

УДК 615.214

УЛЬЦЕРОГЕНЕЗ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ СТРЕССА РАЗНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ

М. Ю. Раваева, Е. Н. Чуян, Е. А. Бирюкова, Э. Р. Джелдубаева, И. В. Черетаев, Р. Н. Аблаева, Н. Р. Шехмамбетов, А. Д. Абдурафиев

*ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского»,
Таврическая академия, Симферополь, Россия, ravaevam@yandex.ru*

Исследование посвящено изучению язвообразования слизистой оболочки желудка у животных, находящихся в условиях стрессов разной интенсивности: острого, хронического и их различной комбинации. В ходе работы установлено, что любые виды стрессорного воздействия вызывают ulcerогенные повреждения, т.е. язвообразование является неспецифическим признаком развития стресс-реакции, в то же время, выраженность ulcerогенеза может являться маркером интенсивности стресса. Наиболее выраженный ulcerогенный эффект оказывает сочетание хронического и острого стрессов.

Ключевые слова: ulcerогенез, хронический стресс, острый стресс, крысы.

Введение

На современном этапе развития общество характеризуется все большим распространением так называемых «болезней цивилизации», в основе возникновения которых лежит эмоциональный стресс [1]. Постоянные и длительные неблагоприятные воздействия, которые испытывает организм человека в условиях техногенного прессинга, социальной нестабильности, напряженного ритма жизни, являются этиологическим фактором многих заболеваний [2], в т. ч. язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки.

По мнению П. Я. Григорьева [3], язвообразование, вызванное действием стресса, оправданно называть «острые эрозии и язвы», так как они включают в себя не только стрессовые, но и сходные с ними по морфологическим и клиническим признакам другие виды острых изъязвлений слизистой оболочки.

Имеются данные, что возникающие экстремальные состояния могут как вызывать образование острых стрессовых язв, так и способствовать обострению существовавшей ранее язвенной болезни. При развитии ряда критических состояний (инфаркт миокарда, острая почечная и печеночная недостаточность) определяются состояния, предшествующие их проявлению, способные влиять на слизистую оболочку, вызывая развитие язвы или язвенной болезни. Действительно, острые язвы чаще возникают у людей, страдающих тяжелыми соматическими заболеваниями, эндогенными интоксикациями, после тяжелых травм и операций, сопровождающихся сочетанием стрессовых факторов: шок, коллапс, гиповолемия, гипоксемия, почечная и печеночная недостаточность, нарушение свертываемости крови, тяжелые невротические осложнения, эмоциональная лабильность и др.

Патогенез острых эрозий и язв слизистой оболочки желудка и нижних отделов ЖКТ сложен и чрезвычайно неоднороден. Имеется множество гипотез, которые предлагают разные объяснения механизмов возникновения язвенных поражений слизистой оболочки ЖКТ. Однако, в целом, на сегодняшний день нет единого мнения по поводу теории

возникновения ulcerогенных повреждений, в связи с этим, актуальным является изучение ulcerогенных повреждений на моделях стресса у животных. Вместе с тем, моделирование стресса на животных не всегда соответствует реалиям современной жизни, где человек подвергается одновременному действию стресс-факторов разной интенсивности и разной комбинации. Поэтому особую актуальность представляют исследования ulcerогенеза не только при изолированном действии острого и хронического стресса, но также их сочетаний, что и явилось целью настоящего исследования.

Материалы и методы исследования

Экспериментальная часть работы выполнялась на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» кафедры физиологии человека и животных и биофизики КФУ имени В. И. Вернадского.

Исследование проведено в соответствии с ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и иных научных целях, правилами лабораторной практики при проведении доклинических исследований [4].

Эксперимент проводился на 50 половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой 190–210 грамм, которые содержались в условиях вивария с естественным 12-тичасовым свето-темновым режимом, при температуре 18–22°C со свободным доступом к воде и полноценному гранулированному корму [5].

Для эксперимента были отобраны животные одинакового возраста, характеризующиеся средней двигательной активностью и низкой эмоциональностью в тесте открытого поля, которые составляют большинство в популяции [6]. Такой отбор позволил сформировать однородные группы животных с одинаковыми конституционными особенностями, одинаково реагирующих на действие различных факторов.

После предварительного отбора животных разделили на 5 групп по 10 особей в каждой. Животные, находящиеся в первой группе, являлись биологическим контролем и находились в обычных условиях вивария. Животные второй группы подвергались изолированному действию острого стресса (ОС). Животные третьей группы подвергались изолированному действию хронического гипокинетического стресса (ГК). Животные четвертой группы подвергались последовательному воздействию хронического гипокинетического (1–10 сутки эксперимента), а затем на 10 сутки действию острого стресса (ГК-ОС). Животные пятой группы подвергались последовательному воздействию острого стресса (1 сутки), а затем хроническому гипокинетическому (1–10 сутки эксперимента) (ОС-ГК) стрессу.

Хронический стресс моделировался ограничением подвижности, (гипокинезией, ГК), что достигалось помещением крыс в специальные кассеты из оргстекла (140 × 60 × 60 мм для каждой крысы), в которых они находились в течение 10-ти суток по 20 часов. В течение 4-х остальных часов проводили экспериментальные исследования, кормление и уход за животными. Острая стресс-реакция была индуцирована в модели теста вынужденного плавания. При этом животных помещали в бассейн (уровень воды — 30 см, температура воды +20°C), где они находились в течение 60 мин без возможности выбраться из воды. За 24 часа до стрессорного воздействия животные были лишены пищи при свободном доступе к воде. Подробнее методика моделирования ОС и ГК описана в [7].

Эвтаназия животных осуществлялась по окончании эксперимента под эфирным наркозом методом кранио-цервикальной дислокации, после чего у животных извлекались желудки, вскрывались по малой кривизне и промывались холодным физиологическим раствором. Затем макроскопически с помощью лупы при ярком освещении определяли следующие показатели повреждений:

— общую площадь точеных язвенных поражений, мм² (площадь каждого принимается равной 1 мм²),

— общую площадь эрозивных повреждений, мм² (в случае линейных эрозий их измеряли по длине (в мм), а ширина принималась равной 1 мм).

В процессе обработки результатов исследования учитывались среднее количество изъязвлений на одно животное в группе, процент животных с язвами и эрозиями, а также вычисляли индекс Паулса [8].

Индекс Паулса (ИП) определяли, как интегральный показатель количества деструкций по формуле:

$$\text{ИП} = \frac{\text{Среднее кол-во язв} * \text{кол-во животных с язвами (\%)}}{100 \%} \quad (1)$$

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета Статистика 5.5 с использованием критериев Манна-Уитни (для межгрупповых различий), достоверность различий результатов считалась при $p \leq 0,05$.

Для оценки модифицирующего действия гипокINETического стресса (ГК) на изменение показателей ulcerogenesis при остром стрессе (ОС), использовался коэффициент модификации (КМГК), который вычислялся по формуле:

$$\text{КМ}_{\text{ГК}} = \frac{X_{\text{ГК-ОС}} - X_{\text{ОС}}}{X_{\text{ОС}}} \quad (2)$$

где $X_{\text{ГК-ОС}}$ — значение изученного показателя в группе животных, которые до экспериментального воздействия ОС подвергались предварительному действию ГК;

$X_{\text{ОС}}$ — значение изученного показателя в группе животных, подвергнутых изолированному действию ОС.

Для оценки модифицирующего действия ОС на изменение показателей ulcerogenesis при ГК, использовался коэффициент модификации (КМОС), который вычислялся по формуле:

$$\text{КМ}_{\text{ОС}} = \frac{X_{\text{ОС-ГК}} - X_{\text{ГК}}}{X_{\text{ГК}}} \quad (3)$$

где $X_{\text{ОС-ГК}}$ — значение изученного показателя в группе животных, которые до экспериментального воздействия ГК подвергались предварительному действию ОС;

$X_{\text{ГК}}$ — значение изученного показателя в группе животных, подвергнутых изолированному действию ГК.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведенные эксперименты показали, что у животных контрольной группы ulcerогенных повреждений не наблюдалось, в то время как у животных 2–5 экспериментальных групп ulcerогенные повреждения сопровождают все виды стрессовых воздействий. Так, у животных, подвергавшихся действию острого стресса (ОС) средняя площадь повреждений на одно животное составила $2,83 \pm 0,44$ мм², при этом площадь

точечных язв — $8,6 \pm 0,9$ мм², площадь линейных язв — $19,7 \pm 3,4$ мм². При хроническом гипокинетическом (ГК) стрессе средняя площадь повреждений на одно животное составила $1,1 \pm 0,23$ мм², площадь точечных язв — $3,0 \pm 0,6$ мм², площадь линейных язв — $8,0 \pm 1,65$ мм². Таким образом, при ГК стрессе наблюдается меньшее число ulcerогенных повреждений, чем при остром стрессе, в пользу чего свидетельствует значение индекса Паулса, который был в 5,1 раз ниже такового при ОС (рис. 1).

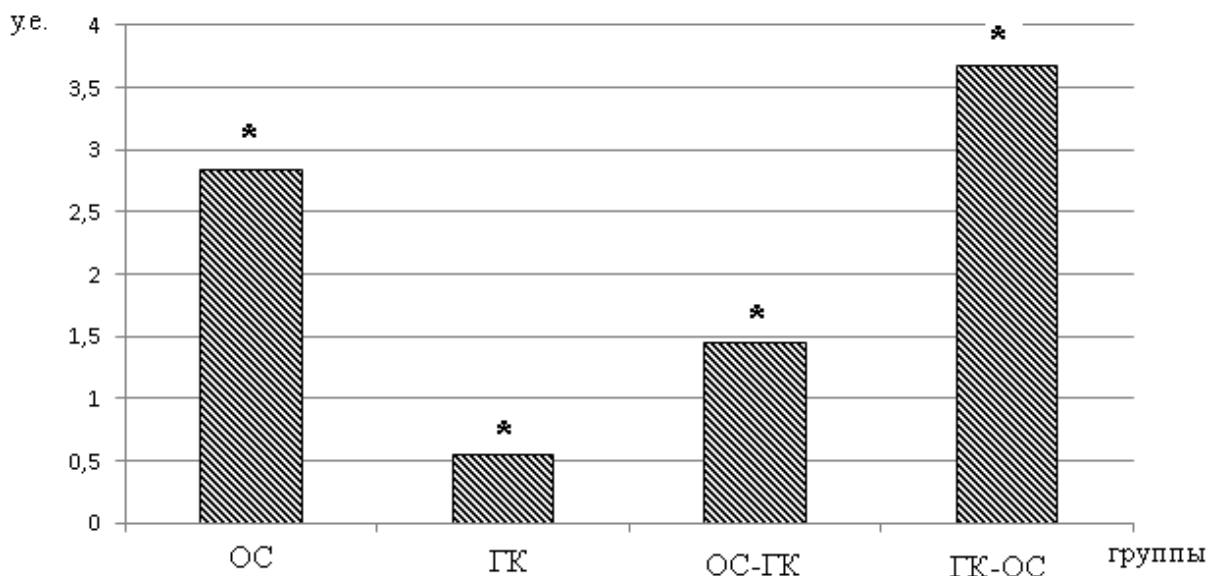


Рис. 1. Значение индекса Паулса у животных экспериментальных групп при изолированном действии острого (ОС), хронического гипокинетического (ГК) стресса, последовательного действия острого и хронического (ОС-ГК) и хронического и острого (ГК-ОС) факторов.

Примечание: * — достоверность различий показателей ulcerогенеза у экспериментальных групп по отношению к таковым в контрольной группе животных при $p \leq 0,05$.

Сочетание стрессов разной интенсивности также модифицировало ulcerогенез у животных. Так, при последовательном действии ОС и ГК стресса средняя площадь повреждений на одно животное составила $2,1 \pm 0,28$ мм², площадь точечных язв — $5,3 \pm 0,75$ мм², площадь линейных язв — $15,5 \pm 2,1$ мм², ИП — 1,45. При другой последовательности действия стрессоров ГК и ОС средняя площадь повреждений на одно животное составила $3,68 \pm 0,42$ мм², площадь точечных язв — $12,9 \pm 0,9$ мм², площадь линейных язв — $23,9 \pm 3,3$ мм², ИП — 3,68 (рис. 1).

В целом, результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что все виды стрессов и их сочетаний вызывают язвообразование, однако, его выраженность зависит от стрессора. Наиболее сильный ulcerогенный эффект оказывает сочетание ГК и ОС (ИП 3,68) и изолированный ОС (ИП 2,83), на третьем месте последовательное действие ОС-ГК (ИП 1,45), а наименее выраженное действие оказывает ГК стресс (ИП 0,55).

О модифицирующем действии сочетания стрессоров, таких как ОС-ГК и ГК-ОС на ulcerогенез свидетельствует коэффициент модификации (КМ) (рис. 2). Предваряющее гипокинезию действие острого стресса увеличивает степень ulcerогенных повреждений, о чем свидетельствует коэффициент модификации ИП, который был > 1 , тогда как КМ остальных показателей приближались к единице. В то же время действие острого стрессорного фактора на животных, предварительно находящихся в условиях гипокинезии, было менее значительным, поскольку КМ исследованных показателей не достигал единицы (рис. 2).

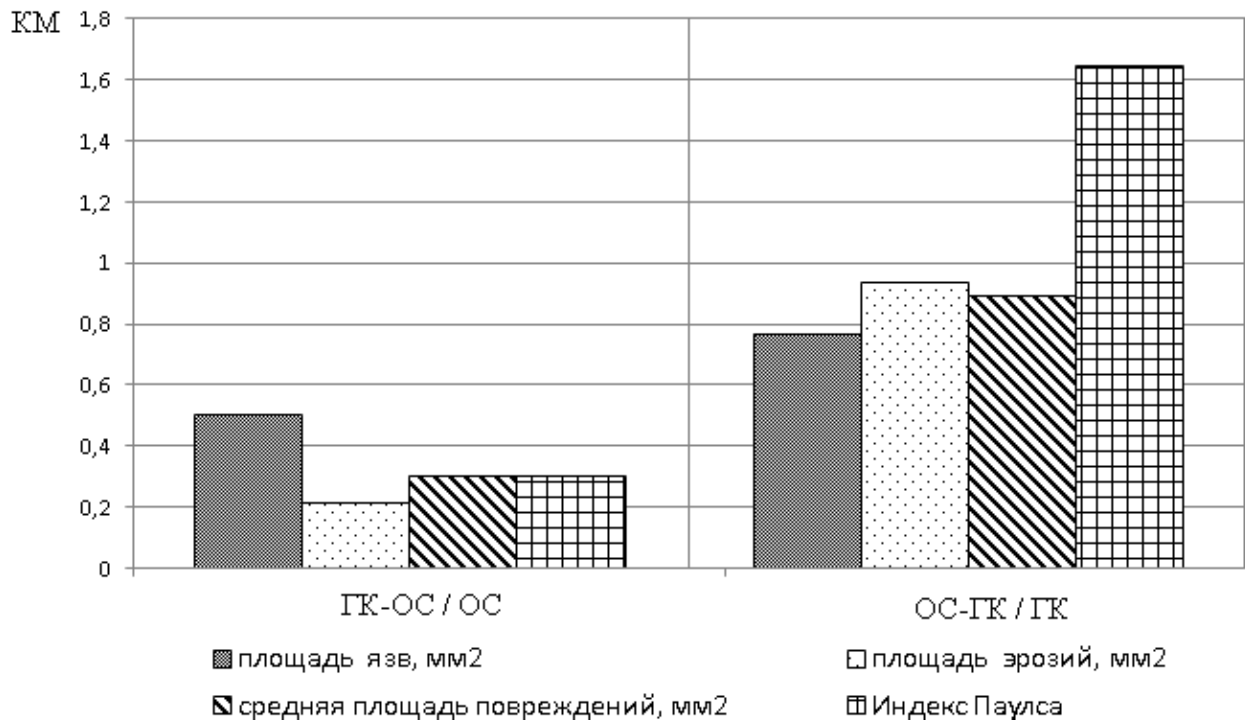


Рис. 2. Коэффициент модификации показателей ulcerогенеза у животных при последовательном действии хронического и острого стресса по отношению к таковым в группе животных острого стресса (ГК-ОС / ОС) и при последовательном действии острого и хронического стресса по отношению к таковым в группе животных хронического стресса (ОС-ГК / ГК).

Таким образом, любые виды стрессорного воздействия вызывают ulcerогенные повреждения, т. е. язвообразование является неспецифическим признаком развития стресс-реакции, в то же время, выраженность ulcerогенеза может являться маркером интенсивности стресса. Наиболее выраженный ulcerогенный эффект оказывает сочетание хронического и острого стрессов.

Информация о финансировании

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Совета Министров Республики Крым в рамках научного проекта № 18-44-910008 р_а.

Список литературы

1. Stress, life events, and socioeconomic disparities in health: results from the Americans' Changing Lives Study / [Lantz P.M., House J.S., Mero R.P., Williams D.R.] // J. Health Soc. Behav. — 2005. — V.46, № 3. — P. 274–288.
2. Multiple roles and health among British and Finnish women: the influence of socioeconomic circumstances / [Lahelma E., Arber S., Kivelä K., Roos E.] // Soc. Sci. Med. — 2002. — V.54, №5. — P. 727–740.
3. Григорьев П. Я. Диагностика, лечение и профилактика кислотозависимых заболеваний // Российский гастроэнтерологический журнал. — 1996. — №3. — С. 53–65.
4. ГОСТ Р-53434-2009 Принципы надлежащей лабораторной практики. — <http://internet-law.ru/gosts/gost/48600/>

5. ГОСТ 33215–2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур. — URL: www.internetlaw.ru/gosts/gost/61242/

6. Чуюн Е. Н. Влияние миллиметровых волн нетепловой интенсивности на развитие гипокинетического стресса у крыс с различными индивидуальными особенностями: Автореф. дис...канд. биол. наук / Е. Н. Чуюн — Симферополь, 1992. — 25 с.

7. Раваева М. Ю. Адаптация тканевой микрогемодинамики к условиям комбинации стрессовых факторов / М. Ю. Раваева, Е. Н. Чуюн // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. / Химия. — 2018 — Т. 4 (70). — С. 165–179.

8. An assau method for anti ulcer substances / [Pauls F., Wick A.M., Mac. Key E.M. et al.] // Gastroenterology. — 1947. — №8. — P. 774–782.

ULCEROGENESIS OF RATS DURING DIFFERENT INTENSITY STRESS MODELING

Ravaeva M. Yu., Chuyan E. N., Birukova E. A., Dzeldubaeva E. R., Cheretaev I. V., Ablaeva R. N., Shekhmambetov N. R., Abdurafiev A. D.

*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Taurida academy, Simferopol, Russia
ravaevam@yandex.ru*

The present study is devoted to the investigation of gastric mucosa ulceration in animals under stress of varying intensity, they were: acute stress, chronic stress, and various combinations of them. During this study it was found that any types of stress stimulation cause ulcerogenic damage, i.e. ulceration is a nonspecific sign of the development of a stress reaction. At the same time the intensity of ulcerogenesis may be a marker of the stress intensity. The combination of chronic and acute stress show the most prominent ulcerogenic effect.

Keywords: ulcerogenesis, acute stress, chronic stress, rats.

References

1. Lantz P.M., House J.S., Mero R.P., Williams D.R. Stress, life events, and socioeconomic disparities in health: results from the Americans' Changing Lives Study, *J. Health Soc. Behav.*, 46 (3), 2005
2. Lahelma E., Arber S., Kivelä K., Roos E. Multiple roles and health among British and Finnish women: the influence of socioeconomic circumstances, *Soc. Sci Med.*, 54 (5), 2002
3. Grigor'yev P. Ya. Diagnostika, lecheniye i profilaktika kislotozavisimyykh zabolevaniy, *Rossiyskiy gastroenterologicheskiy zhurnal.* (3), 1996

4. GOST R–53434–2009 Printsipy nadlezhashchey laboratornoy praktiki. – <http://internet-law.ru/gosts/gost/48600/>
5. GOST 33215–2014. Rukovodstvo po sodержaniyu i ukhodu za laboratornymi zhivotnymi. Pravila oborudovaniya pomeshcheniy i organizatsii protsedur. – URL: www.internetlaw.ru/gosts/gost/61242/.
6. Chuyan Ye. N. Vliyaniye millimetrovykh voln neteplovoy intensivnosti na razvitiye gipokineticheskogo stressa u krys s razlichnymi individual'nymi osobennostyami: Avtoref. dis...kand. biol. nauk / Ye. N. Chuyan – Simferopol', (1992).
7. Ravayeva M. Yu., Chuyan Ye. N. Adaptation of tissue microhemodynamics to the conditions of combination of stress factors // Uchenyye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo Biologiya. Khimiya, 4 (70), 2018
8. Pauls F., Wick A.M., Mac. Key E.M. et al. An assau method for anti ulcer substances, Gastroenterology, 8, 1947