

- профилактики послеоперационного спайкообразования: дис. ... д-ра мед. наук / С.В. Поройский. — Волгоград, 2012. — 420 с.
5. Поройский, С.В. Способ моделирования послеоперационного спаечного процесса брюшной полости на фоне недостаточности половых гормонов / С.В. Поройский, А.А. Воробьев, А.В. Воронков [и др.]. — Патент РФ на изобретение № 2374699 от 27.11.2009.
 6. Поройский, С.В. Способ экспериментальной оценки резорбционной функции брюшины / С.В. Поройский, А.А. Воробьев, Ю.А. Дворецкая, И.А. Гречкина. — Патент РФ на изобретение № 2400821 от 27.09.2010.
 7. Di Zerega, G.S. Prevention of intra-abdominal adhesions in gynaecological surgery / G.S. Di Zerega, T. Tulandi // *Reprod Biomed Online*. — 2008. — Vol. 17, № 3. — P.6.

REFERENCES

1. Bezhenar', V.F. Etiologiya, patogenez i profilaktika spaikoobrazovaniya pri operatsiyah na organah malogo taza [Etiology, pathogeny and prevention of adhesion formation in small pelvis surgery] / V.F. Bezhenar', E.K. Ailamazyan, A.A. Syurdeeva [i dr.] // *Rossiiskii vestnik akushera-ginekologa*. — 2011. — № 2. — S.90—101.
2. Petrishev, N.N. Patogeneticheskoe znachenie disfunkcii endotelii [Pathogenetic importance of endothelial function] / N.N. Petrishev // *Omskii nauchnyi vestnik*. — 2005. — № 1. — S.20—22.
3. Petuhov, V.A. Endotelial'naya disfunkciya: sovremennoe sostoyanie voprosa (po materialam nauchnogo simpoziuma) [Endothelial dysfunction: uptodate views on the question] / V.A. Petuhov // *Hirurgiya. Prilozhenie «Sonsilium medicum»*. — 2008. — № 1. — S.3—11.
4. Poroiskii, S.V. Eksperimental'noe, morfologicheskoe i klinicheskoe obosnovanie patogeneza, diagnostiki i profilaktiki posleoperacionnogo spaikoobrazovaniya [Experimental, morphological and clinical substantiation of pathogeny, diagnostics and prevention of postoperative adhesion formation]: dis. ... d-ra med. nauk / S.V. Poroiskii. — Volgograd, 2012. — 420 s.
5. Poroiskii, S.V. Sposob modelirovaniya posleoperacionnogo spaechnogo processa bryushnoi polosti na fone nedostatochnosti polovyh gormonov [A way of modeling postoperative adhesion formation in the abdomen in patients with sex hormone insufficiency] / S.V. Poroiskii, A.A. Vorob'ev, A.V. Voronkov [i dr.]. — Patent RF na izobretenie № 2374699 ot 27.11.2009.
6. Poroiskii, S.V. Sposob eksperimental'noi ocenki rezorbtsionnoi funktsii bryushiny / S.V. Poroiskii, A.A. Vorob'ev, Yu.A. Dvoreckaya, I.A. Grechkina. — Patent RF na izobretenie № 2400821 ot 27.09.2010.
7. Di Zerega, G.S. Prevention of intra-abdominal adhesions in gynaecological surgery / G.S. Di Zerega, T. Tulandi // *Reprod Biomed Online*. — 2008. — Vol. 17, № 3. — P.6.

© Е.А. Гиззатуллина, И.Г. Брындина, 2014

УДК 616.45-092.19:616-001

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ПСИХОСОЦИАЛЬНОГО СТРЕССА НА СОДЕРЖАНИЕ СФИНГОЛИПИДОВ В ЗАДНЕМ СЕГМЕНТЕ ГЛАЗА И ПЛАЗМЕ КРОВИ КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ СТРЕСС-РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ

ЕКАТЕРИНА АЛЕКСАНДРОВНА ГИЗЗАТУЛЛИНА, ассистент кафедры офтальмологии ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России, Ижевск, Россия, тел. 8-904-275-84-90, e-mail: pinport@mail.ru

ИРИНА ГЕОРГИЕВНА БРЫНДИНА, докт. мед. наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России, Ижевск, Россия, тел. 8-912-465-75-80, e-mail: i_bryndina@mail.ru

Реферат. Цель исследования — изучить влияние хронического психосоциального стресса на содержание сфинголипидов в заднем сегменте глаза и плазме крови крыс, устойчивых и предрасположенных к эмоциональному стрессу. *Материал и методы.* У 20 крыс моделировали хронический психосоциальный стресс в течение 10 и 18 дней, после чего изучали содержание церамида и сфингомиелина в тканях методом тонкослойной хроматографии с денситометрическим анализом проб. Проведено сравнение с контрольной группой (10 интактных крыс). *Результаты и их обсуждение.* В эксперименте у неустойчивых к стрессу животных под действием 10-дневного психосоциального стресса происходит более выраженное накопление церамида в структурах заднего сегмента глаз (в 5,9 раза) и плазме крови (в 4,3 раза), чем у стрессоустойчивых особей.

Ключевые слова: сфинголипиды, психосоциальный стресс, стресс-резистентность.

IMPACT OF CHRONIC PSYCHOSOCIAL STRESS ON RETINAL AND PLASMA SPHINGOLIPIDS OF RATS WITH DIFFERENT STRESS RESISTANCE

EKATERINA A. GIZZATULLINA, Assistant Professor, Department of Ophthalmology SBEI HPE «Izhevsk State Medical Academy» of Russian Ministry of Health, Izhevsk, Russia, tel. 8-904-275-84-90, e-mail: pinport@mail.ru

IRINA G. BRYNDINA, DMSc, Professor, Head of the Department of Pathophysiology, SBEI HPE «Izhevsk State Medical Academy» of Russian Ministry of Health, Izhevsk, Russia, tel. 8-912-465-75-80, e-mail: i_bryndina@mail.ru

Abstract. Aim. To study the effect of chronic psychosocial stress on sphingolipids content in the eye and blood plasma of rats resistant and susceptible to stress. *Material and methods.* On the group of 20 male albino rats the 10-day and 18-day psychosocial stress was simulated. The content of ceramide and sphingomyelin was studied in tissues by TLC in comparison with the control group (10 rats). Results and discussion. Stress caused more pronounced accumulation of ceramide in the eye and plasma of stress susceptible animals compared to resistant ones.

Key word: sphingolipids, stress resistance, psychosocial stress.

Введение. С постоянным ростом требований, предъявляемых социальной средой, все более значимым становится влияние стрессовых факторов

на нервную систему и организм в целом. Показано, что психогенный стресс приводит к росту заболеваемости многими психосоматическими патологиями [3, 5]. Таким

образом, эмоциональный стресс является важным фактором снижения качества жизни и трудоспособности населения. В то же время клинические наблюдения свидетельствуют о существовании как людей, так и животных с различной предрасположенностью к развитию нарушений в сходных стрессогенных ситуациях [2, 4].

В настоящее время значимая роль в реализации стрессовых влияний на клеточном уровне отводится производным сфинголипидов: сфингозину, церамиду и др., которые считаются одними из ключевых сигнальных молекул [8]. Сфинголипиды широко изучаются в качестве внутри- и межклеточных регуляторов при различных видах клеточного стресса. Так, церамид как вторичный мессенджер вызывает остановку роста и программированную гибель клеток. Показано участие церамида во всех известных механизмах инициации апоптоза [7]. Ранее нами было показано, что накопление церамида в различных тканях при стрессорных воздействиях существенно выше у животных с низкой устойчивостью к стрессу по сравнению с резистентными особями [1].

Цель исследования — оценить влияние психосоциального стресса на содержание сфинголипидов в заднем сегменте глаза и плазме крови крыс с различной резистентностью к эмоциональному стрессу.

Материал и методы. Экспериментальные исследования проведены на 30 белых нелинейных крысах-самцах массой 180—220 г с соблюдением всех регламентированных норм и правил этического обращения с лабораторными животными (Страсбург, 1986; приказ МЗ РФ от 2003 № 267).

Изменения липидного состава заднего отрезка глазных яблок оценивали в хронических опытах при экспериментальном моделировании психосоциального эмоционального стресса у 20 животных, а также у 10 интактных крыс (контроль).

Для моделирования стресса 2-месячных крыс на 2 мес помещали в изолированные клетки при естественном световом режиме и свободном доступе к воде и пище. Перед помещением в условия изоляции, а также после нее животных тестировали согласно методу «открытого поля». По результатам тестирования были выделены 2 группы: стрессоустойчивые (СУ) и стрессонеустойчивые (СН) крысы.

После окончания периода изоляции животных ссаживали попарно с ежедневной сменой партнера. Проведено 2 серии опытов, в которых крысы подвергались воздействию 10-дневного и 18-дневного психосоциального стресса. После окончания воздействий животных выводили из эксперимента путем декапитации под тиопенталовым наркозом, глазные яблоки энуклеировали. По экватору глазных яблок отсекали заднюю часть, из которой экстрагировали общие липиды смесью хлороформ/метанол 2:1 по Фолчу. Для разделения липидов на классы исполь-

зовали метод восходящей хроматографии в тонком слое силикогеля по Voath et al. (2010). Использовали систему растворителей — бутанол/ледяная уксусная кислота/вода 3:1:1 на пластинах фирмы «Merck» с УФ-индикатором (Германия). Пластины проявляли в парах кристаллического йода. Локализацию фракций на пластинах определяли с помощью «свидетелей» — стандартных хлороформенных растворов сфинголипидов фирмы «Avanti polar lipids» (США). Расчет параметров и количественная оценка хроматограмм проводилась в условиях ультрафиолетового освещения (спектр излучения 365 нм) с помощью программы «Sorbfil TLC Videodensitometer».

В день получения материала забирали артериальную кровь, центрифугировали ее при 1000 об/мин в течение получаса для получения плазмы. Из 1 мл плазмы экстрагировали общие липиды смесью хлороформ/метанол 2:1 по Фолчу и с помощью описанной выше методики восходящей тонкослойной хроматографии по Voath et al. (2010), разделяли липиды на классы. Количественную оценку хроматограмм (содержание в пятнах церамида и сфингомиелина) проводили так же, как описано выше. В другой порции плазмы (0,2 мл) определяли содержание 11-оксикортикостероидов по А.Г. Резникову, 1980.

Для оценки достоверности различий в группах использовали непараметрический критерий Манна—Уитни. Различия выборок считали статистически достоверными при $p < 0,05$. Анализ зависимости между признаками проводили с помощью расчета r — коэффициента корреляции (r -критерия Спирмена).

Результаты и их обсуждение. В контрольной серии содержание церамида и сфингомиелина у СН животных достоверно не отличалось от его количества в исследуемых тканях СУ крыс. Под действием 10- и 18-дневного психосоциального стресса как в заднем сегменте глаза, так и в плазме содержание церамида достоверно увеличилось в обеих группах по сравнению с контрольной, а количество сфингомиелина достоверно уменьшалось (табл. 1, 2).

Таблица 1

Сфинголипиды в заднем сегменте глаза у крыс с разной стрессоустойчивостью при психосоциальном стрессе (в мкг на 1 мг)

	Церамид		Сфингомиелин	
	СУ	СН	СУ	СН
Контроль	1,03±0,34	2,33±0,97	2,88±0,43	3,37±0,90
Стресс (10 дней)	4,47±0,90*	13,83±3,04*#	1,38±0,35*	0,50±0,10*#
Стресс (18 дней)	3,20±0,81*	6,10±1,30*#	1,77±0,20*	0,98±0,16*#

Примечание: * $p < 0,05$ в сравнении с контролем; # $p < 0,05$ — межгрупповые различия; СУ — стрессоустойчивые, СН — стрессонеустойчивые.

Таблица 2

Сфинголипиды в плазме крови крыс с разной стрессоустойчивостью при психосоциальном стрессе (в мкг на 1 мл)

	Церамид		Сфингомиелин	
	СУ	СН	СУ	СН
Контроль	0,034±0,007	0,041±0,009	0,021±0,004	0,016±0,0029
Стресс (10 дней)	0,072±0,01*	0,18±0,036*#	0,01±0,0018*	0,004±0,0009*#
Стресс (18 дней)	0,06±0,0087*	0,132±0,027*#	0,012±0,0011*	0,008±0,0012*#

Примечание: см. табл. 1.

В группе СН животных увеличение оказалось более выраженным, чем в группе СУ крыс. Различия между типами животных в обеих сериях оказались достоверными ($p < 0,05$).

Для выявления наличия или отсутствия связи между изменением содержания изучаемых фракций липидов в структурах заднего сегмента глаза и плазме артериальной крови был проведен корреляционный анализ.

При сравнении содержания церамида в заднем сегменте глаза и плазме крови была выявлена сильная прямая зависимость как у СУ, так и у СН животных ($r = 0,91$ и $r = 0,88$ соответственно, $p < 0,05$). Это, по нашему мнению, может указывать на системный характер происходящего под действием стресса изменения обмена исследуемых сфинголипидов.

Аналогичная по силе и направленности зависимость наблюдалась и при сравнении содержания сфингомиелина в заднем сегменте глаз и плазме крови у обоих типов животных — СУ и СН ($r = 0,82$ и $r = 0,87$ соответственно, $p < 0,05$), что может быть объяснено расходом сфингомиелина в реакции образования церамида и также указывает на системность происходящих изменений. Сильная обратная зависимость с высоким уровнем достоверности была выявлена между содержанием церамида и сфингомиелина в тканях заднего сегмента глаз СУ и СН животных ($r = -0,91$, $p < 0,05$ и $r = -0,8$, $p < 0,05$ соответственно). Однако подобной достоверной связи не удалось обнаружить между содержанием церамида и сфингомиелина в плазме крови обоих типов животных, что, вероятно, может указывать на активность иных путей метаболизма церамида и сфингомиелина в разных тканях организма. Это приводит к ослаблению корреляционных взаимосвязей на системном уровне.

С целью проверки наличия связи между содержанием сфинголипидов в структурах заднего сегмента глаз и плазме крови с уровнем «гормонов стресса» проводили корреляционный анализ полученных в исследовании экспериментальных данных с содержанием 11-оксикортикостероидов (11-ОКС) в плазме крови тех же животных. При этом не было выявлено достоверных взаимосвязей между концентрацией в плазме крови 11-ОКС и содержанием в заднем сегменте глаз и плазме как церамида, так и сфингомиелина. Это позволило высказать предположение, что глюкокортикостероиды, которые, как известно, способны усиливать образование церамида в ряде тканей, не оказывают влияния на исследуемые нами показатели в условиях выбранной модели стресса.

Выводы. В эксперименте обнаружено нарастание содержания церамида в заднем сегменте глаза и плазме крови при психосоциальном стрессе, при этом показано, что накопление церамида более значительно у животных с низкой устойчивостью к стрессу. Учитывая проапоптотические эффекты церамида, можно предположить, что длительные повторные эпизоды стресса или тяжелое стрессовое воздействие могут сопровождаться развитием дегенеративных изменений

в сетчатке за счет активации механизмов генерации церамида в клетках.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брындина, И.Г. Церамиды скелетных мышц, печени и легких грызунов при хроническом эмоциональном стрессе и моделированной невесомости / И.Г. Брындина, М.Р. Багаутдинов, Н.Н. Васильева [и др.] // Вестник Уральской медицинской академической науки. — 2012. — № 2(39). — С.108—109.
2. Величковский, Б.Б. Многомерная оценка индивидуальной устойчивости к стрессу: дис. ... канд. психол. наук / Б.Б. Величковский. — Москва: РГБ, 2007. — 195 с.
3. Погосова, Г.В. Признание значимости психоэмоционального стресса в качестве сердечно-сосудистого фактора риска первого порядка / Г.В. Погосова // Кардиология. — 2007. — № 2. — С.65—73.
4. Судаков, К.В. Индивидуальность эмоционального стресса / К.В. Судаков // Журнал неврологии и психологии. — 2005. — Т. 105, № 2. — С.4—12.
5. Chida, Y. A bidirectional relationship between psychosocial factors and atopic disorders: A systematic review and meta-analysis / Y. Chida, M. Hamer, A. Steptoe // Psychosom Med. — 2008. — Vol. 70. — P.102—116.
6. Sanvicens, N. Ceramide is the key mediator of oxidative stress-induced apoptosis in retinal photoreceptor cells / N. Sanvicens, T.G. Cotter // J. Neurochem. — 2006. — Vol. 98. — P.1432—1444.
7. Schenck, M. Ceramide: Physiological and pathophysiological aspects / M. Schenck [et al.] // Arch Biochem Biophys. — 2007. — Vol. 462. — P.171—175.
8. Spiegel, S. Sphingosine 1-phosphate, a key cell signaling molecule / S. Spiegel, S. Milstein // J. Biol. Chem. — 2002. — Vol. 277. — P.25851—25854.

REFERENCES

1. Bryndina, I.G. Ceramidy skeletnyh myshc, pecheni i legkih gryzunov pri hronicheskom emocional'nom stresse i modelirovannoi nevesomosti / I.G. Bryndina, M.R. Bagautdinov, N.N. Vasil'eva [i dr.] // Vestnik Ural'skoi medicinskoj akademicheskoi nauki. — 2012. — № 2(39). — S.108—109.
2. Velichkovskii, B.B. Mnogomernaya ocenka individual'noi ustoychivosti k stressu: dis. ... kand. psihol. nauk / B.B. Velichkovskii. — Moskva: RGB, 2007. — 195 s.
3. Pogosova, G.V. Priznanie znachimosti psihoemocional'nogo stressa v kachestve serdechno-sosudistogo faktora riska pervogo poryadka / G.V. Pogosova // Kardiologiya. — 2007. — № 2. — S.65—73.
4. Sudakov, K.V. Individual'nost' emocional'nogo stressa / K.V. Sudakov // Zhurnal nevrologii i psihologii. — 2005. — T. 105, № 2. — S.4—12.
5. Chida, Y. A bidirectional relationship between psychosocial factors and atopic disorders: A systematic review and meta-analysis / Y. Chida, M. Hamer, A. Steptoe // Psychosom Med. — 2008. — Vol. 70. — P.102—116.
6. Sanvicens, N. Ceramide is the key mediator of oxidative stress-induced apoptosis in retinal photoreceptor cells / N. Sanvicens, T.G. Cotter // J. Neurochem. — 2006. — Vol. 98. — P.1432—1444.
7. Schenck, M. Ceramide: Physiological and pathophysiological aspects / M. Schenck [et al.] // Arch Biochem Biophys. — 2007. — Vol. 462. — P.171—175.
8. Spiegel, S. Sphingosine 1-phosphate, a key cell signaling molecule / S. Spiegel, S. Milstein // J. Biol. Chem. — 2002. — Vol. 277. — P.25851—25854.

Поступила 11.04.2014