

Модель хронічного ситуаційного стресу та його вплив на темп старіння і тривалість життя щурів

Разработана новая экспериментальная модель хронического ситуационного стресса (ХСС) у крыс. Характеристиками модели являются многокомпонентность и естественность стрессорных воздействий. В группе опытных крыс выявлены две субпопуляции, различающиеся по продолжительности жизни - большей и меньшей, по сравнению с контролем. Особенности выживаемости животных в условиях ХСС соответствовали изменениям показателей, характеризующих адаптационные способности и темп старения организма. Полученные результаты свидетельствуют о возможности проявления как геронпро-моторного, так и геронпротекторного эффекта ХСС, в зависимости от индивидуальных адаптационных способностей организма.

Вступ

Вивчення механізмів стресу є одним з важливих напрямів сучасної геронтології. Інтерес до цього питання зумовлений існуванням тісного зв'язку між процесами старіння та адаптації, подібністю проявів стресу і старіння [7], а також спроможністю стресу впливати на темп старіння та тривалість життя (ТЖ). Дані літератури про вплив хронічного стресу на ТЖ суперечливі. Так, у деяких з них показано, що хронічний стрес уповільнює старіння і збільшує ТЖ [1, 2, 4], тоді як дані інших досліджень свідчать про протилежне [6, 10, 11]. Слід, однак, відмітити, що ці результати одержані на моделях стресу із застосуванням лише одного виду стресорного впливу, а також те, що у різних дослідженнях використовувалися якісно різні стресори, часто дуже далекі від природних. Усе це утруднює порівняльну характеристику одержаних даних та їх трактування у широкому аспекті "стрес і тривалість життя". Тому у подібних дослідженнях доцільно застосувати більш адекватну модель хронічного стресу із використанням комплексу природних, біологічно значущих стресорних факторів, таких як порушення зоосоціальних відносин, режимів харчування, сну тощо. Можна очікувати, що поєднання відповідних тривало діючих стресорів зумовить виникнення ситуації прагматичної невизначенності і, як наслідок, тривалий стан емоційного напруження - хронічного ситуаційного стресу (ХСС). Ми вважаємо, що така постановка експерименту може служити зручною моделлю для виявлення індивідуальних особливостей адаптації та ролі окремих пристосувальних механізмів у підтримці життєздатності організму в процесі старіння.

Мета нашої роботи розробити модель ХСС і вивчити його вплив на темп старіння та тривалість життя щурів.

Методика

Дослідження проведені на щурах-самцях лінії Вістар. В основу моделі ХСС було покладено ідею формування у тварин тривалого стану емоційного та фізичного напруження при застосуванні комплексу факторів, які перешкоджають задоволенню основних вітальних і зоосоціальних потреб. Такими факторами є: постійне утримання щурів у перенаселених (по 8 тварин) клітках з частою зміною складу мешканців, періодична харчова та водна депривація, а також порушення природного режиму освітлення. Моделювання ХСС здійснювали за схемою, яка складалася з послідовних аналогічних тижневих циклів (табл. 1). Апробацію моделі ХСС проводили на 6 дорослих (6 міс)

Таблиця 1. Умови утримання щурів при моделюванні хронічного ситуаційного стресу

Умова утримання	Доба циклу						
	1-ша	2-га	3-тя	4-та	5-та	6-та	7-ма
Час годування, год	9	9	16	16	9	9	-
Наявність води	+	+	-	+	+	+	+
Тривалість світлової фази, год	24	0	0	24	24	24	24
Зміни складу тварин у клітках	-	-	+	-	-	-	-

та 6 старих (27 міс) щурах, яких утримували за відповідних умов протягом 3 міс. Критерієм розвитку стресу було підвищення в плазмі крові концентрації кортикостерону, яку визначали методом конкурентного зв'язування з білками [9]. Плазму крові забирали із кінчика хвоста наркотизованих пентабарбіталом (40 мг/кг) щурів перед початком експерименту і через 1, 2 і 3 міс перебування за умов ХСС.

Дослідження впливу ХСС на темп старіння і тривалість життя щурів проводили на щурах, вихідний вік яких становив 17 міс. Щурів дослідної групи (128 тварин) утримували за умов ХСС. Контрольних тварин (66 щурів) утримували за стандартних умов віварію: у незмінному складі по 5 щурів у клітці, при регулярному годуванні в ранкові часи, постійній наявності води та природному режимі освітлення. Перед початком експерименту і через кожні наступні 3 міс до повного вимирання тварин в обох групах проводили випадкову вибірку щурів для дослідження функціонально-біохімічних показників - маси тіла, тривалості утримання на вертикальній решітці (ТУВР), тривалості наркотичного сну, концентрації 11-оксикортикостероїдів (11-ОКС) [8] і тестостерону (радіоімуологічним методом) у плазмі крові. Тривалість наркотичного сну (ТНС), викликаного внутрішньочеревним введенням пентабарбіталу (25 мг/кг), оцінювали за часом збереження твариною бокового положення тіла до появи локомоторних реакцій. У

контрольній та дослідній групах редню та максимальну тривалість

Одержані результати обробляють оцінювали за критерієм t

Результати та їх обговорення

Перебування щурів за умов істотне підвищення концентрації (табл. 2). Відповідні зміни вмісту

Таблиця 2. Концентрація кортикостеронів у ситуаційному стресі

Умова дослідження	Дослідження
До стресу	7
Після стресу через	
1 міс	7
2 міс	6
3 міс	3

* $P < 0,05$ порівняно з результатами до стресу щурів.

лих щурів порівняно з старими хронічному емоційно-больовому кортикостерону в плазмі крові більш зі старими [12]. І в даному випадку, які свідчать про розвиток ваної моделі.

Найбільш загальне уявлення про вплив ХСС на популяційному рівні дає і МТЖ. У перші 6 міс ХСС і збільшилося порівняно з контрольними значеннями (рисунк). Порівняно з контрольними значеннями у віддалені строки знайшли констант у рівнянні Гомперца кутового коефіцієнта у дослідних тваринами (1).

$$\ln R_t = (3,89 \pm 0,34) + (0,0001 \pm 0,0001) t$$

$$\ln R_t = (4,22 \pm 0,42) + (0,0001 \pm 0,0001) t$$

СТЖ щурів за умов ХСС істотно меншою, ніж у контрольній групі дослідних щурів становила, відрізнялася від такої у конт

контрольний та дослідний групах розраховували виживаність щурів, середню та максимальну тривалість життя (СТЖ і МТЖ відповідно) [3].

Одержані результати обробляли статистично, достовірність відмінностей оцінювали за критерієм t Стюдента.

Результати та їх обговорення

Перебування щурів за умов запропонованої моделі ХСС викликало істотне підвищення концентрації кортикостерону в плазмі крові (табл. 2). Відповідні зміни вмісту гормону були виразнішими у дорос-

Таблиця 2. Концентрація кортикостерону (нмоль/л) у плазмі крові щурів при хронічному ситуаційному стресі

Умова досліджу	Дорослі щури	Старі щури
До стресу	274,8 ± 7,3	288,0 ± 15,2
Після стресу через		
1 міс	754,8 ± 24,8*	473,4 ± 26,3***
2 міс	608,4 ± 25,1*	339,2 ± 28,5***
3 міс	395,9 ± 19,5*	361,1 ± 12,8*

* P<0,05 порівняно з результатами до стресу; ** P<0,05 порівняно з результатами у дорослих щурів.

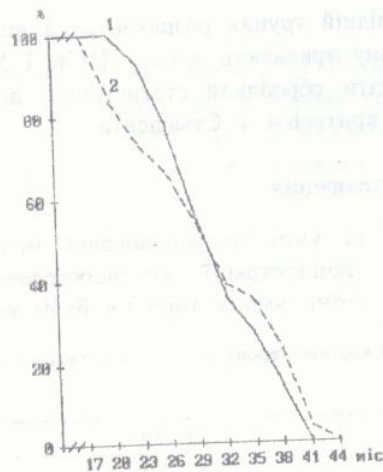
лих щурів порівняно з старими. Раніше нами було показано, що при хронічному емоційно-больовому стресі підвищення концентрації кортикостерону в плазмі крові більше виражено у дорослих щурів порівняно зі старими [12]. І в даному дослідженні одержано аналогічні результати, які свідчать про розвиток хронічного стресу за умов запропонованої моделі.

Найбільш загальне уявлення про характер впливу ХСС на ТЖ тварин на популяційному рівні дають криві виживаності, а також СТЖ і МТЖ. У перші 6 міс ХСС виживаність дослідних тварин різко знизилася порівняно з контрольними, а з 15 міс стресу - перевищувала контрольні значення (рисунк). Зниження виживаності дослідних щурів порівняно з контрольними на ранніх етапах експерименту та її збільшення у віддалені строки знайшли відображення у відповідних змінах констант у рівнянні Гомперца - збільшенні вільного члена та зниженні кутового коефіцієнта у дослідних щурів (2), порівняно з контрольними тваринами (1).

$$\ln R_t = (3,89 \pm 0,34) + (0,117 \pm 0,021)t \quad R = 0,93 \quad (1)$$

$$\ln R_t = (4,22 \pm 0,42) + (0,083 \pm 0,025)t \quad R = 0,78 \quad (2)$$

СТЖ щурів за умов ХСС становила 25,7 міс ± 1,0 міс і була істотно меншою, ніж у контролі - 29,3 міс ± 1,0 міс (P<0,05). МТЖ у групі дослідних щурів становила 40,6 міс ± 0,8 міс і достовірно не відрізнялася від такої у контрольних тварин - 39,7 міс ± 0,3 міс.



Криві виживаності контрольних (1) і дорослих (2) щурів. Вік 17 міс відповідає початку стресу.

Зниження та підвищення виживаності щурів на різних етапах ХСС супроводжувалися змінами значень показників, які відповідно характеризують адаптаційні можливості організму (табл. 3). Так, низький, порівняно з контролем, виживаності дослідних щурів у період 3-9 міс ХСС відповідали функціональні зміни дезадаптивного характеру. Зменшення маси тіла на 24 і 9 % у строки 3 і 9 міс ХСС свідчили про погіршення загального стану організму. Збільшення ТНС на 113 і 26 % в строки 3 і 9 міс ХСС свідчило про погіршення детоксикаційної функції печінки. Зниження концентрації 11-ОКС у плазмі крові на 25 і 31 % у 6 і 9 міс ХСС свідчило про недостатність глюкокортикоїдної функції наднирникових залоз. Зниження концентрації тестостерону в плазмі крові на 64 % ХСС свідчило про недостатність функції сім'яників. Більш високій порівняно з контролем виживаності дослідних тварин на пізніх етапах ХСС відповідали: збільшення порівняно з віковою нормою маси тіла на 15 % і ТУВР на 28 % у 18 міс, а також підвищення концентрації тестостерону в плазмі крові на 216 % у строк 12 міс ХСС.

Таким чином, дворічне утримання щурів за умов ХСС у відносно ранні строки експерименту проявлялось у деяких дезадаптивних явищах і зменшенні виживаності, а на пізніх етапах - у підвищенні адаптаційних можливостей організму і збільшенні виживаності порівняно з інтактними тваринами. Одержані результати свідчать, що здійснена нами спроба моделювання ХСС виявилася успішною. На основі динаміки концентрації кортикостерону в плазмі крові можна зробити висновок про те, що за умов запропонованої моделі у дослідних тварин розвивається стан хронічного стресу. Розроблено нову модель ХСС, основними характеристиками і перевагами якої є багатокомпонентність, природність і адекватність стресорних впливів. Позитивною рисою моделі є також її "гуманність" - відсутність неприродно сильних подразнень, що завдають тваринам страждань. Результати

Таблиця 3. Показники функціонального

Показник	Строк спостереження, міс
Маса тіла, г	3
	6
	9
	12
	15
	18
Тривалість утримання на вертикальній решітці, хв	3
	6
	9
	12
	15
	18
Тривалість наркотичного сну, хв	3
	6
	9
	12
	15
Концентрація у плазмі крові, нмоль/л	
11-оксикортикостероїдів	3
	6
	9
	12
тестостерону	3
	6
	9
	12

* $p < 0,05$ порівняно з контролем.

дослідження впливу ХСС на моделі ХСС СТЖ щурів ско виживаності тварин у контр особливості впливу останнього рин (умовно - "короткоживуч рименту, що і зумовлює ско

Таблиця 3. Показники функціонального стану контрольних і дослідних щурів

Показник	Строк спостереження, міс	Контроль	Дослід
Маса тіла, г	3	404±6	308±7*
	6	410±8	394±10
	9	351±9	319±7*
	12	352±13	358±10
	15	393±8	386±15
	18	333±17	382±13*
Тривалість утримання на вертикальній решітці, хв	3	9,5±1,0	14,3±2,3
	6	5,1±0,5	4,0±0,3
	9	7,5±1,1	6,0±0,8
	12	4,7±0,5	6,6±0,7*
	15	3,2±0,4	4,8±0,6*
	18	4,0±0	5,1±0,5*
Тривалість наркотичного сну, хв	3	22,8±3,5	48,5±3,1*
	6	33,8±5,7	57,7±12,7
	9	55,6±2,8	70,2±4,5*
	12	38,1±2,0	70,1±6,0*
	15	55,7±6,2	59,6±4,1
Концентрація у плазмі крові, нмоль/л	11-оксикортикостероїдів		
	3	616,5±61,7	714,3±81,2
	6	526,7±37,4	395,3±42,5*
	9	538,2±65,7	371,8±43,2*
	12	472,2±69,1	485,9±55,2
	тестостерону		
	3	16,3±2,8	12,2±2,4
	6	15,3±0,7	15,3±1,0
	9	8,7±3,1	3,1±1,0*
	12	5,6±1,0	17,7±3,1*

* P < 0,05 порівняно з контролем.

дослідження впливу ХСС на ТЖ свідчать, що за умов застосованої моделі ХСС СТЖ щурів скорочується. Разом з тим аналіз кривих виживаності тварин у контролі і при ХСС виявляє індивідуальні особливості впливу останнього на ТЖ. Значна частина дослідних тварин (умовно - "короткоживучі") гине у відносно ранні строки експерименту, що і зумовлює скорочення СТЖ у цілому в групі. Проте,

деякі дослідні щури (умовно - "довгоживучі"), незважаючи на тривалий вплив, виявляються більш життєздатними порівняно з контрольними. Характеру виживаності дослідних тварин у різні строки експерименту відповідають зміни деяких показників, які відображають функціональний стан організму, його адаптаційні можливості. Зниження маси тіла і збільшення ТНС, яке свідчить про порушення детоксикаційної функції печінки, вказують на дезадаптивний характер змін, які могли спричинити загибель "короткоживучих" щурів на ранніх етапах стресорного впливу. Разом з тим, підвищення маси тіла і ТУВР порівняно з віковою нормою та нормалізація ТНС у "довгоживучих" щурів у більш пізні строки ХСС могли бути зумовлені процесами адаптивного характеру, які також сприяють пролонгуванню життя. Зменшення порівняно з контролем концентрації 11-ОКС і тестостерону в плазмі крові в період низької виживаності при ХСС, можливо, було результатом недостатності гіпоталамічних механізмів гормональної регуляції, надійність яких істотно знижується з віком [5]. Нормалізація або поліпшення гормональних показників порівняно з контролем, що відповідають більш високій виживаності "довгоживучих" щурів, свідчать про адекватну функціональну активність центральної нервової та ендокринної систем і гарну адаптацію цих тварин до стресорних впливів.

На основі зіставлення кривих виживаності та залежності Гомперца в контролі і при ХСС можна зробити висновок, що у одних тварин, які підлягали стресу, застосований вплив чинив геропромоторний, а у інших - геропротекторний ефект. Про прискорення процесу старіння свідчать зниження маси тіла, збільшення ТНС і зменшення концентрації тестостерону в плазмі крові. Про геропротекторний вплив свідчать збільшення маси тіла, ТУВР і вмісту тестостерону. Можливо, що направленість впливу ХСС на ТЖ зумовлюється вихідними індивідуальними особливостями організму, які визначають його здатність до адаптації. Так, вихідні показники, які характеризують фізичні можливості "довгоживучих" дослідних щурів виявилися вищими, ніж у контрольних тварин з великою тривалістю життя. У "довгоживучих" дослідних і контрольних тварин вихідні значення ТУВР склали $20,3 \pm 3,0$ і $7,1 \text{ хв} \pm 1,1 \text{ хв}$ ($P < 0,05$). Можна припустити, що первісно великі фізичні можливості відіграють важливу роль в адаптації до умов ХСС, і що попереднє тренування сили та витривалості може сприяти проявленню геропротекторного ефекту цього виду стресу.

Результати наших теперішніх досліджень, як і попередніх [4, 6, 7], свідчать про те, що вплив хронічного стресу на ТЖ складний і неоднозначний. Так, виявилось, що застосована нами модель хронічного стресу може дати як геропромоторний, так і геропротекторний ефект. Кінцевий результат, мабуть, зумовлюється надійністю роботи центральних регуляторних систем, здатністю до нейтралізації токсичних речовин, а також вихідними індивідуальними можливостями організму. Все це і визначає можливість адаптації як до умов хронічного стресу, так і до факторів, які впливають на темп старіння за цих умов. Останнє,

можливо, зумовлено спільністю лена нами модель ХСС є при вивчення впливу хронічного стресу на виживаність тварин, зівставити роботу цієї певною мірою прогнозувати виживаність тварин при профілактичних і поточних хронічного стресу, близьких до

V. V. Frolkis, N.S. Verkhvatsky, S.A. Migovan, T.A. Dubiley, Yu. E. Rus'kevich

THE MODEL OF SITUATIONAL CHRONIC STRESS AND ITS INFLUENCE ON THE RATE OF AGING AND LIFESPAN OF RATS

In rat experiments a new model of chronic stress was used. The study revealed two subpopulations in the group of stressed rats vs control. The study revealed that the rate of aging in the group of stressed rats was correspondent with the rate of aging in the control group. It was shown that situational chronic stress has two effects on the rate of aging which depends on the organism

Institute of Gerontology Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аршавский И.А. Проблема стресса и дуального развития. - В кн: Стресс и его последствия. - М.: Наука, 1980. - С. 102 - 106.
2. Васильев В.К., Борисов С.Е. Обратные эффекты стресса. - В кн: Стресс и его последствия. - М.: Наука, 1980. - С. 102 - 106.
3. Гаврилов Л.А., Гаврилова Н.С. Биология старения. - М.: Наука, 1980. - 280 с.
4. Фролькис В.В. Старение и биологические механизмы. - М.: Наука, 1980. - 274 с.
5. Фролькис В.В. Старение. Нейрогормональные механизмы. - М.: Наука, 1980. - 280 с.
6. Фролькис В.В., Безруков В.В., Хулиничев В.В. Патология сердечно-сосудистой системы при хроническом стрессе. - М.: Наука, 1980. - 280 с.
7. Фролькис В.В., Мурадян Х.К. Старение и стресс. - М.: Наука, 1992. - С. 86-99.
8. Функциональные методы исследования старения. - М.: Наука, 1980. - С. 108-109.
9. Henning S.J. A sensitive and convenient method for the determination of serum corticosterone. // Steroids. - 1980. - 35, N 6. - P. 41-47.
10. Kerr D.S., Campbell L.W., Applegate D. Induced acceleration of electrophysiological changes in aging. // J. Neurosci. - 1991. - 11, N 5. - P. 13-14.
11. Selye H., Tschewer B. Stress in relation to aging. - Springfield: Charles C. Thomas, 1965. - 280 p.
12. Verkhvatsky N.S., Moroz E.V., Magdich V.I. Secretion regulating system under effect of stress. - M.: Nauka, 1980. - P. 41-47.

Ин-т геронтології
АМН України

можливо, зумовлено спільністю механізмів цих двох процесів. Розроблена нами модель ХСС є принципово новою і практично цінною для вивчення впливу хронічного стресу на старіння організму. Вона дозволяє виявити конкретні механізми адаптації та дезадаптації у окремих тварин, зіставити роботу цих механізмів з темпом старіння і ТЖ, певною мірою прогнозувати виживаність і визначити напрямки пошуку профілактичних і поточних геропротекторних заходів за умов хронічного стресу, близьких до природних.

V. V. Frolikis, N. S. Verkhatsky, S. A. Migovan, T. A. Dubiley, Yu. E. Rushtkevich

THE MODEL OF SITUATIONAL CHRONIC STRESS AND ITS INFLUENCE ON THE RATE OF AGING AND LIFESPAN OF RATS

In rat experiments a new model of situational chronic stress, with the use of multicomponent natural stimulating influences, has been elaborated. The study revealed two subpopulations with longer and shorter lifespan in the group of stressed rats vs. control group. The survival of stressed animals was correspondent with the changes of adaptive indices. Thus the situational chronic stress has the geropromotive or geroprotective effect which depends on the organism's adaptive capacities.

Institute of Gerontology Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ариавский И.А. Проблема стресса и адаптации в свете негэнтропийной теории индивидуального развития. - В кн: Стресс и адаптация. - Кишинев: Штиинца, 1978. - С.6.
2. Васильев В.К., Борисов С.Е. Обратимость возрастных изменений ДНК. - В кн: Биофизические и биохимические аспекты функционирования живых систем. - М., 1989. - С. 102 - 106.
3. Гаврилов Л.А., Гаврилова Н.С. Биология продолжительности жизни - М.: Наука, 1991. - 280 с.
4. Фроликис В.В. Старение и биологические возможности организма. - М.: Наука, 1975. - 274 с.
5. Фроликис В.В. Старение. Нейрогуморальные механизмы. - К.: Наук. думка, 1981. - 320 с.
6. Фроликис В.В., Безруков В.В., Кульчицкий О.К. Старение и экспериментальная возрастная патология сердечно-сосудистой системы. - К.: Наук. думка, 1994. - 248 с.
7. Фроликис В.В., Мурадян Х.К. Старение, эволюция и продление жизни. - К.: Наук. думка, 1992. - С.86-99.
8. Функциональные методы исследования в эндокринологии. - К.: Здоров'я, 1981. - С. 108-109.
9. Henning S.J. A sensitive and convenient method for measurement of corticosterone in rat serum // Steroids. - 1980. - 35, N 6. - P.673-683.
10. Kerr D.S., Campbell L.W., Applegate M.D., Brodish A., Landfield P.W. Chronic stress-induced acceleration of electrophysiologic and morphometric biomarkers of hippocampal aging // J.Neurosci. - 1991. - 11, N 5. - P. 1316-1324.
11. Selye H., Tuchweber B. Stress in relation to aging and disease. In: Hypothalamus, pituitary and aging. - Springfield: Charles C Thomas, 1976. - P. 553-569.
12. Verkhatsky N.S., Moroz E.V., Magdich L.V., Didenko S.O., Kharazi L.I. Steroid-hormone-secretion regulating system under effect of stress in old age // Gerontology. - 1988. - 34, N 1-2. - P. 41-47.

Ин-т геронтології
АМН України

Матеріал надійшов
до редакції 01.08.97