

УДК 612.015.32:159.972-092.4

ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА НА СОСТОЯНИЕ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У КРЫС С РАЗНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ПОВЕДЕНИЯ

¹ Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина, г. Москва

² Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова, г. Москва

³ Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, г. Москва
Абрамова А.Ю.^{1,2}, Перцов А.С.³, Коплик Е.В.¹, Перцов С.С.^{1,2}

Целью работы явилось изучение характера влияния хронического стресса на углеводный обмен у крыс с разными параметрами поведения в тесте «открытое поле». В качестве модели отрицательного эмоциогенного воздействия у животных применяли ежедневную 4-ч иммобилизацию в пластиковых пеналах на протяжении 8 суток. Показано, что динамика уровня глюкозы при хронической стрессорной нагрузке зависит от исходных показателей поведения крыс. Постстрессорная гипергликемия у активных животных была наиболее выражена после однократной иммобилизации, а у пассивных – к 3-м суткам повторных стрессорных воздействий. Специфика нарушений углеводного обмена в условиях хронической стрессорной нагрузки у поведенчески пассивных и активных особей иллюстрирует важность индивидуального подхода к анализу системной организации физиологических функций.

Ключевые слова: хронический стресс, крысы, поведение в тесте «открытое поле», углеводный обмен.

The research objective was to study the effect of chronic stress on blood glucose concentration in rats with various behavioral parameters in the open-field test. Daily 4-hour immobilization of animals in plastic tubes for 8 days served as a model of negative emotiogenic exposure. It was revealed, that the dynamics of glucose level during chronic stress depends on initial behavioral characteristics of the rats. Post-stress hyperglycemia in active animals was most pronounced after a single stress, in passive – by the 3rd day of repeated stress exposures. The specifics of abnormalities in carbohydrate metabolism during chronic stress in behaviorally passive and active specimens illustrates the importance of an individual approach to studying the systemic organization of physiological functions.

Keywords: chronic stress, rats, open-field behavior, carbohydrate metabolism.

Острые или длительные конфликтные ситуации, вызванные невозможностью удовлетворения ведущих биологических и социальных потребностей человека, приводят к развитию стресса и связанных с ним психосоматических заболеваний [1, 2]. Существуют убедительные доказательства, указывающие на наличие значительных индивидуальных различий устойчивости млекопитающих к негативным последствиям эмоциогенных нагрузок [1, 3, 4, 5]. В экспериментальных исследованиях установлено, что надежным критерием чувствительности крыс к стрессу являются особенности их поведения в тесте «открытое поле» [6]. В частности, по показателю выживаемости при стрессорных воздействиях поведенчески активные крысы с высокой ориентировочно-исследовательской активностью более устойчивы, чем пассивные животные. Индивидуальный подход к изучению системных механизмов регуляции жизненно важных процессов у млекопитающих имеет особое значение в плане разработки новых методов персонализированной медицины для предупреждения и/или коррекции постстрессорной дисфункции [7, 8].

Стрессорные нагрузки у человека часто приводят к развитию метаболических расстройств, в частности, к нарушению обмена углеводов. Показана прямая связь между воздействием стрессорных факторов и стойким повышением уровня глюкозы в крови с последующим формированием сахарного диабета [9, 10]. Однако специфика изменений углеводного обмена у особей с разной прогностической устойчивостью к стрессорным воздействиям неизвестна. Недостаточно изучен характер колебаний уровня глюкозы у млекопитающих в динамике многократных стрессорных нагрузок.

Цель исследования: изучение характера влияния хронического стресса на углеводный обмен у поведенчески пассивных и активных крыс, имеющих разную чувствительность к развитию негативных последствий эмоциогенных нагрузок.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 76 крысах-самцах Вистар с массой тела 255,6±2,8 г. Животных содержали в клетках (по 4-5 особей в каждой) при температуре 20-22°C на стандартном пищевом рационе в искусственных условиях ос-

вещения (9:00-21:00 – свет, 21:00-9:00 – темнота). Всех животных предварительно тестировали в открытом поле с определением поведенческих показателей в течение трех минут [6]. Для вычисления индекса активности крыс сумму числа пересеченных периферических и центральных секторов, периферических и центральных стоек, а также исследованных объектов делили на сумму латентных периодов первого движения и выхода в центр открытого поля. В зависимости от исходных параметров поведения в тесте «открытое поле» крысы были разделены на пассивных ($n=40$) и активных ($n=36$) особей, различающихся по среднему показателю индекса активности: $0,44 \pm 0,02$ и $2,73 \pm 0,55$ соответственно.

Животных ежедневно иммобилизовали в индивидуальных пластиковых пеналах на 4 ч в одно и то же время суток (10:00-14:00). Концентрацию глюкозы в крови крыс определяли с помощью глюкометра (Contour TS, Bayer) в контроле, а также на 1-е, 3-и и 8-е сутки многократного иммобилизационного стресса. В предыдущих исследованиях показано, что изменения ряда физиологических показателей у животных на данной модели стрессорной нагрузки выражены именно в этих временных периодах [11, 12]. Кроме того, установлено, что наиболее значимые нарушения физиологических функций наблюдаются в конце стадии тревоги (39 часов после эмоциогенной нагрузки), а в начале стадии резистентности (4-е сутки) и через 7 суток после воздействия в организме проявляются компенсаторные процессы [13, 14].

Для проведения сравнительного анализа результатов и оценки достоверности межгрупповых различий применяли непараметрические тесты – Т-критерий Вилкоксона и U-критерий Манна-Уитни (Statistica StatSoft 6.1). Различия считались статистически значимыми при значении $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В исходном состоянии концентрация глюкозы в крови поведенчески активных крыс была на 7,6% меньше, чем у пассивных животных ($p < 0,05$; таблица 1). Выявленные различия базального уровня глюкозы в крови крыс с разными параметрами поведения расширяют сведения об особенностях показателей углеводного обмена. Обнаружено, в частности, что экспрессия глюкозных транспортеров, опосредующих перенос глюкозы через ГЭБ к нейронам и глиальной ткани, зависит от пола и возраста животных [15].

Пассивные особи характеризовались увеличением содержания глюкозы в крови после однократного и особенно трехкратного иммобилизационного стресса (на 6,8 и 16,0% [$p < 0,05$] соответственно по сравнению с контролем). К 8-м суткам многократных стрессорных воздействий уровень глюкозы у этих животных несколько уменьшался по сравнению с таковым в предыдущие периоды, но превышал исходное значение.

Динамика концентрации глюкозы в крови поведенчески активных крыс, подвергнутых повторным стрессорным нагрузкам, отличалась от таковой у пассивных особей. Наиболее выраженное увеличение содержания глюкозы у активных животных наблюдалось уже после однократной иммобилизации (на 20,2%, $p < 0,05$ по сравнению с контролем; таблица 1). К 3-м и 8-м суткам ежедневных стрессорных воздействий уровень глюкозы у этих крыс прогрессивно снижался по сравнению с 1-ми сутками наблюдений (на 9,1 и 14,0% соответственно), но оставался выше исходного показателя. Необходимо отметить, что на 3-и сутки исследования анализируемый параметр у активных особей был достоверно меньше, чем у пассивных животных (на 13,0%, $p < 0,05$).

Таблица 1

Концентрация глюкозы в крови крыс в контрольных условиях и на разных временных стадиях хронического стресса (моль/л, $M \pm m$)

Крысы	Контроль	Повторный иммобилизационный стресс		
		1-е сутки	3-и сутки	8-е сутки
Пассивные	$6,43 \pm 0,37$	$6,87 \pm 0,40$	$7,46 \pm 0,27^*$	$6,67 \pm 0,35$
Активные	$5,94 \pm 0,17^+$	$7,14 \pm 0,22^*$	$6,49 \pm 0,32^+$	$6,14 \pm 0,37$

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с контролем; + $p < 0,05$ по сравнению с пассивными крысами.

Нами установлено, что многократные стрессорные воздействия на модели ежедневной 4-часовой иммобилизации у крыс сопровождаются развитием гипергликемии. Это дополняет результаты наших предыдущих опытов, продемонстрировавших характер колебаний уровня глюкозы в крови животных с разной поведенческой активностью после острой стрессорной на-

грузки, вызванной 1-часовой иммобилизацией [16].

В настоящее время имеются убедительные доказательства того, что стрессорные воздействия разной длительности и интенсивности оказывают специфическое влияние на показатели обмена веществ. Установлено, что острый стресс приводит к повышению уровня глюкозы

крови [17, 18]. Хронические стрессорные воздействия также вызывают изменения углеводного обмена, что сопровождается высоким риском развития сахарного диабета 2-го типа (метаболического синдрома) [19] с сопутствующими психонейроиммунными нарушениями [20]. Существенно, что выраженность метаболических отклонений при длительном стрессе может различаться в зависимости от силы и/или частоты предъявления стрессогенного фактора [21]. Возможные патофизиологические механизмы, лежащие в основе метаболических эффектов стресса, включают в себя, в частности, изменение активности ренин-ангиотензиновой системы [22], нарушение функций основных ферментов метаболизма глюкозы и уменьшение чувствительности инсулиновых рецепторов в ЦНС [23], вовлечение нейропептидов (например, гипоталамического орексина) [24].

В наших исследованиях впервые выявлены особенности динамики показателей углеводного обмена у крыс с разными параметрами поведения в тесте «открытое поле», имеющих различную прогностическую устойчивость к отрицательным последствиям стресса. Показано, что пассивные животные, предрасположенные к стрессорным воздействиям, демонстрируют наиболее значимое повышение уровня глюкозы в крови на третьи сутки ежедневной 4-часовой иммобилизации. В отличие от этих особей, у активных крыс, устойчивых к отрицательным эмоциогенным нагрузкам, степень гипергликемии оказалась наивысшей после однократного стрессорного воздействия. Несмотря на некоторое снижение содержания глюкозы в крови крыс с разными характеристиками поведения к 8-м суткам многократных стрессорных нагрузок (по сравнению с таковым в предыдущие периоды), изучаемый показатель оставался выше базального уровня.

Представленные данные расширяют современные представления о специфике метаболических процессов у млекопитающих. Ранее описаны гендерные различия последствий стресса как фактора развития метаболического синдрома. Например, показано, что острый стресс оказывает более выраженное влияние на биохимические показатели крови у самцов крыс, чем у самок [25]. Разработана модель хронического психосоциального стресса, в котором «подчиненные» по поведению мыши предрасположены к нарушениям обмена веществ, в то время как «доминантные» животные характеризуются нормальным метаболическим фенотипом [26].

Заключение

В ходе исследования были выявлены особенности показателей углеводного обмена у животных с разными параметрами поведения в открытом поле, имеющих различную чувстви-

тельность к развитию отрицательных последствий эмоциогенных воздействий. Установлено, что повторные стрессорные нагрузки на модели ежедневной 4-часовой иммобилизации сопровождаются развитием гипергликемии. Повышение концентрации глюкозы в крови у активных животных наиболее выражено после однократной иммобилизации, а у пассивных – к 3-м суткам повторных стрессорных воздействий. Полученные данные иллюстрируют важность индивидуального подхода к изучению патофизиологических механизмов развития стресс-индуцированных расстройств.

Список литературы

1. Судаков К.В. Избранные труды. Том 3. Эмоции и эмоциональный стресс. М.: НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАН; 2012.
2. Bibbey A., Carroll D., Ginty A.T., Phillips A.C. Cardiovascular and cortisol reactions to acute psychological stress under conditions of high versus low social evaluative threat: associations with the type D personality construct. *Psychosom. Med.* 2015; 77(5): 599-608.
3. Перцов С.С. Поведение крыс при смещении светового режима и введении мелатонина. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2005; 91(7): 802-809.
4. Hyland N.P., O'Mahony S.M., O'Malley D., O'Mahony C.M., Dinan T.G., Cryan J.F. Early-life stress selectively affects gastrointestinal but not behavioral responses in a genetic model of brain-gut axis dysfunction. *Neurogastroenterol. Motil.* 2015; 27(1): 105-113.
5. Pertsov S.S., Koplík E.V., Stepanyuk V.L., Simbirtsev A.S. Blood cytokines in rats with various behavioral characteristics during emotional stress and treatment with interleukin-1 β . *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2009; 148(2): 196-199.
6. Коплик Е.В. Метод определения критерия устойчивости крыс к эмоциональному стрессу. *Вестник новых медицинских технологий.* 2002; 9(1): 16-18.
7. Судаков К.В., Котов А.В., Перцов С.С. Экспериментальные подходы к индивидуальной медицине: зависимость эффектов фармакологического воздействия от характера поведения животных. *Вестник Уральской медицинской академической науки.* 2004; 1: 51-57.
8. Перцов С.С., Коплик Е.В., Калининко Л.С., Алексеева И.В. Влияние мелатонина на перекисное окисление липидов в крови крыс с разными характеристиками поведения при остром эмоциональном стрессе. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2014; 100(6): 759-766.
9. Egede L.E., Dismuke C.E. Serious psychological distress and diabetes: a review of the literature. *Curr. Psychiatry Rep.* 2012; 14(1): 15-22.

10. Joshi S.K., Shrestha S. Diabetes mellitus: a review of its associations with different environmental factors. *Kathmandu Univ. Med. J. (KUMJ)*. 2010; 8(29): 109-115.

11. Козлов А.Ю., Абрамова А.Ю., Цатрян В.В., Перцов С.С. Влияние мелатонина на ноцицептивную чувствительность у крыс при изменении иммунного статуса под действием липополисахарида. *Российский журнал боли*. 2013; 4: 8-11.

12. Перцов С.С., Григорчук О.С., Коплик Е.В., Абрамова А.Ю., Чекмарева Н.Ю., Чехлов В.В. Состояние органов-маркеров стресса у крыс с разной поведенческой активностью при многократных стрессорных воздействиях. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2015; 160(7): 25-29.

13. Выборова И.С., Ханджав Удвал, Васильева Л.С., Макарова Н.Г. Структура печени в динамике иммобилизационного стресса. *Сибирский медицинский журнал*. 2005; 3: 30-33.

14. Сериков В.С., Ляшев Ю.Д. Влияние мелатонина на перекисное окисление липидов и активность антиоксидантных ферментов в крови и печени крыс при многократных стрессорных воздействиях. *Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова*. 2013; 99(11): 1294-1299.

15. Kelly SD, Harrell CS, Neigh GN. Chronic stress modulates regional cerebral glucose transporter expression in an age-specific and sexually-dimorphic manner. *Physiol Behav*. 2014; 126: 39-49.

16. Калиниченко Л.С., Перцов С.С., Коплик Е.В. Уровень глюкозы в крови крыс с разной устойчивостью к стрессорным нагрузкам: эффекты цитокинов. *Бюллетень Северного государственного медицинского университета*. 2013; 1(30): 117-118.

17. Li L., Li X., Zhou W., Messina J.L. Acute psychological stress results in the rapid development of insulin resistance. *J. Endocrinol*. 2013; 217(2): 175-184.

18. Rostamkhani F., Zardooz H., Goshadrou F., Baveisi M., Hedayati M. Stress increased ghrelin secretion from pancreatic isolated islets in male rats. *Gen. Physiol. Biophys*. 2016; 35(1): 109-117.

19. Pereira V.H., Marques F., Lages V., Pereira F.G., Patchev A., Almeida O.F., Almeida-Palha J., Sousa N., Cerqueira J.J. Glucose intolerance after chronic stress is related with downregulated PPAR- γ in adipose tissue. *Cardiovasc. Diabetol*. 2016; 15(1): 114.

20. Chen Y.J., Lin C.L., Li C.R., Huang S.M., Chan J.Y., Fang W.H., Chen W.L. Associations among integrated psychoneuroimmunological factors and metabolic syndrome. *Psychoneuroendocrinology*. 2016; 74: 342-349.

21. Thompson A.K., Fourman S., Packard A.E., Egan A.E., Ryan K.K., Ulrich-Lai Y.M. Metabolic

consequences of chronic intermittent mild stress exposure. *Physiol. Behav*. 2015; 150: 24-30.

22. Hayashi M., Takeshita K., Uchida Y., Yamamoto K., Kikuchi R., Nakayama T., Nomura E., Cheng X.W., Matsushita T., Nakamura S., Murohara T. Angiotensin II receptor blocker ameliorates stress-induced adipose tissue inflammation and insulin resistance. *PLoS One*. 2014; 9(12): e116163.

23. Detka J., Kurek A., Basta-Kaim A., Kubera M., Lasoń W., Budziszewska B. Neuroendocrine link between stress, depression and diabetes. *Pharmacol. Rep*. 2013; 65(6): 1591-600.

24. Tsuneki H., Tokai E., Sugawara C., Wada T., Sakurai T., Sasaoka T. Hypothalamic orexin prevents hepatic insulin resistance induced by social defeat stress in mice. *Neuropeptides*. 2013; 47(3): 213-219.

25. Balog M., Mlinarević D., Šerić V., Miljanović M., Blažeković R., Degmečić I.V., Blažetić S., Oršolić I., Vari S.G., Heffer M. Plasma content of glucose, C-reactive protein, uric acid and cholesterol in male, female and ovariectomized rats upon acute and chronic stress – a path for development of cardiovascular diseases. *Coll. Antropol*. 2015; 39(2): 385-392.

26. Sanghez V., Cubuk C., Sebastián-Leon P., Carobbio S., Dopazo J., Vidal-Puig A., Bartolomucci A. Chronic subordination stress selectively downregulates the insulin signaling pathway in liver and skeletal muscle but not in adipose tissue of male mice. *Stress*. 2016; 19(2): 214-224.

Контактные данные

Автор, ответственный за переписку: Перцов Сергей Сергеевич, д.м.н., член-корреспондент РАН, профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии и медицинской физики Московского государственного медико-стоматологического университета имени А.И. Евдокимова, г. Москва.

125315, г. Москва, ул. Балтийская, д. 8.

Тел.: (495) 6096700.

E-mail: s.pertsov@mail.ru

Информация об авторах

Абрамова Анастасия Юрьевна, к.м.н., старший преподаватель кафедры нормальной физиологии и медицинской физики Московского государственного медико-стоматологического университета имени А.И. Евдокимова, г. Москва.

127473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1.

Тел.: (495) 6012245.

E-mail: msmsu@msmsu.ru

Перцов Сергей Сергеевич, д.м.н., член-корреспондент РАН, профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии и медицинской физики Московского государственного медико-стоматологического университета имени А.И. Евдокимова, г. Москва.

125315, г. Москва, ул. Балтийская, д. 8.
Тел.: (495) 6096700.
E-mail: s.pertsov@mail.ru

Коплик Елена Владимировна, в.н.с. НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина, г. Москва.
125315, г. Москва, ул. Балтийская, д. 8.
Тел.: (495) 6012245.
E-mail: nphys@nphys.ru