

Вплив хронічного іммобілізаційного стресу на розвиток дисфункції ендотелію у щурів

С.В. Гаврелюк, І.В. Чикіна

Національний університет фізичного виховання і спорту України; Київ; e-mail: doctsvit@gmail.com

Вивчали механізми впливу тривалої іммобілізації на адаптацію серцево-судинної системи організму у 100-добових щурів. Зокрема, можливість оцінки стадії стресу за допомогою екстраполяції вираженості індукованої ендотеліальної дисфункції в експерименті. Тварин досліджували ультразвуковим скануванням протягом 10 діб дії іммобілізаційного стресу. За оцінкою змін лейкограма було встановлено, що перша стадія стресу (тривоги) була нетривалою або невираженою, друга стадія (резистентності) спостерігалася з 2-ї по 7-му добу, а з 8-ї – розвивалася стадія виснаження. За результатами варіаційного аналізу показників гемодинаміки виявлені деякі особливості перебудови реакції судинної стінки залежно від стадії стресу. Стадія резистентності характеризувалася збереженням внутрішньопросвітнього діаметра черевної аорти на рівні $1,5 \pm 0,1$ мм, структури і товщини комплексу інтима-медіа на рівні $0,28 \pm 0,04$ мм та чутливості ендотелію до ацетилхоліну, однак, змінювалися швидкісні показники гемодинаміки, які визначали зниження середньої швидкості кровотоку. У стадії виснаження стресу були виявлені ознаки ендотеліальної дисфункції: зміна структури комплексу інтима-медіа і відсутність реакції ендотелію на дію хлориду ацетилхоліну, і типові риси ремоделювання стінки черевної аорти: потовщення комплексу інтима-медіа до $0,35 \pm 0,06$ мм і збільшення внутрішньопросвітнього діаметра судини до $1,9 \pm 0,1$ мм. Зміни швидкісних показників гемодинаміки визначали зниження середньої швидкості кровотоку і підвищення жорсткості стінки черевної аорти.

Ключові слова: іммобілізаційний стрес; дисфункція ендотелію; черевна аорта; показники гемодинаміки.

ВСТУП

Понад 60 років тому Ганс Сельє показав, а численні дані сучасних дослідників підтвердили, що реакція стрес є однією із загальних неспецифічних адаптаційних реакцій, а його розвиток – основою хвороб як соматичних, так і психічних [1, 2]. Процеси самоорганізації в організмі залежать від типу реакції адаптації та рівня реактивності організму, на тлі якого вони розвиваються [3]. Однією з провідних ефекторних систем, що реалізує пристосування організму до факторів зовнішнього і внутрішнього середовища, слугує система кровообігу [4]. Нині важливим фактором у розвитку патології системи кровообігу і клінічно маніфестуючих захворювань серця і судин розглядається

дисфункція ендотелію, яка формується внаслідок дисбалансу між медіаторами, що забезпечують в нормі оптимальний перебіг всіх ендотелійзалежних процесів [5].

Організм найбільш чутливий до впливу різних стресорних факторів в період активної перебудови нервово-регуляторних механізмів, і одним з таких періодів в онтогенезі є пубертатний вік. Проведені дослідження у здорових дітей цієї вікової групи виявили дезадаптацію вегетативного забезпечення [6, 7], а у підлітків з різною соматичною патологією – ознаки розвитку ендотеліальної дисфункції [8, 9]. Однак процеси формування адаптивних реакцій судинного тону, зумовлених впливом стресових факторів, усе ще залишаються недостатньо вивченими.

У наукових дослідженнях найбільш часто використовуюваною моделлю емоційного стресу є тривала іммобілізація, як один з важливих факторів, що призводять до прискореного старіння організму [10].

Оскільки загальнобіологічні і медичні експерименти безпосередньо на людині не проводяться, а на приматах є дуже дорогими, особливо коли питання стоїть про дослідження у віковому аспекті, однією з основних експериментальних систем в біологічних і медичних дослідженнях є щури. У доступній літературі є поодинокі праці з вивчення реакції ендотелію на хронічний стресорний вплив, проведені *in vitro* [11], однак для з'ясування механізмів формування адаптивних реакцій слід провести дослідження на рівні цілісного організму. За даними літературних джерел на пубертатний період людини можна екстраполювати вік щурів у 100 діб [12, 13].

Для аналізу показників гемодинаміки найбільш простими, доступними і неінвазивними методами дослідження є ультразвукові технології сканування. Проте наведені до теперішнього часу в доступній науково-методичній літературі дані щодо ультразвукових характеристик змін гемодинаміки при експериментах у лабораторних тварин нечисленні.

Мета цього дослідження – визначення можливості оцінки стадії стресу у 100-добових щурів за вираженістю індукованої ендотеліальної дисфункції в експерименті.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено на 100-добових білих щурах лінії Вістар ($n = 20$) масою 180–200 г. Тварин утримували у звичайних умовах віварію на стандартному раціоні по 10 особин у клітці при природному освітленні і з вільним доступом до води та їжі. Як метод стресорного впливу був обраний іммобілізаційний стрес.

Усі маніпуляції під час постановки експерименту проводили відповідно до біоетичних принципів, викладених у «Європейській

конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) і в законі України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3 446-VI від 21.02.2006, Київ).

Тварин було поділено на 2 групи по 10 у кожній: контрольна – інтактні тварини; дослідна – тварини, що зазнавали іммобілізаційного стресу тривалістю 240 хв щодня в один і той самий час доби. Стрес моделювали, поміщаючи щура у спеціальну пластикову камеру-пенал, що обмежувала його рух протягом 4 год при кімнатній температурі навколишнього повітря. Тварин виводили з експерименту на 10-ту добу декапітацією у стані наркозу (каліпсол з розрахунку $16 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$, внутрішньоочеревинно).

Критерієм оцінки формування стресорної реакції організму слугували зміни показників білої крові [3, 14]. Забір крові для дослідження лейкоцитарної формули проводили з хвостової вени тварини щодоби в динаміці експерименту. При аналізі лейкоцитарного профілю крові експериментальних тварин підраховували загальну кількість лейкоцитів у камері Горяєва і лейкоцитарну формулу у відносному (відсотковому) вираженні [15]. Крім того, визначали співвідношення числа лімфоцитів і сегментоядерних нейтрофілів [3].

Перед початком, а також на 5-ту і 10-ту добу експерименту проводили ультразвукове дослідження (УЗД) черевного відділу аорти на стаціонарних сканерах «Харіо» (Toshiba, Японія) і «Mindray DC-8» (Mindray, КНР) широкосмуговим лінійним датчиком з робочою апертурою 40 і 50 мм та частотою 5–12 і 7–14 МГц відповідно. Для проведення УЗД наркотизованих щурів натщесерце закріплювали за чотири лапи у положенні на спині. Шерсть на животі попередньо голили і змащували спеціальним гелем для ультразвукового дослідження. Під час УЗД у В-режимі проводили кількісну оцінку внутрішньопросвітнього діаметра су-

дини, товщину комплексу інтима-медіа, ендотелійзалежну і ендотелійнезалежну дилатацію. У режимі імпульсно-хвильової доплерографії (PW-режим) досліджували кількісні характеристики кровотоку: пікову систолічну швидкість кровотоку (V_{ps}), максимальну кінцеву діастолічну швидкість кровотоку (V_{ed}), індекс резистентності (RI) і систоло-діастолічне відношення (S/D). За допомогою кардіомодуля оцінювали частоту серцевих скорочень (ЧСС). Середню швидкість кровотоку (V_m) розраховували за формулою:

$$V_m = \frac{V_{ps} + 2V_{ed}}{3},$$

де: V_m – середня швидкість кровотоку, $\text{см}\cdot\text{с}^{-1}$, V_{ps} – пікова систолічна швидкість кровотоку, $\text{см}\cdot\text{с}^{-1}$, V_{ed} – максимальна кінцева діастолічна швидкість кровотоку, $\text{см}\cdot\text{с}^{-1}$.

Ендотелійзалежну дилатацію оцінювали як зміну діаметра черевної аорти після болюсного введення в стегнову вену хлориду ацетилхоліну, що активує ендотелій, з розрахунку $40 \text{ мг}\cdot\text{кг}^{-1}$. Ендотелійнезалежну дилатацію оцінювали після відновлення ЧСС, швидкості кровотоку і діаметра черевної аорти до вихідних значень вимірюванням діаметра судини після болюсного введення в стегнову вену нітрогліцерину з розрахунку $2 \text{ мг}\cdot\text{кг}^{-1}$, оскільки він є донатором оксиду азоту і безпосередньо впливає на гладенькі м'язи судини.

Зміни діаметра судини оцінювали у відсотковому відношенні до вихідного значення. Коефіцієнт дилатації (KD) черевної аорти розраховували за формулою:

$$KD = \frac{(D_1 - D_0)}{D_0} \cdot 100\%$$

де; D_1 – діаметр черевної аорти після введення медіатора дилатації, мм, D_0 – вихідний діаметр черевної аорти, мм.

Отримані цифрові результати обробляли методами варіаційної статистики за допомогою ліцензійного комп'ютерного пакету програм Microsoft Excel 2007. Визначали середню

арифметичну вибірку (M), стандартну помилку середньої арифметичної ($\pm m$); достовірність відмінностей (P) між вибірками оцінювали з використанням критерію t Стьюдента, оскільки за критерієм Шапіро-Уїлкі вони відповідали нормальному закону розподілу.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті проведеного дослідження з'ясувалося, що перед початком експерименту за лейкоцитарним профілем і ультразвуковими показниками гемодинаміки контрольна і дослідна групи тварин відмінностей не мали (табл. 1, 2).

Перша стадія стресу (тривоги) була не вираженою або нетривалою. Починаючи з 2-ї доби експерименту у дослідних тварин змінювалися показники білої крові, які характеризували розвиток другої стадії стресу (резистентності) [3, 14]. Так, було виявлено достовірне підвищення загальної кількості лейкоцитів і сегментоядерних нейтрофілів, зниження вмісту лімфоцитів і еозинофілів. Співвідношення числа лімфоцитів і сегментоядерних нейтрофілів знаходилося на рівні $1,7 \pm 0,2$. Такий стан лейкограми пролонгувався до 7-ї доби дослідження. Починаючи з 8-ї доби експерименту і до його закінчення в лейкоцитарному профілі була визначена лейкопенія, зниження вмісту сегментоядерних нейтрофілів і анеозинофілія. Співвідношення числа лімфоцитів і сегментоядерних нейтрофілів збільшувалось до $5,0 \pm 0,7$ (див. табл. 1). Отримані зміни лейкограми, згідно з даними літератури, характеризували розвиток третьої стадії стресу (виснаження) [3, 14].

УЗД черевного відділу аорти проводили на 5-ту добу експерименту, коли стадія резистентності стресу остаточно сформувалася. З'ясувалося, що просвіт внутрішнього діаметра черевної аорти у тварин дослідної групи не відрізнявся за значеннями від контролю. Комплекс інтима-медіа як у дослідних, так і в контрольних тварин мав нормальну

структуру, диференціювання на шари, чітку лінію поверхні і однакову товщину. Вивчення кількісних характеристик кровотоку виявило достовірне зниження V_{ps} і підвищення V_{ed} в групі тварин, які зазнали вплив стресу, що призводило до зниження V_m (рисунок). Крім того, знижувалося значення S/D , а RI не мав достовірних відмінностей (див. табл. 2).

Оцінку ендотелійзалежної і ендотелій-незалежної реакції кровоносних судин у тварин контрольної та дослідної груп проводили зіставленням кількісних змін дилатації під впливом ацетилхоліну і нітрогліцерину. Після болюсного введення стандартної дози хлориду ацетилхоліну в стегнову вену в обох групах тварин розвивалася дилатація черевної аорти. Крім того, спостерігалися достовірні зміни показників гемодинаміки: зменшення ЧСС, зниження V_{ps} і підвищення V_{ed} . Однак значення V_{ps} у групі тварин, які відчували стресорний вплив, були нижчими, ніж у групі контролю, а V_{ed} – вищими. V_m вірогідно знижувалася порівнянно з вихідними значеннями (див. рисунок). Значення S/D зменшувалося в групі контролю, в той час як у дослідних тварин воно тіль-

ки мало тенденцію до збільшення. Виявлене підвищення RI у дослідній групі також не відрізнялося від контролю (див. табл. 2).

Болюсне введення розчину нітрогліцерину в стегнову вену щурів викликало дилатацію черевної аорти в обох групах тварин. Виявлено достовірні зміни показників гемодинаміки: прискорення ЧСС і зниження V_{ps} . Проте значення V_{ps} у групі тварин, що зазнали вплив стресу, були нижчими, ніж у контролі. Крім того, V_{ed} у контрольній групі збільшувалася, а у тварин дослідної групи – навпаки, зменшувалася. Зниження V_m у стресованих тварин порівняно з контрольними не мали статистичної значущості (див. рисунок). Значення S/D вірогідно зменшувалося в групі контролю, в той час як в дослідній групі зміни цього показника мали виражену тенденцію до збільшення, так само як і значення RI (див. табл. 2).

На 10-ту добу експерименту, коли сформувалася стадія виснаження стресу, при УЗД черевного відділу аорти було виявлено достовірне збільшення внутрішньопросвітнього діаметра досліджуваної судини в початковому стані у дослідних тварин. Комплекс інтима-медіа у них візуалізувався

Таблиця 1. Вплив хронічного іммобілізаційного стресу на зміни лейкоцитарної формули у експериментальних тварин

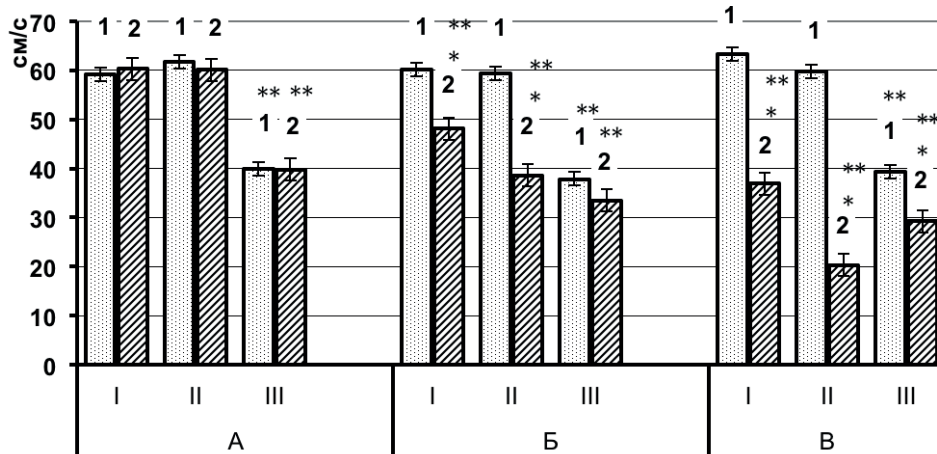
Група тварин, термін експерименту	Загальна кількість лейкоцитів, $\text{тис} \times \text{мкл}^{-1}$	Паличкоядерні, %	Сегментоядерні, %	Еозінофіли, %	Моноцити, %	Лімфоцити, %	Співвідношення лімфоцитів і сегментоядерних нейтрофілів
Контрольна група							
1-ша доба	4,5±0,4	3,3±0,6	27,5±2,7	1,8±0,2	3,2±0,9	64,1±2,5	2,4±0,3
5-та доба	4,6±0,4	2,9±0,3	25,3±2,6	1,6±0,5	3,4±0,5	65,4±1,1	2,3±0,1
10-та доба	5,0±0,2	3,7±0,3	28,5±1,1	2,1±0,4	3,0±0,5	62,5±1,8	2,2±0,1
Дослідна група							
1-ша доба	4,9±0,3	3,4±0,5	27,3±1,6	1,9±0,3	3,1±0,5	65,1±1,7	2,4±0,2
5-та доба	6,0±0,2*	1,5±0,2*	33,7±1,8*	0,55±0,2*	1,9±0,2*	56,1±1,8*	1,7±0,2*
10-та доба	2,1±0,5*	0,8±0,7*	16,7±1,8*	0,01±0,1*	0,8±0,5*	81,9±2,2*	5,0±0,7*

* $P < 0,05$ порівняно з контролем.

Таблиця 2. Показники гемодинаміки в черевній аорті щурів при ендотелійзалежній і ендотелійнезалежній дилатації (ультразвукове дослідження)

Показники судинного тону	Контрольна група			Дослідна група		
	Вихідні значення	Ендотелій-залежна дилатація	Ендотелій-незалежна дилатація	Вихідні значення	Ендотелій-залежна дилатація	Ендотелій-незалежна дилатація
До початку експерименту						
Внутрішньо-просвітний діаметр судини, мм	1,57±0,12	1,88±0,8*	1,84±0,8*	1,45±0,08	1,75±0,06*	1,75±0,06*
Товщина комплексу інтима-медіа, мм	0,28±0,04	–	–	0,28±0,04	–	–
Частота серцевих скорочень, хв ⁻¹	329,8±22,4	263,5±21,3*	496,4±44,5*	320,8±19,3	265,5±17,8*	501,7±45,3*
Пікова систолічна швидкість кровотоку, см×с ⁻¹	160,4±5,03	136,7±1,3*	93,4±1,9*	159,4±4,6	133,7±4,7*	92,8±1,8*
Максимальна кінцева діастолічна швидкість кровотоку, см×с ⁻¹	10,7±0,6	23,7±0,7*	13,4±0,8*	10,8±0,6	23,5±0,8*	13,3±0,9*
Індекс резистентності	0,84±0,01	0,83±0,01	0,83±0,01	0,84±0,01	0,83±0,01	0,83±0,01
Сістоло-діастолічне відношення	16,5±7,6	5,7±0,32*	7,4±0,57	16,6±0,74	5,9±0,5*	7,5±0,5
Коефіцієнт дилатації, %	–	24±4,4	20,2±6,5	–	20,7±5,4	20,7±5,4
5-та доба іммобілізаційного стресу						
Внутрішньо-просвітний діаметр судини, мм	1,48±0,04	1,78±0,04**	1,8±0,05**	1,35±0,14	1,61±0,19**	1,75±0,19**
Товщина комплексу інтима-медіа, мм	0,27±0,05	–	–	0,28±0,04	–	–
Частота серцевих скорочень, хв ⁻¹	328,7±11,7	266,5±17,4**	499,3±38,5**	348,2±24,1	278,2±17,6**	489,2±16,0**
Пікова систолічна швидкість кровотоку, см×с ⁻¹	158,4±4,5	134,7±2,62**	91,3±2,9**	109,8±4,8*	90,8±4,9*,**	76,8±5,3*,**
Максимальна кінцева діастолічна швидкість кровотоку, см×с ⁻¹	10,9±0,7	21,9±1,7**	12,5±1,2**	17,5±1,8*	12,7±1,4*,**	11,9±1,6**
Індекс резистентності	0,83±0,01	0,83±0,01	0,83±0,01	0,82±0,02	0,85±0,02	0,86±0,02
Сістоло-діастолічне відношення	16,5±0,8	6,4±0,45**	7,9±0,7**	5,5±0,7*	7,48±0,7	6,59±0,7
Коефіцієнт дилатації, %	–	20,2±0,4	23,8±4,3	–	19,7±3,3	29,8±6,2
10-та доба іммобілізаційного стресу						
Внутрішньо-просвітний діаметр судини, мм	1,52±0,01	1,83±0,1**	1,85±0,08**	1,85±0,08*	1,47±1,12*,**	2,23±0,05***
Товщина комплексу інтима-медіа, мм	0,28±0,01	–	–	0,35±0,06	–	–
Частота серцевих скорочень, хв ⁻¹	330,8±15,6	264,8±16,7**	508,8±37,5**	458,5±26,2*	346,8±14,7*,**	571,2±12*,**
Пікова систолічна швидкість кровотоку, см×с ⁻¹	159,4±2,1	135,8±3,2**	93,8±2,2**	72,1±2,5*	47,4±4,5*,**	64,9±2,0*,**
Максимальна кінцева діастолічна швидкість кровотоку, см×с ⁻¹	10,3±0,6	21,5±2,3**	12,8±0,9**	19,3±0,8*	6,8±1,6*,**	11,4±0,8**
Індекс резистентності	0,83±0,01	0,83±0,01	0,83±0,01	0,76±0,03*	0,88±0,01*,**	0,84±0,01**
Сістоло-діастолічне відношення	15,1±2,2	6,0±0,8**	7,5±0,6**	4,9±0,9*	8,5±0,7*,**	5,7±0,5*
Коефіцієнт дилатації, %	–	21,2±5,5	22,3±4,5	–	-20,5±7,5*	20,7±2,8

* P<0,05 порівняно з контролем; ** P<0,05 порівняно з вихідними значеннями.



Динаміка середньої швидкості кровотоку у черевній аорті щурів при хронічному іммобілізаційному стресі: 1 – контрольна група, 2 – дослідна група; I – вихідні значення, II – після введення хлориду ацетилхоліну (ендотелійнезалежна дилатація), III – після введення нітрогліцерину (ендотелійнезалежна дилатація); А – перед початком експерименту, Б – на 5-ту добу експерименту, В – на 10-ту добу експерименту. * $P < 0,05$ порівняно з контролем; ** $P < 0,05$ порівняно з вихідними значеннями

у вигляді гомогенної структури і не мав характерної двошаровості, при цьому спостережуване збільшення його товщини не було статистично значуще. Також виявлені такі вірогідні зміни показників гемодинаміки: збільшення ЧСС, зниження V_{ps} і підвищення V_{ed} . V_m у них була нижчою, ніж у інтактних (див. рисунок). RI та S/D так само вірогідно знижувалися порівняно з контрольними значеннями (див. табл. 2).

Слід відмітити, що введення стандартної дози хлориду ацетилхоліну в стегнову вену в групі дослідних тварин викликало вазоконстрикцію черевної аорти, яка виявлялася зменшенням внутрішньопросвітнього діаметра на 20,5 %, водночас у тварин контрольної групи, як і раніше, спостерігалася дилатація судини (див. табл. 2). Крім того, в обох досліджуваних групах уповільнювалась ЧСС, але у дослідних тварин брадикардія була істотно більш виражена, ніж у контрольних ($P < 0,05$). V_{ps} достовірно знижувалася у всіх тварин: при цьому в дослідній групі цей показник був в 3 рази нижчим, ніж у контрольній. V_{ed} порівняно з вихідними значеннями достовірно підвищувалася в групі контролю і знижувалася – в дослідній групі. V_m у групі тварин, які

знали впливу хронічного іммобілізаційного стресу, зменшувалася ($P < 0,05$) порівняно з вихідними і контрольними значеннями. Крім того, у тварин дослідної групи було виявлено приріст значень показників, що характеризують периферичний опір у судині – RI і S/D , водночас у контрольній групі перший не змінювався, а другий – зменшувався.

Введення стандартної дози розчину нітрогліцерину в стегнову вену щурів викликало дилатацію черевної аорти у тварин обох груп. Однак у щурів дослідної групи значення внутрішньопросвітнього діаметра черевної аорти були достовірно вище, ніж у інтактних щурів. ЧСС збільшувалася в обох групах, але у дослідних тварин вираженість тахікардії була достовірно вище, ніж у контрольних. V_{ps} знижувалася у всіх тварин. V_{ed} достовірно збільшувалася в групі контролю і знижувалася порівняно з вихідними значеннями в дослідній групі. При цьому V_m в групі тварин, які зазнали впливу стресу, була нижче, ніж в групі контролю, але одночасно достовірно вище, ніж після введення хлориду ацетилхоліну (див. рисунок). У тварин дослідної групи вірогідно підвищувався RI щодо вихідних значень, однак порівняно з групою контролю

відмінностей у значенні цього показника не було встановлено. S/D у тварин дослідної групи незначно збільшувалося відносно вихідних значень, але все ж було достовірно нижче, ніж у групі контролю (див. табл. 2).

Таким чином, у результаті проведеного експерименту було встановлено, що 4-годинна щоденна іммобілізація 100-добових лабораторних щурів на 2-ту добу призводить до формування стадії резистентності стресу, а на 8-му – до стадії виснаження стресу. У стадії резистентності стресу не тільки зберігаються нормальні значення внутрішньопросвітнього діаметра черевної аорти та ультразвукові характеристики структури комплексу інтима-медіа, а й звичайна функція і чутливість ендотелію до хлориду ацетилхоліну. Однак уже в цій стадії стресу було встановлено порушення гемодинаміки – підвищення V_{ps} , зниження V_{ed} і V_m . Це відобразилося на зниженні серцевого викиду, що, напевно, зумовлено зміною клітинного складу і реології крові з одночасним підвищенням периферичного опору судинного русла [16], хоча на етапі розвитку стадії резистентності стресу жорсткості стінки черевної аорти не виявлено.

У стадії виснаження стресу нами встановлено розвиток дисфункції ендотелію, яка проявлялася зміною візуалізації комплексу інтима-медіа: його потовщенням і порушенням структури, а так само відсутністю реакції ендотелію на дію хлориду ацетилхоліну. Потовщення комплексу інтима-медіа разом зі збільшенням вихідного діаметра черевної аорти характеризувало процеси ремоделювання судини. Крім того, стадія виснаження стресу виявлялася вираженими змінами основних показників гемодинаміки: значно підвищувалася V_{ed} і знижувалися V_{ps} і V_m , розвивалася тахікардія, яка компенсувала зниження швидкості кровотоку за серцевий цикл. Разом з тим виявлялося достовірне зниження індексів периферичного опору, що визначало втрату пружноеластичних властивостей аорти. Проба з ендотелійзалежною дилатацією

виявила відсутність адаптаційних реакцій судинного русла на зміни гемодинаміки, викликані дією ацетилхоліну, і підвищення жорсткості стінки черевної аорти. Після введення нітрогліцерину гемодинаміка відновлювалася, проте не сягала значень контрольної групи, що підтверджувало незворотність патологічних змін у системі кровообігу, котрі відбулися під впливом хронічного стресу.

Отримані нами результати дають змогу уточнити механізми розвитку адаптивної реакції судинної стінки на емоційний стрес. За сучасними уявленнями, ендотелій є метаболічно активним органом, який відіграє вирішальну роль у регуляції судинного гомеостазу та запобіганні розвитку патології серцево-судинної системи, контролюючи тонус судин [17]. Він реагує на механічний вплив рідини, кров'яний тиск і відповідне напруження, створюване м'язовим шаром судини, чутливий до хімічних і структурних пошкоджень [18]. Участь ендотелію в вазодилатації опосередковується впливом на нього оксиду азоту, простагліцину і процесу ендотелійзалежної гіперполяризації [19]. Емоційний стрес – це фактор, що ушкоджує, серед механізмів адаптації до нього ключова роль належить гіпоталамо-гіпофізарно-аденокортикальній системі [20]. Вплив катехоламінів на ендотелій проявляється в гальмуванні синтезу оксиду азоту і посиленні утворення ендотеліну-1, що призводить до підвищення загального периферичного судинного опору [21]. Тривала дія медіаторів у стадії резистентності стресу призвела до дисфункції ендотелію і в стадії виснаження стресу – до оголення або фокального клітинного некрозу [22]. Вазоконстрикцію черевної аорти у відповідь на стимуляцію хлоридом ацетилхоліну можна пояснити руйнуванням ацетилхолінових рецепторів ендотелію і безпосереднім впливом медіатора на гладенькі м'язи інтими.

Однак реакція судин не може бути інтерпретована впливом декількох медіаторів, і,

за даними Гаркаві [3], тип адаптивної реакції залежить від ступеня біологічної активності подразника і реактивності організму.

Таким чином, для розуміння того, які фактори сприяють формуванню стадії виснаження стресу, розвитку дисфункції ендотелію і яка є залежність від віку, потрібно провести додаткові дослідження. Результати наших експериментальних досліджень щодо відповіді ендотелію судинної стінки свідчать, що при інтенсивному стресорному впливі у здорових особин лабораторних щурів, вік яких можна екстраполювати на пубертатний вік людини, тривало зберігаються компенсаторні можливості організму, в тому числі, ендотелію черевної аорти, які включаються в механізми нормалізації гемодинаміки. Виснаження компенсаторних механізмів збігається з розвитком ендотеліальної дисфункції та грубими порушеннями гемодинаміки, що не піддаються повної корекції.

Ця робота є фрагментом загальної НДР кафедри анатомії, фізіології людини і тварин Луганського національного університету імені Тараса Шевченка (м. Старобільськ) «*Механізми адаптації організму при впливі ендогенних і екзогенних факторів середовища*» (№ державної реєстрації 019800026641).

С.В. Гаврелюк, І.В. Чикина

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА НА РАЗВИТИЕ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ У КРЫС

Изучали механизмы влияния длительной иммобилизации на адаптацию сердечно-сосудистой системы организма у 100-суточных крыс. В частности, возможность оценки стадии стресса с помощью экстраполяции выраженности индуцированной эндотелиальной дисфункции в эксперименте. Животных исследовали ультразвуковым сканированием в течение 10 сут действия иммобилизационного стресса. По оценке изменений лейкограммы было установлено, что первая стадия стресса (тревоги) была непродолжительной или невыраженной, вторая стадия (резистентности) наблюдалась со 2-го по 7-й день, а с 8-го – развивалась стадия истощения. По результатам вариационного анализа показателей гемодинамики выявлены некоторые особенности перестройки реакции сосудистой стенки в зависимости от

стадии стресса. Стадия резистентности характеризовалась сохранением внутрисосудового диаметра брюшной аорты на уровне $1,5 \pm 0,1$ мм, структуры и толщины комплекса интима-медиа на $0,28 \pm 0,04$ мм и чувствительности эндотелия к ацетилхолину, однако, менялись скоростные показатели гемодинамики, которые определяли снижение средней скорости кровотока. В стадии истощения стресса были обнаружены признаки эндотелиальной дисфункции: изменение структуры комплекса интима-медиа и отсутствие реакции эндотелия на действие хлорида ацетилхолина, и типичные черты ремоделирования стенки брюшной аорты: утолщение комплекса интима-медиа до $0,35 \pm 0,06$ мм и увеличение внутрисосудового диаметра сосуда до $1,9 \pm 0,1$ мм. Изменения скоростных показателей гемодинамики определяли снижение средней скорости кровотока и повышение жесткости стенки брюшной аорты.
Ключевые слова: иммобилизационный стресс; дисфункция эндотелия; брюшная аорта; показатели гемодинамики.

S.V. Gavreliuk, I.V. Chykina

EFFECT OF CHRONIC IMMOBILIZATION STRESS ON THE DEVELOPMENT OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN RATS

We studied the impact of prolonged immobilization on adaptation of the cardiovascular system in 100-day-old rats, in particular, the possibility of stress evaluation via extrapolation of expression of endothelial dysfunction induced experimentally. The animals were examined by ultrasonic scanning within 10 days of immobilization stress. According to the changes in leukogram, it was found that the first stage of stress (anxiety) was short or unexpressed, the second stage (resistance) was observed from the 2nd to the 7th day, and the stage of exhaustion developed on the 8th day. As a result of analysis of variance, hemodynamics revealed some features of the restructuring of the reaction vessel wall, depending on the stage of the stress. The stage of resistance was characterized by intraluminal diameter of the abdominal aorta at the level of 1.5 ± 0.1 mm, the thickness of the structure and the intima-media at 0.28 ± 0.04 mm and endothelial sensitivity to acetylcholine. Under stress, the signs of endothelial dysfunction were detected: the changes in the structure of the intima-media and the lack of response of the endothelium to acetylcholine, and the characteristics of abdominal aortic wall remodeling: thickening of the intima-media complex to $0,35 \pm 0,06$ mm and an increased intraluminal diameter to 1.9 ± 0.1 mm. The changes in speed of hemodynamic parameters determined a decrease in the mean blood flow velocity and an increase in the stiffness of the abdominal aortic wall.

Key words: immobilization stress; endothelial dysfunction; abdominal aorta; hemodynamic parameters.

National University of Physical Education and Sport of Ukraine, Kyiv

REFERENCES

1. Selye H. Stress and Disease. Science. 1955;122(3171): 625-31.
2. Akarachkova ES, Vershinina SV, Kotova OV, Rjabokon' IV. Basics of the therapy and prevention of stress and its effects in children and adolescents. Cur pediatri. 2013;12(3):38-44. [Russian].
3. Garkavi LH, Kvakina EB, Kuz'menko TS. Antistress reactions and activation therapy. The reaction of activation as a way to health through self-organization processes. Moscow: Imedis. 1998. [Russian].
4. Sumin AN, Sumina LJ, Galizmjanov DM, Vasil'eva ND. Reaction hemodynamics and endothelium-dependent vasodilation in response to stress, muscle relaxation, and their combination in healthy adolescents. Cardiovasc Therapy Prevent. 2006;7:69-74. [Russian].
5. Drachuk K.O., Kotsjuruba A.V., Sagach V.F. Hydrogen sulfide donor, NaHS, recovers constitutive NO synthesis and endothelium-dependent relaxation of isolated aorta in old rats. Fiziol Zh. 2015;61(6):3-10. [Ukrainian].
6. Gavreliuk SV. Study status of peripheral vascular in adolescent boys depending on the functional state of the autonomic nervous system. Actual Probl Mod Med Vol. 2015;1(53):189-93. [Russian].
7. Kushnir SM, Antonova LK. Vegetative-regulatory maladjustment in adolescent children. Terminology, formation mechanisms, classification. Upper Volg Med J. 2011;4:102-7. [Russian].
8. Bruyndonckx L, Hoymans VY, De Guchtenaere A, Van Helvoirt M, Van Craenenbroeck EM, Frederix G, Lemmens K, Vissers DK, Vrints CJ, Ramet J, Conraads Diet VM. Diet, exercise, and endothelial function in obese adolescents. Pediatrics. 2015;135(3):653-61.
9. Wei Y, Liu G, Yang J, Zheng R, Jiang L, Bao P. The association between metabolic syndrome and vascular endothelial dysfunction in adolescents. Exp Therap Med. 2013;5(6):1663-6.
10. Daviu N, Rabasa C, Nadal R, Armario A. Comparison of the effects of single and daily repeated immobilization stress on resting activity and heterotypic sensitization of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Stress. 2014;17(2):176-85.
11. Bruder-Nascimento T, Campos DH, Cicogna AC, Cordellini S. Chronic Stress Improves NO- and Ca²⁺ Flux-Dependent Vascular Function: A Pharmacological Study. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. 2015;104(3):226-33.
12. Mahin'ko VI, Nikitin VN. Constant growth and functional development periods of postnatal life in albino rats. K.: Naukova Dumka. 1975; p. 308-26. [Russian].
13. Gelashvili OA. Option periodization biologically similar stages of ontogeny of human and rat. Sarat J Med Sci Res. 2008;4(4):125-6. [Russian].
14. Baraboj VA, Reznikov OG. Fiziologiya, biohimiya i psihologiya stresu. K.: Interservis. 2013. [Ukrainian].
15. Kozinec GI, Pogorelov VM, Shmarov DA. Blood cells - modern technology analysis. Moscow: Triadafarm. 2002. [Russian].
16. Leljuk VG, Leljuk SJe. Ultrasonic Angiology. M.: Real'noe vremja. 2003. [Russian].
17. Villar IC, Francis S, Webb A, Hobbs AJ, Ahluwalia A. Novel aspects of endothelium-dependent regulation of vascular tone. Kidn Int. 2006;70:840-53.
18. Lupinskaja ZA, Zarif'jan AG, Gurovich TC, Shlejfer SG. The endothelium: Function and Dysfunction. B.: KRSU. 2008. [Russian].
19. Zhao Y, Vanhoutte PM, Leung SW. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. Pharmacol Sci. 2015;129(2):83-94.
20. Selye H. Stress and the general adaptation syndrome. BMJ. 1950;1(4667):1383-92.
21. Babijchuk LV, Babijchuk VG, Sirotenko LA, Malova NG, Koval' SN. Influence of cryopreserved cord blood nucleated cells on the level of the end products of nitric oxide metabolism in blood serum of rats of different age groups on the background of stress-induced hypertension. Theor Exp Med. 2015;3(68):5-9. [Russian].
22. Bo SJ. Vascular Endothelial Dysfunction and Pharmacological Treatment. World J Cardiol. 2015;7(11):719-41.

*Матеріал надійшов
до редакції 15.09.2016*