

Предупреждение стрессорной дислипидемии с помощью адаптации к коротким стрессорным воздействиям

Ф. З. Меерсон, В. П. Твердохлиб, Г. Т. Лобанова, Л. Ю. Голубева, А. А. Никоноров

Адаптация к кратковременным стрессорным воздействиям приводит к ограничению стресс-реакции и предупреждает многообразные стрессорные повреждения (от стрессорных язв желудка до нарушений противоопухолевого иммунитета, или стрессорных аритмий) [4]. Однако применительно к стрессорной дислипидемии, которая, как теперь показано, может наблюдаться у людей и животных при стабильной диете [5, 8, 19], этот вопрос не изучали. Не изучали и защитный эффект указанной адаптации применительно к стрессорным нарушениям метаболизма печени, которая, как известно, играет ключевую роль в метаболизме холестерина. В соответствии с этим цель настоящей работы состояла в том, чтобы выяснить, в какой мере предварительная адаптация к кратковременным стрессорным воздействиям может предупредить атерогенную стрессорную дислипидемию и сопутствующую ей активацию перекисного окисления липидов (ПОЛ) и инактивацию антиоксидантных ферментов в печени при длительном эмоционально-болевым стрессе (ЭБС).

Методика

Опыты проводили на крысах-самцах линии Вистар массой 180—220 г. Адаптацию к стрессорным воздействиям воспроизводили, подвергая животных ЭБС, т. е. вызывая невроз по Desiderato [13] в течение 15 сут в следующем режиме: 1-е сутки — 15 мин, 2-е сутки — 30 мин, 3-и сутки — 45 мин, последующие 11-е сутки — по 1 ч в сутки. Длительное стрессорное воздействие воспроизводили, подвергая животных ЭБС однократно в течение 6 ч. Исследовали 9 групп животных: 1-я группа — интактные крысы (контроль), 2-я и 3-я — животные, перенесшие длительный ЭБС и взятые в опыт через 2 и 24 ч после завершения ЭБС, 4-я — животные, адаптированные к ЭБС, 5-я и 6-я группы — животные, перенесшие длительный ЭБС после предварительной адаптации и взятые в опыт после завершения ЭБС через 2 и 24 ч соответственно, 7-я — интактные животные, получавшие антиоксидант ионол, 8-я — животные, перенесшие ЭБС после получения ионола и взятые в опыт соответственно через 2 и 24 ч после завершения ЭБС. Ионол вводили в течение 3 сут ежедневно перорально (20 мг/кг, растворенный в 0,5 мл подсолнечного масла). Животных забивали декапитацией, собирали кровь, быстро извлекали печень и замораживали ее в жидком азоте.

Для оценки липидного обмена в сыворотке крови определяли содержание общего холестерина ($X_{\text{общ}}$) и триглицеридов (ТГ), в липопротеидах высокой плотности содержание холестерина ($X_{\text{ЛПВП}}$) после осаждения апо-В-содержащих липопротеидов $MnCl_2$ и гепарином [7]. При этом исходили из известного положения о том, что между содержанием $X_{\text{ЛПВП}}$ и атеросклеротическим поражением сосудов существует отрицательная корреляция [23, 16, 17], а для холестерина липопротеидов низкой и очень низкой плотности ($X_{\text{ЛПНП}}$ и $X_{\text{ЛПОНП}}$), напротив, положительная [2, 9, 14]. Эти данные, подтвержденные эпидемиологическими и биохимическими экспериментальными исследованиями [14, 15, 17], явились основанием для представления об антиатерогенной роли ЛПВП и для использования в работе с целью оценки обмена липидов индекса атерогенности (ИА) [1], равного отношению $\frac{X_{\text{общ}} - X_{\text{ЛПВП}}}{X_{\text{ЛПВП}}}$. В гомогенатах печени

определяли содержание одного из продуктов ПОЛ — малонового диальдегида (МДА) — по его реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой и активность одного из основных антиоксидантных ферментов — супероксиддисмутазы (СОД) по методу Ohkawa и соавт. [18]. Скорость липоперекисления в печени оценивали по индукции неферментативного ПОЛ системой Fe^{2+} -аскорбат [18].

Результаты и их обсуждение

Результаты, приведенные в табл. 1, свидетельствуют в пользу того, что под влиянием длительного ЭБС наблюдается заметное снижение содержания в сыворотке крови ХС_{ЛПВП}, увеличение ИА через 2 ч после завершения стрессорного воздействия. Эти сдвиги достигают максимума через сутки после ЭБС, когда содержание ХС во фракции ЛПВП оказывается уменьшенным более, чем в 2 раза по сравнению с контролем. Соответственно ИА оказывается увеличенным более, чем в 4 раза, что в целом соответствует ранее полученным данным [8]. Таким образом, однократный длительный стресс вызывает выраженную атерогенную дислипидемию.

Таблица 1. Влияние эмоционально-болевого стресса и адаптации к коротким стрессорным воздействиям на содержание липидов в сыворотке крови и индекс атерогенности ($M \pm m$)

Условия опыта, группа животных	Число животных	Холестерин, мг/дл		Триглицериды мг/дл	Индекс атерогенности (ИА)
		общий	ЛПВП		
Контроль, 1-я	10	70,8 $\pm$ 3,5	52,6 $\pm$ 3	52,8 $\pm$ 4	0,35
ЭБС (2 ч после воздействия), 2-я	9	66,4 $\pm$ 2	43,6 $\pm$ 2	46,3 $\pm$ 3	0,52
ЭБС (24 ч после воздействия), 3-я	9	58,6 $\pm$ 4,5	22,7 $\pm$ 1,7*	40,8 $\pm$ 3	1,6
Адаптация, 4-я	9	65,4 $\pm$ 7	48,4 $\pm$ 3,2	20,2 $\pm$ 3,4*	0,35
Адаптация+ЭБС (2 ч после воздействия), 5-я	8	55,8 $\pm$ 6	42,7 $\pm$ 3	10,2 $\pm$ 1,4*	0,3
Адаптация+ЭБС (24 ч после воздействия), 6-я	8	55,4 $\pm$ 5,6	32,7 $\pm$ 4**	8,8 $\pm$ 1**	0,7
Ионол, 7-я	8	68,2 $\pm$ 5,8	50,2 $\pm$ 3,8	50,8 $\pm$ 7	0,36
Ионол+ЭБС (2 ч после воздействия), 8-я	9	70,2 $\pm$ 4	50,4 $\pm$ 5	44,2 $\pm$ 6	0,39
Ионол+ЭБС (24 ч после воздействия), 9-я	8	65,8 $\pm$ 1	34,7 $\pm$ 3***	34 $\pm$ 6	0,8

* Достоверность различий (P) между группами 2 и 1,3 и 1,5 и 1,7 и 1. ** Достоверность различий между группами 5 и 4,6 и 4. *** Достоверность различий между группами 8 и 7,9 и 7.

Второе положение, вытекающее из результатов, представленных в табл. 1, состоит в том, что постепенная адаптация к кратковременным стрессорным воздействиям, не влияя существенно на общее содержание холестерина в сыворотке крови, вместе с тем предупреждает или существенно ограничивает стрессорную дислипидемию. Действительно, как видно из табл. 1, через 2 ч после завершения стрессорного воздействия ИА у предварительно адаптированных животных остается неизменным по сравнению с контролем, а через сутки после стресса ИА увеличивается в 2 раза менее интенсивно, чем у неадаптированных животных. Таким образом, адаптация, закономерно сопряженная с активацией стресс-лимитирующих систем организма, реально предупреждает стрессорную атерогенную дислипидемию.

При анализе этого выраженного защитного эффекта адаптации важно было выяснить, какие именно стресс-лимитирующие системы играют в нем основную роль. Поскольку активация перекисного окисления липидов в жизненно важных органах составляет, как показано ранее [4, 5], ключевое звено патогенеза стрессорного повреждения, мы предположили, что существенная роль в антистрессорном эффекте адаптации при-

надлежит антиоксидантным системам организма. На основе этого предположения для предупреждения стрессорной дислипидемии вместо адаптации к стрессорным воздействиям был использован синтетический антиоксидант ионол, который вводили ежедневно (20 мг/кг) в течение 3 сут перед стрессом.

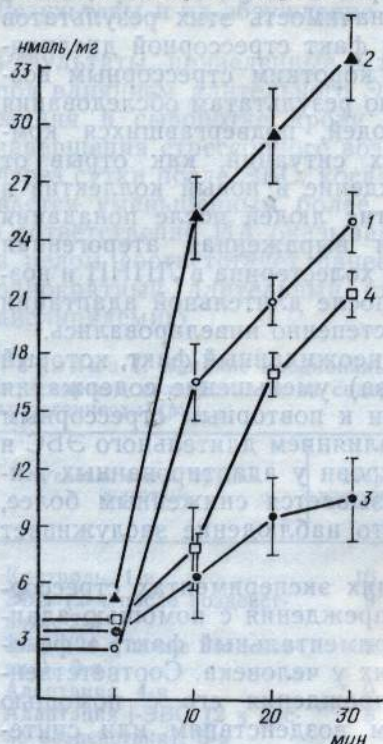
Соответственно третье положение, вытекающее из табл. 1, состоит в том, что введение перед стрессом ионола предотвращает или ограничивает стрессорную дислипидемию примерно в такой же мере, как и адаптация к стрессорным воздействиям. Значимость этих результатов определяется тем, что установленный нами факт стрессорной дислипидемии и ее предупреждение адаптацией к коротким стрессорным воздействиям соответствует полученным недавно результатам обследования организованного контингента молодых людей, подвергавшихся комплексному воздействию таких стрессорных ситуаций, как отрыв от семьи, ломка жизненного стереотипа, вхождение в новый коллектив и физическая работа [6]. Показано, что у этих людей после попадания в новую, трудную ситуацию развивается выраженная атерогенная дислипидемия, проявляющаяся увеличением холестерина в ЛПНП и возрастании ИА. Лишь три месяца спустя — после длительной адаптации к стрессорным ситуациям, — эти явления постепенно нивелировались.

Обращает на себя внимание несколько неожиданный факт, который состоит в том, что значительное (в 2,5 раза) уменьшение содержания ТГ в крови, наблюдающееся при адаптации к повторным стрессорным воздействиям, еще более усугубляется под влиянием длительного ЭБС и в результате содержание ТГ в сыворотке крови у адаптированных животных, перенесших длительный ЭБС, оказывается сниженным более, чем в 5 раз по сравнению с контролем. Это наблюдение заслуживает самостоятельного анализа.

Таким образом, наблюдавшаяся в наших экспериментах стрессорная дислипидемия и возможность ее предупреждения с помощью адаптации представляют собой не просто экспериментальный факт, а феномен, развивающийся в естественных условиях у человека. Соответственно доказанная нами возможность предупреждения его с помощью предварительной адаптации к стрессорным воздействиям или синтетических антиоксидантов приобретает важное практическое значение. Вместе с тем этот феномен ставит вопрос, где конкретно развивается повреждающая активация ПОЛ, которая играет столь важную роль в возникновении стрессорной дислипидемии.

Результаты, представленные в табл. 2, характеризуют влияние ЭБС на концентрацию промежуточного продукта ПОЛ — малонового диальдегида (МДА) и активность важного антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы (СОД) в печени, а также показывают, как влияет стресс на активность в сыворотке крови фермента фруктозо-1-фосфаталядозы, т. е. на показатель, который в клинике используется как критерий повреждения печеночных клеток [1]. Из табл. 2 следует, что стресс закономерно вызывает активацию ПОЛ и в печени, которая выражается увеличением концентрации МДА вдвое, резким снижением активности СОД в печеночной ткани и одновременным (в 3—4 раза) увеличением содержания органоспецифичного для печени фермента фруктозо-1-дифосфаталядозы в сыворотке крови. Этот комплекс сдвигов, свидетельствующих об активации ПОЛ и повреждении печени, достигает максимума через 24 ч после стрессорного воздействия, а затем — постепенно нивелируется. Оба использованные нами перед стрессорным воздействием фактора защиты (адаптация к кратковременным стрессорным воздействиям и антиоксидант ионол) предупреждают указанный комплекс стрессорных повреждений печени примерно в такой же мере, как и стрессорную дислипидемию. Интересно при этом, что оба эти фактора действуют сами по себе, т. е. у интактных животных повышают активность СОД в печени таким образом заранее создают известную «гарантию» сохранности от чрезмерной активации ПОЛ и повреждения ключевого органа обмена холестерина.

Этот последний факт согласуется с данными, полученными нами при индукции перекисного окисления с помощью системы Fe^{2+} -аскорбат в гомогенатах печени в условиях *in vitro*. Результаты этого эксперимента, представленные на рисунке, свидетельствуют о том, что у контрольных животных через 30 мин после начала индукции перекисного окисления концентрация МДА возрастает в 9 раз, а в гомогенатах печени животных, которые перенесли стресс,— в 13 раз, т. е. активация ПОЛ



развивается значительно быстрее. В гомогенатах печени крыс, адаптированных к кратковременным стрессовым воздействиям, концентрация МДА за этот же срок возросла в 5 раз, т. е. процесс инициации перекисного окисления происходил вдвое медленнее, чем в контроле, и, наконец, в гомогенатах печени животных, которые подвергались стрессу после предварительной адаптации к нему, процесс активации ПО происходил также медленнее, чем у неадаптированных животных. В результате активирующее действие перенесенного стресса на индукцию перекисного окисления в гомогенатах печени оказалось полностью предотвращенным у предварительно адаптированных животных, что, по-видимому, обусловлено отмеченным выше увеличением у них активности антиоксидантных систем.

Влияние длительного эмоционально-болевого стресса (ЭБС) и адаптации к кратковременным стрессорным воздействиям на индукцию перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени системой Fe^{2+} -аскорбат:

1 — контроль; 2 — ЭБС; 3 — адаптация; 4 — адаптация и ЭБС.

В целом эти новые факты дают основание для представления, что стресс через активацию перекисного окисления липидов повреждает ключевой орган обмена холестерина — печень, инициирует таким обра-

Таблица 2. Влияние эмоционально-болевого стресса и адаптации к коротким стрессорным воздействиям на содержание МДА и активность СОД в гомогенатах печени и активность фруктозо-1-фосфатаальдоза в сыворотке крови ($M \pm m$)

Условия опыта, группа животных	Число животных	МДА, нмоль/мг белка	СОД, ед. активности $\times 10^3$ /мг белка	Фруктозо-1-фосфатаальдоза, усл. ед. активности
Контроль, 1-я	10	$2,8 \pm 0,1$	$64,6 \pm 7,3$	$2,7 \pm 0,1$
ЭБС (2 ч после воздействия), 2-я	10	$3,4 \pm 0,3$	$30,84 \pm 2^*$	$4,1 \pm 0,3^*$
ЭБС (24 ч после воздействия), 3-я	10	$5,6 \pm 0,3^*$	$50,33 \pm 4$	$10,2 \pm 0,3^*$
Адаптация, 4-я	10	$3,6 \pm 0,2^*$	$93,8 \pm 4,3^*$	$3,2 \pm 0,2^*$
Адаптация+ЭБС (2 ч после воздействия), 5-я	9	$3,7 \pm 0,4$	$85,5 \pm 6$	$4,5 \pm 0,3^{**}$
Адаптация+ЭБС (24 ч после воздействия), 6-я	9	$3,8 \pm 0,4$	$80,6 \pm 6$	$5 \pm 0,3^{**}$
Ионол, 7-я	10	$2,2 \pm 0,4$	$96,2 \pm 4^*$	$1,7 \pm 0,2$
Ионол+ЭБС (2 ч после воздействия), 8-я	10	$2,0 \pm 0,2$	$78,1 \pm 3,8$	$2,4 \pm 0,3$
Ионол+ЭБС (24 ч после воздействия), 9-я	10	$2,3 \pm 0,3$	$68 \pm 2,6$	$3,6 \pm 0,2^{***}$

* Достоверность различий (P) между группами 2 и 1,3 и 1,5 и 1,7 и 1. ** Достоверность различий между группами 5 и 4,6 и 4. *** Достоверность различий между группами 8 и 7,9 и 7.

зом атерогенную дислипидемию и тем самым потенцирует развитие атеросклеротических повреждений сосудов. В плане изложенного существенно, что эта цепь явлений может быть блокирована не только химическими ингибиторами перекисного окисления, но также адаптацией к повторным стрессорным ситуациям, активирующей рассмотренный ранее [5] комплекс стресс-лимитирующих систем целого организма. В более широком плане это приводит к выводу, что развитие атеросклероза при действии на организм неизбежных и разнообразных стрессорных ситуаций окружающей среды [10, 11, 17] при прочих равных условиях может быть предотвращено или, напротив, потенцировано в зависимости от состояния стресс-лимитирующих систем организма.

PREVENTION OF STRESS-INDUCED DISLIPIDEMIA BY ADAPTATION TO SHORT-TERM STRESS ACTIONS

F. Z. Meerson, V. P. Tverdokhlib, G. T. Lobanova, L. Yu. Golubeva, A. A. Nikonorov

A stress-induced dislipidemia of atherogenic nature has been observed in blood serum of rats exposed to long-term emotional-pain stress. This dislipidemia can be substantially limited by preliminary adaptation to short-term stress actions or after pretreatment with antioxidant ionol. Activation of lipid peroxidation and depression of superoxide dismutase are established in homogenates of the rat liver while hyperfermentemia of fructoso-1,6-diphosphate aldolase is observed in the blood serum. Preliminary adaptation to short-term stress actions prevents the excessive activation of lipid peroxidation, increases the superoxide dismutase activity and creates a certain «guarantee» against the liver damage. The atherogenic effect of inevitable and multiform stressful situations of the environment, other things being equal, can be prevented or, on the contrary, potentiated depending on the state of the stress-limiting organism systems.

Institute of General Pathology and Pathophysiology,
Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow
Medical Institute, Ministry of Public Health of the RSFSR, Orenburg

1. Колб В. Г., Камышиников В. С. Определение активности фруктозо-1 фосфатальдолазы метод Шاپиро в модификации Д. М. Брагинского // Клиническая биохимия.— Минск: Беларусь, 1976.— С. 74—77.
2. Климов А. Н. Причины и условия развития атеросклероза // Превентивная кардиология.— М.: Медицина, 1977.— С. 260—321.
3. Климов А. Н., Герасимова Е. Н., Шестов Д. Б. и др. Уровень общего холестерина, триглицеридов и альфа-липопротеидного холестерина в крови мужчин 40—59 лет в Москве и Ленинграде // Кардиология.— 1979.— № 4.— С. 61—67.
4. Меерсон Ф. З. Адаптация, стресс и профилактика.— М.: Наука, 1981.— 278 с.
5. Меерсон Ф. З. Адаптация к стрессорным ситуациям и стресс-лимитирующие системы организма // Физиология адаптационных процессов / Под ред. О. Г. Газенко, Ф. З. Меерсона.— М.: Наука, 1986.— С. 521—621.
6. Положенцев С. Д., Руднев В. И. Динамика некоторых показателей липидного обмена у молодых людей в процессе адаптации их к длительным физическим и психо-эмоциональным нагрузкам // Физиология человека.— 1986.— № 6.— С. 956—960.
7. Современные методы исследования липопротеидов высокой плотности: Метод. рекомендации / Под редакцией Н. В. Перовой. М., 1983.— 32 с.
8. Твердохлиб В. П., Лобанова Г. Т., Меерсон Ф. З. Предупреждение стрессорных дислипидемий с помощью адаптации к периодическому действию гипоксии // Бюл. эксперим. биологии и мед.— 1986, № 12.— С. 681—683.
9. Титов В. Н., Руднев В. И., Творогова М. Г. Экспериментальное обоснование анти-атерогенного эффекта липопротеидов высокой плотности // Кардиология.— 1981, № 1.— С. 103—109.
10. Хомуто П. С. Нейрогенный атеросклероз и механизмы его развития // Там же.— 1974.— № 5.— С. 140—147.
11. Хомуто П. С. Эмоциональное напряжение и атеросклероз.— Л.: Медицина, 1982.— 151 с.
12. Beauchamp C., Fridovich J. Superoxide dismutase: improved assays and assay applicable to acrylamide gels. // *Analyt. Biochem.*— 1971.— 44, N 1.— P. 276—287.
13. Desiderato O., MacKinnon J. R., Hissom H. J. Development of gastric ulcers in rats following stress termination // *J. Comp. Physiol. Psychol.*— 1974.— 87, N 2.— P. 208—214.
14. Gordon T., Castelli W. P., Hjortland M. C. High density lipoprotein cholesterol as a protective factor against coronary heart disease risk. The framingham Study // *Amer. J. Med.*— 1977.— 62.— P. 707—714.

15. Heiss G., Johnson N. J., Reiland S. The epidemiology of plasma high-density lipoprotein cholesterol levels. // *Circulation*, 1980.—62, suppl IV.—P. 116—136.
16. Levy R., Fridrickson D., Shulman R. et al. Dietary and drug treatment of primary hyperlipoproteinemia // *Ann. Int. Med.* 1972.—77.—P. 267—294.
17. Miller G. J., Miller N. E. Plasma high density lipoprotein concentration and development of ischemic heart disease // *Lancet*, 1975.—1.—P. 16—19.
18. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // *Analyt. Biochem.*—1979.—95.—P. 351—358.
19. Wolf S. G. History of the study of stress and heart disease // *Stress and heart disease* / Eds. by R. E. Beamish, N. S. Dhalla, P. K. Singal.—Boston: Martinus Nijhoff Publish., 1984.—16 p.

Ин-т общ. патологии и патофизиологии АМН СССР,
Москва

Поступила 16.01.87

УДК 616.895.1—085

Влияние аналогов вазопрессина на течение эмоционального стресса

В. Н. Синицкий, О. С. Папсуевич, Л. С. Ушеренко, Л. А. Крыжановская,
Б. А. Запоточный, О. П. Угарова, Г. И. Чипенс

Согласно данным нейробиологии, психофармакологии и нейроэндокринологии пептидные гормоны наряду с уже известной их эндокринной ролью в висцероэргетивных процессах организма участвуют вместе с нейромедиаторами в регуляции функций центральной нервной системы. Одним из таких нейропептидных гормонов является вазопрессин, который существенно влияет на процессы обучения и консолидации памяти [6, 13, 14] и способствует повышению энергетического потенциала организма [3]. Предполагается, что облегчающее действие вазопрессина на консолидацию памяти связано с активацией им терминалей холин-эргических и норадреналических путей в мозгу: в дорсальной зоне гиппокампа, среднем мозгу [15]. Согласно другим исследованиям [2], эффекты воздействия вазопрессина могут быть опосредованы разными нейромедиаторными системами (норадренергической, дофадренергической и меньше серотонинергической) в зависимости от поведенческой мотивации.

Учитывая приведенные данные литературы, в частности существенную роль моноаминергической медиаторной системы в механизмах отрицательных эмоциональных реакций, мы поставили цель исследовать адаптогенное влияние аналогов вазопрессина, лишенных периферической гормональной активности [2, 3, 6], на формирование и развитие эмоционального стресса.

Методика

Опыты проведены на 355 белых крысах-самках массой 250—300 г, возрастом 8—10 мес. Ориентацию электродов (серебряных в стеклянной изоляции диаметром 0,2—0,25 мм) для отведения биотоков от разных образований мозга в острых опытах на ненаркотизированных, но обездвиженных животных производили с помощью стереотаксического прибора по атласам Кенига, Клипеля [10], Фифковой и Маршалла [9] с использованием собственных поправочных коэффициентов. Электроды вводили в моторную область новой коры, дорсальный гиппокамп, базолатеральное ядро и кортикомедиальную группу ядер миндалевидного комплекса, заднее гипоталамическое ядро, ретикулярное ядро покрышки мозга и хвостатое ядро. Контроль локализации глубинных электродов осуществляли на фронтальных срезах мозга после предварительного минимального электролитического разрушения мозговой ткани вокруг свободного от изоляции конца электрода постоянным током 2,5 мА в течение 15—20 с. Срезы мозга получали на замораживающем микротоме. О частоте сердечных сокращений (ЧСС) судили по ЭКГ (II отведение).