усі експерименти проводили у першій половині дня в спеціально відведеному приміщенні при температурі 18–22 °С, відносній вологості 40–60 % і освітленості 250 лк. Досліди виконано з дотриманням норм Конвенції Ради Європи про захист хребетних тварин, що використовуються для досліджень та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001) і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Евтаназію щурів в усіх експериментах проводили шляхом тотального кровопускання з серця після попереднього тіопентало-натрієвого наркозу (60 мг·кг⁻¹ маси тіла тварини внутрішньочеревно). Для подальшого експериментального дослідження забирали кров і шматочки серця. У гомогенаті серця визначали концентрацію дієнових кон'югат (ДК) [2], ТБК-активних продуктів [2], трієнових кон'югат (ТК) [2], активність супероксиддисмутази (СОД) [6], каталази [5], вміст відновленого глутатіону, активність глутатіонредуктази (ГР) і глутатіонпероксидази (ГП) [4, 11], у сироватці крові – пероксидну активність крові (ПАК) [3], вміст церулоплазміну (ЦП) [3].

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення “Excel” (“Microsoft”, США) та “STATISTICA 6.0” (“Statsoft”, США) з використанням параметричних і непараметричних методів оцінки одержаних даних. Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі за критерієм Стьюдента [3], в інших випадках – за допомогою U-критерію Манна-Уїтні.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ У контрольних самиць виявлено нижчу активність процесів пероксидного окиснення ліпідів, порівняно з самцями, про що свідчили менші показники ДК, ТБК-активних продуктів, ТК, ПАК, відповідно на 7,02 % (p<0,001), 7,10 % (p<0,002), 5,50 % (p<0,001), 97,75 % (p<0,05) (табл. 1).

Під впливом пренатального стресу відмічено зростання продуктів пероксидного окиснення ліпідів як у самців, так і самиць. Так, у самців концентрація ДК

Таблиця 1. Зміни показників пероксидного окиснення ліпідів, викликані пренатальним стресом (M±m)

Група	Показник			
	дієнові кон'югати (ум.од.·г ⁻¹)	ТБК-активні продукти (мкмоль/кг)	трієнові кон'югати (ум.од.·г ⁻¹)	пероксидна активність крові (мкмоль/хв·л)
Самці				
Контроль (n=10)	0,317±0,001	0,474±0,006	0,318±0,001	91,43±19,09
Пренатальний стрес (n=12)	0,485±0,004 [†]	1,062±0,038 [†]	0,498±0,004 [†]	468,62±9,77 [†]
Самиці				
Контроль (n=10)	0,296±0,002 [#]	0,442±0,006 [#]	0,302±0,002 [#]	46,23±1,96 [#]
Пренатальний стрес (n=12)	0,491±0,005	1,144±0,045 [†]	0,493±0,005 [†]	448,38±6,80 [†]

Примітки: 1) * – показники достовірні порівняно з контролем;
2) # – показники достовірні порівняно з самцями.

збільшилася в 1,6 раза (p<0,001), ТБК-активних продуктів – у 2,2 раза (p<0,001), ТК – в 1,6 раза (p<0,001), ПАК – у 5,1 раза (p<0,001). У самиць показники зросли відповідно в 1,7 раза (p<0,001), 2,6 раза (p<0,001), 1,6 раза (p<0,001), 5,1 раза (p<0,001). Не дивлячись на те, що відсоткові відхилення були більшими у самиць, достовірної статевої різниці між групами не виявлено.

При дослідженні ферментної ланки антиоксидантного захисту (табл. 2) виявлено, що в контролі у самців, порівняно з самицями, вищі показники каталази на 5,04 % (p<0,05) і ЦП – на 12,59 % (p<0,001).

Під дією пренатального стресу в самців відмічено зростання активності ферментної ланки антиоксидантного захисту як у серці, так і крові. Так, активність СОД зросла в 14,9 раза (p<0,001), ЦП – у 2,1 раза (p<0,001). У самиць показники збільшилися відповідно в 14,3 раза (p<0,001) і 2,1 раза (p<0,001). Виявлено, що у самців, які перенесли пренатальний стрес, показники ферментної ланки антиоксидантного захисту перевищували значення самиць. Так, у самців ак-

тивність СОД була більшою на 11,84 % (p<0,05), каталази – на 5,04 % (p<0,05), ЦП – на 10,45 % (p<0,001).

При вивченні показників системи глутатіону (табл. 3) виявлено вищу активність ферментів у самиць, порівняно з самцями (ГП – на 28,19 %, p<0,001; ГР – 18,76 %, p<0,001), і, відповідно, менше значення відновленого глутатіону в перших (на 12,21 %, p<0,001).

Під дією пренатального стресу в щурів відмічено зростання активності ферментів системи глутатіону та вмісту відновленого глутатіону. Так, у самців активність ГП зросла в 1,7 раза (p<0,001), ГР – в 1,2 раза (p<0,001), відновленого глутатіону – в 1,5 раза (p<0,001). У самиць показники збільшилися відповідно в 1,3 раза (p<0,001), у 1,7 раза (p<0,001) і 1,5 раза (p<0,001). Виявлено, що у самців, які перенесли пренатальний стрес, показники ГР були в 1,7 раза (p<0,001) менші, а відновленого глутатіону перевищували значення самиць в 1,1 раза (p<0,001).

Отримані результати вказують на те, що у контролі в тримісячних щурів-самців показники пероксидного

Таблиця 2. Зміни показників ферментної ланки антиоксидантного стану, викликані пренатальним стресом (M±m)

Група	Показник		
	супероксиддисмутаза (ум.од.·мг ⁻¹)	каталаза (мкат/кг)	церулоплазмін (мг/л)
Самці			
Контроль (n=10)	0,1224±0,0033	3,66±0,06	5,320±0,108
Пренатальний стрес (n=12)	1,8237±0,0547 [†]	3,72±0,04 [†]	11,171±0,139 [†]
Самиці			
Контроль (n=10)	0,1138±0,0026	3,49±0,04 [#]	4,725±0,101 [#]
Пренатальний стрес (n=12)	1,6306±0,0552 ^{†, #}	3,54±0,07 [#]	10,113±0,213 ^{†, #}

Примітки: 1) * – показники достовірні порівняно з контролем;
2) # – показники достовірні порівняно з самцями.

Таблиця 3. Зміни показників системи глутатіону, викликані пренатальним стресом (M±m)

Група	Показник		
	відновлений глутатіон (мкмоль/г)	глутатіон-пероксидаза (мкмоль/хв·кг)	глутатіон-редуктаза (мкмоль/хв·кг)
Самці			
Контроль (n=10)	838,60±16,81	0,1763±0,0033	0,0826±0,0007
Пренатальний стрес (n=12)	1241,23±23,14 [†]	0,2995±0,0053 [†]	0,1027±0,0033 [†]
Самиці			
Контроль (n=10)	747,37±9,68 [#]	0,2260±0,0044 [#]	0,0981±0,0014 [#]
Пренатальний стрес (n=12)	1118,42±20,07 ^{†, #}	0,3011±0,0051 [†]	0,1704±0,0051 ^{†, #}

Примітки: 1) * – показники достовірні порівняно з контролем;
2) # – показники достовірні порівняно з самцями.

окиснення ліпідів перебігають на вищому рівні, порівняно з самицями, не дивлячись на вищу активність у них антиоксидантного захисту, а саме каталази, ЦП, відновленого глутатіону. Можливо це пов'язано з більшою активністю статевих гормонів або переважанням тону симпатичного відділу автономної нервової системи, що потребує подальших досліджень.

Під впливом пренатального стресу статистично достовірно зросли як показники пероксидного окиснення ліпідів, так і антиоксидантної системи у тварин двох статей. Значення ферментативної ланки антиоксидантного захисту і відновленого глутатіону були вищими у самців, хоча статистично достовірної різниці у показниках пероксидного окиснення ліпідів між статями не виявлено. Це могло вказувати на більшу ціну адаптації у самців, а також про більші антиоксидантні резерви у них.

ВИСНОВКИ 1. В інтактних тримісячних щурів-самців, порівняно з самицями такого ж віку, спостерігається вища активність процесів пероксидного окиснення ліпідів.

2. Пренатальний стрес активує процеси пероксидного окиснення ліпідів у тварин незалежно від статі, при більшій активності антиоксидантної системи у самців.

Перспективи подальших досліджень Для розкриття механізмів пошкоджувального впливу пренатального стресу буде вивчено активність ланок автономної нервової системи, морфологічні зміни міокарда у тварин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абрамов А. В. Состояние толерантности к глюкозе у самцов, перенесших хронический пренатальный стресс / А. В. Абрамов, Ю. М. Колесник, М. А. Тихоновская // Запорож. мед. журн. – 2004. – № 6. – С. 38–41.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
3. Клінічна та лабораторна діагностика : нормативні директивні правові документи. – К. : МВЦ "Медінформ", 2003. – 856 с.
4. Круглікова Г. О. Глутатіонпероксидазна та глутатіонредуктазна активність печінки щурів після введення селеніту натрію / Г. О. Круглікова, І. М. Штутман // Укр. біохім. журн. – 1976. – № 2. – С. 227–233.
5. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
6. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
7. Exposure to prenatal psychobiological stress exerts programming influences on the mother and her fetus / С. А. Sandman, E. P. Davis, C. Buss, L. M. Glynn // Neuroendocrinology. – 2012. – Vol. 95 (1). – P. 7–21.
8. Effect of prenatal stress on density of NMDA receptors in rat brain / E. Tavassoli, E. Saboory, M. Teshfam [et al.] // Int. J. Dev. Neurosci. – 2013. – Vol. 31 (8). – P. 790–795.
9. Exogenous prenatal corticosterone exposure mimics the effects of prenatal stress on adult brain stress response systems and fear extinction behavior / B. C. Bingham, C. S. Sheela Rani, A. Frazer [et al.] // Psychoneuroendocrinology. – 2013. – Vol. 38 (11). – P. 2746–2757.
10. Harris A. Glucocorticoids, prenatal stress and the programming of disease / A. Harris, J. Seckl // Horm. Behav. – 2011. – Vol. 59 (3). – P. 279–289.
11. Moffat J. A. Investigations into the role of sulfhydryl groups in the mechanism of action of the nitrates / J. A. Moffat, P. W. Armstrong, G. S. Marks // Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. – 1982. – Vol. 60, № 10. – P. 1261–1266.
12. Parents' adulthood stress induces behavioral and hormonal alterations in male rat offspring / S. Niknazar, A. Nahavandi, R. Najafi [et al.] // Behav. Brain Res. – 2013. – Vol. 252. – P. 136–143.
13. Prenatal maternal bereavement and congenital heart defects in offspring: a registry-based study / J. L. Zhu, J. Olsen, H. T. Sorensen [et al.] // Pediatrics. – 2013. – Vol. 131 (4). – P. 1225–1230.
14. Sex-specific effects of prenatal stress on glucose homeostasis and peripheral metabolism in rats / P. J. Brunton, K. M. Sullivan, D. Kerrigan [et al.] // J. Endocrinol. – 2013. – Vol. 217 (2). – P. 161–173.
15. The association between perceived emotional support, maternal mood, salivary cortisol, salivary cortisone, and the ratio between the two compounds in response to acute stress in second trimester pregnant women / La Marca- P. Ghaemmaghami, R. La Marca, S. M. Dainese [et al.] // J. Psychosom. Res. – 2013. – Vol. 75 (4). – P. 314–320.
16. Vulnerability versus resilience to prenatal stress in male and female rats; implications from gene expression profiles in the hippocampus and frontal cortex / D. L. Van den Hove, G. Kenis, A. Brass [et al.] // Eur. Neuropsychopharmacol. – 2013. – Vol. 23 (10). – P. 1226–1246.

Отримано 30.09.13