

УДК 616.831:612.176]-092-019

Л. Д. Олійник

Буковинська державна медична академія, м. Чернівці

## ВПЛИВ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕСУ НА ПОКАЗНИКИ ФІБРИНО-ТА ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ В СТРУКТУРАХ МОЗКУ ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ

**Ключові слова:** пренатальний стрес, статевий диморфізм, тканинний фібриноліз, протеоліз, мозок.

**Резюме.** У досліджах на статевозрілих самцях і самках білих щурів вивчено можливість модифікуючого впливу пренатального стресу на показники фібрино- та протеолітичної активності в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку. Встановлено, що вплив пренатального стресу на досліджені показники характеризується статевим диморфізмом, який може носити кількісний або якісний характер. Констатовані зміни мають виражений структурний характер та набувають особливої вираженості після іммобілізації.

### Вступ

Пригнічення та активація ферментів деградації пептидів має важливе біологічне значення при патологічних станах організму та впливах деяких екстремальних чинників [1,2,4]. При відтворенні різних моделей стрес-реакції, введенні глюкокортикоїдів має місце модифікація активності протеолітичних ферментів, що ймовірно, є однією з ланок неспецифічної реакції організму на дію несприятливих факторів [8,11]. Функціональний стан фібрино- та протеолітичних систем знаходиться під регуляторним впливом гормонального статусу організму [9], який при пренатальному стрес-синдромі зазнає численних модифікацій [5,6,7]. Це дає підстави для припущень щодо можливих порушень фібрино- та протеолітичної активності у тварин з синдромом пренатального стресу. У свою чергу, наявність статевого диморфізму в нейроендокринних проявах пренатального стрес-синдрому вказує на доцільність дослідження статевих особливостей функціонування систем тканинного фібринолізу та протеолізу за даної патології.

### Мета дослідження

Вивчити вплив пренатального стресу на показники фібрино- та протеолітичної активності в структурах мозку щурів різної статі.

### Матеріал і методи

Експерименти виконано на тримісячних самцях та самках щурів, матері яких з 15-го по 21-й день вагітності щоденно зазнавали одпо-

годинного жорсткого іммобілізаційного стресу. Контрольні групи представлені щурами відповідного віку та статі, народженими інтактними самками. Для виявлення можливих прихованих імпринтингових порушень досліджуваних показників у частини тварин після досягнення 3-місячного віку вони вивчалися після хронічного щоденного одногодинного іммобілізаційного стресу.

Показники тканинної фібрино- та протеолітичної активності визначали в гомогенатах перегородки мозку, преоптичної ділянки, медіобазального гіпоталамуса та мигдалеподібного комплексу. Структури забирали, звіряючись з атласом стереотаксичних координат [10].

Статистичну обробку проводили за t-критерієм Стюдента.

Всі експериментальні дослідження та евтаназія тварин проводилися з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985).

### Обговорення результатів дослідження

Дані щодо впливу іммобілізаційного та пренатального стресу на стан фібринолітичної активності в мозку самок представлені в табл. 1-4.

Іммобілізація контрольних самок спричинила зниження сумарної фібринолітичної активності, головним чином за рахунок ферментативної складової, в перегородці мозку й медіобазальному гіпоталамусі та тотальне зниження показників у ядрах мигдалика. Лише в

Таблиця 1

Статевий диморфізм впливу іммобілізаційного стресу на показники тканинного фібринолізу в перегородці мозку пренатально стресованих щурів ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )

Група спостереження		Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)
Самки	Контроль	37,5±3,12	20,2±1,52	17,2±1,61
	Іммобілізація контрольних	28,4±1,32 $p_1 < 0,05$	17,8±2,01	10,6±1,10 $p_1 < 0,005$
	Пренатальний стрес	34,8±3,01	22,1±2,16	12,7±1,25 $p_1 < 0,05$
	Іммобілізація пренатально стресованих	26,3±2,08 $p_2 < 0,025$	16,6±1,98 $p_2 < 0,05$	9,7±1,48
Самці	Контроль	25,8±2,10	17,4±1,62	8,5±1,42
	Іммобілізація контрольних	37,4±1,47 $p_1 < 0,005$	23,4±1,80 $p_1 < 0,025$	14,0±1,34 $p_1 < 0,0125$
	Пренатальний стрес	29,8±2,97	15,4±1,48	12,6±1,18 $p_1 < 0,05$
	Іммобілізація пренатально стресованих	43,8±2,83 $p_2 < 0,005$	26,2±1,42 $p_2 < 0,005$	17,5±1,84 $p_2 < 0,05$

Примітка. Тут та в наступних таблицях: вірогідність змін у порівнянні з показниками:  $p_1$  – у контрольних тварин;  $p_2$  – у пренатально стресованих тварин

Таблиця 2

Статевий диморфізм впливу іммобілізаційного стресу на показники тканинного фібринолізу в преоптичній ділянці пренатально стресованих щурів ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )

Група спостереження		Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)
Самки	Контроль	41,8±2,89	24,3±1,23	17,5±1,80
	Іммобілізація контрольних	40,8±3,41	21,8±2,06	19,0±1,31
	Пренатальний стрес	29,6±1,63 $p_1 < 0,005$	18,3±1,76 $p_1 < 0,0125$	11,3±1,68 $p_1 < 0,025$
	Іммобілізація пренатально стресованих	34,8±2,19 $p_2 < 0,05$	16,9±1,37	17,9±2,03 $p_2 < 0,05$
Самці	Контроль	35,1±2,52	16,7±1,42	18,4±1,71
	Іммобілізація контрольних	52,2±4,63 $p_1 < 0,01$	26,6±2,01 $p_1 < 0,005$	25,7±2,52 $p_1 < 0,025$
	Пренатальний стрес	33,4±2,42	15,3±1,22	16,3±1,45
	Іммобілізація пренатально стресованих	37,8±2,07	20,2±1,30 $p_2 < 0,025$	18,1±1,91

преоптичній ділянці тварин даної групи фібринолітична активність змін не зазнавала. Пренатальний стрес справив довготривалий вплив на ферментативний фібриноліз у перегородці та медіобазальному гіпоталамусі, неферментативний – у мигдалеподібному комплексі та на всі показники – в преоптичній ділянці мозку

самок. Іммобілізація самок з пренатальним стрес-синдромом знизила сумарну і неферментативну фібринолітичну активність у перегородці, сумарну та ферментативну – в медіобазальному гіпоталамусі. У преоптичній ділянці цих тварин іммобілізація призвела до зростання сумарного та ферментативного фібринолі-

Таблиця 3

Статевий диморфізм впливу іммобілізаційного стресу на показники тканинного фібринолізу в медіобазальному гіпоталамусі пренатально стресованих щурів ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )

Група спостереження		Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)
Самки	Контроль	46,1±4,21	22,8±1,79	23,3±1,90
	Іммобілізація	33,0±2,35 $p_1 < 0,01$	18,9±1,68	14,1±0,97 $p_1 < 0,005$
	Пренатальний стрес	47,8±3,42	19,3±2,29	28,5±2,01 $p_1 < 0,05$
	Іммобілізація	36,3±3,31 $p_2 < 0,05$	20,6±1,89	15,7±1,48 $p_2 < 0,005$
Самці	Контроль	42,7±2,26	19,4±1,11	23,3±1,38
	Іммобілізація контрольних	37,4±1,47 $p_1 < 0,05$	23,4±1,80 $p_1 < 0,05$	14,0±1,34 $p_1 < 0,005$
	Пренатальний стрес	40,5±2,52	21,9±1,93	18,6±1,73 $p_1 < 0,05$
	Іммобілізація пренатально стресованих	34,8±1,67 $p_2 < 0,05$	20,3±1,62	15,2±1,19

Таблиця 4

Статевий диморфізм впливу іммобілізаційного стресу на показники тканинного фібринолізу в мигдалеподібному комплексі пренатально стресованих щурів ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )

Група спостереження		Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)
Самки	Контроль	53,2±3,20	27,9±2,42	25,3±2,07
	Іммобілізація	41,5±3,35 $p_1 < 0,025$	21,8±1,63 $p_1 < 0,05$	19,6±1,19 $p_1 < 0,025$
	Пренатальний стрес	61,7±4,27	35,8±1,79 $p_1 < 0,025$	25,9±1,23
	Іммобілізація	65,2±5,47	41,3±3,59	23,9±1,89
Самці	Контроль	57,0±2,71	29,7±1,15	28,8±1,35
	Іммобілізація контрольних	47,8±4,02	21,8±2,10 $p_1 < 0,01$	26,0±1,21
	Пренатальний стрес	57,5±3,20	32,7±2,13	24,7±1,54 $p_1 < 0,05$
	Іммобілізація пренатально стресованих	61,4±4,16	26,6±1,75 $p_2 < 0,05$	30,6±2,68 $p_2 < 0,05$

зу, а в ядрах мигдалика змін не виявлено. Таким чином, вплив пренатального стресу на зазначені показники характеризується структурними особливостями, що знаходиться у відповідності з концепцією структурно-функціональної дезінтеграції стрес-реалізуючої та стрес-лімітуючої систем мозку за даної патології [7].

Реакція показників фібринолітичної активності на іммобілізацію та пренатальний стрес у самців відрізнялася від реакції самок (табл. 1-4). У перегородці мозку та преоптичній ділянці

контрольних самців після іммобілізації зростає всі види ферментативного фібринолізу, натомість у медіобазальному гіпоталамусі сумарна та ферментативна активність зменшувалась, а неферментативна – дещо зростає. У мигдалику реагував зниженням лише ферментативний фібриноліз.

Реакція на пренатальний стрес в перегородці самців була протилежною до такої в самок і полягала в зниженні інтенсивності ферментативного фібринолізу. Іммобілізаційний

стрес у дослідних самців також викликав зміни, супротивні тим, що мали місце в самок, тобто, всі показники фібринолітичної активності зростали. У преоптичній ділянці самців, на відміну від самок, пренатальний стрес не мав впливу на жоден із досліджуваних показників. Незначними були зміни в даній структурі після іммобілізації цієї категорії тварин – вони полягали лише в зростанні неферментативного фібринолізу. У медіобазальному гіпоталамусі не виявлено статевого диморфізму впливу пренатального стресу. Незначною різниця була також після іммобілізації, яка проявлялася лише відсутністю реакції ферментативної фібринолітичної активності в самців, притаманної самкам. У мигдалеподібному комплексі самців пренатальний стрес спричинив зниження ферментативного фібринолізу на відміну від зростання неферментативного в самок. Більшої вираженості та статевих відмінностей прояви пренатального стресу набули після іммобілізації самців, яка призвела до зниження неферментативної та зростання ферментативної фібринолітичної активності, внаслідок чого сумарна залишилася без змін. Ця реакція в самців принципово відрізнялася від аналогічної в самок, де не було зазначено жодних змін після іммобілізації.

Наслідки впливу іммобілізаційного стресу на показники протеолітичної активності в структурах мозку контрольних та пренатально стресованих самців і самок представлено в табл. 2,4,6,8. У перегородці мозку та преоптичній ділянці контрольних самок після іммобілізації відбулося зниження лізису азоальбуміну, в медіобазальному гіпоталамусі – азоальбуміну та азоказеїну, а в мигдалику змін не виявлено. Пренатальний стрес не впливав на протеолітичну активність у перегородці та медіобазальному гіпоталамусі, знижував лізис низько- та високомолекулярних білків у преоптичній ділянці та в ядрах мигдалика. Реакція на іммобілізаційний стрес у перегородці пренатально стресованих самок відрізнялася від подібної в контрольних зниженням лізису азоказеїну, в преоптичній ділянці – зниженням лізису колагену. У медіобазальному гіпоталамусі самок з пренатальним стрес-синдромом після іммобілізації, на відміну від контрольних, не змінювався лізис високомолекулярних білків, натомість з'являлося пригнічення лізису азоколу. Незважаючи на відсутність реакції на іммобілізацію в мигдалику контрольних самок, у дослідних мало місце зниження лізису азоальбуміну та азоколу.

Таким чином, можна зазначити, що в самок пренатальний стрес викликає численні якісні модифікації протеолітичної активності в лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку.

У контрольних самців після іммобілізації в перегородці мозку й преоптичній ділянці спостерігалось зниження інтенсивності протеолізу низькомолекулярних білків та колагену, в мигдалику – лише азоальбуміну. В медіобазальному гіпоталамусі змін не знайдено. Отримані дані свідчать, що в перегородці та преоптичній ділянці контрольних самців реакція протеолітичних систем на іммобілізацію відрізняється від аналогічної в самок кількісно, а в медіобазальному гіпоталамусі та мигдалику – якісно.

У перегородці мозку самців, на відміну від самок, пренатальний стрес спричинив зниження лізису азоказеїну, більш помітне після іммобілізації. Ще одна статеві різниця полягала в тому, що в самців на іммобілізацію не реагували протеази високомолекулярних білків.

На перший погляд, у преоптичній ділянці самців, на противагу самкам, пренатальний стрес не впливав на протеолітичну активність. Проте після іммобілізації в цій структурі мало місце зниження не лише лізису азоальбуміну, а й лізису азоказеїну. Особливо вираженою була відмінність щодо лізису азоколу, який у дослідних самців зростав, що якісно відрізнялося від показника в контрольних самців та пренатально стресованих самок.

Найбільш помітним статевий диморфізм щодо впливу пренатального стресу на досліджувані показники був у медіобазальному гіпоталамусі – при відсутності будь-яких змін у самок, два з трьох показників у самців зазнавали значних змін.

В ядрах мигдалика самців пренатальний стрес-синдром мав менш виражені прояви, ніж у самок, і полягав у зниженні лізису азоальбуміну. На відміну від дослідних самок, у котрих іммобілізація викликала пригнічення протеолітичної активності, в самців зростав лізис азоальбуміну, хоча лізис азоказеїну та азоколу також знижувався.

### Висновки

1. У більшості досліджених структур мозку самок іммобілізаційний стрес пригнічує фібринолітичну активність, а самців – підвищує її.

2. Пренатальний стрес має довготривалий вплив на ті чи інші показники фібринолітичної активності в усіх досліджених структурах мозку самок і перегородці мозку, медіобазаль-

ному гіпоталамусі та мигдалику самців. Загальна кількість змінених параметрів у самців значно менша, ніж у самок.

3. Пренатальний стрес кількісно модифікує реакцію на іммобілізацію у перегородці мозку самок і преоптичній ділянці самців та якісно — у преоптичній ділянці й мигдалику самок та медіобазальному гіпоталамусі й мигдалеподібному комплексі самців.

4. У перегородці та преоптичній ділянці контрольних самців реакція протеолітичних систем на іммобілізацію відрізняється від аналогічної в самок кількісно, а в медіобазальному гіпоталамусі та мигдалику — якісно.

5. Пренатальний стрес модифікує протеолітичну активність у преоптичній ділянці та мигдалику самок і в перегородці мозку, медіобазальному гіпоталамусі й мигдалику самців.

6. Статевий диморфізм впливу пренатального стресу на показники тканинного протеолізу має місце у всіх досліджених структурах мозку та набуває особливої вираженості після іммобілізації.

### Перспективи подальших досліджень

Отримані результати свідчать про доцільність створення засобів профілактики та корекції синдрому пренатального стресу з урахуванням секс-диморфних його проявів.

**Література.** 1. Веремеєнко К.Б., Голобородько О.П., Кицим А.А. Протеоліз в нормі і патології. — К.: Здоров'я, 1988. — 20 с. 2. Веремеєнко К.Б. Белковые ингибиторы плазмы крови — регуляторы активности протеолитических ферментов // Системная энзимотерапия. Теоретические основы, опыт клинического применения. — Киев: МОРИОН, 2000. — С. 21-53. 3. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-месенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок: Автореф. дис... д-ра мед. наук: 14.03.05 / Одеський мед. ін-т. — Одеса, 1996. — 37 с. 4. Монастирський В.А. Коагулопатичні аспекти патогенезу загальнопатологічних процесів // Ж. Акад. мед. наук України. — 2002. — Т.8, №2. — С. 238-258. 5. Резников А.Г., Носенко Н.Д., Тарасенко Л.В. и др. Ранние и отдаленные нейроэндокринные эффекты пренатального стресса у самцов и самок крыс // Пробл. эндокринологии. — 2000. — № 1. — С. 30-34. 6. Резников А.Г., Пишак В.П., Носенко Н.Д., Ткачук С.С., Мыслицкий В.Ф. Пренатальный стресс и нейроэндокринная патология. — Черновцы: Медакадемия, 2004. — 351 с. 7. Ткачук С.С., Пишак В.П., Мыслицкий В.Ф. Структурно-функциональна дезінтеграція стрессералізуючої та стреслімітуючої систем мозку як прояв модифікації гормон-медіаторного імпринтингу у самців щурів із синдромом пренатального стресу // Ж. Акад. мед. наук України. — 2003. — Т.9, № 1. — С. 130-140. 8. Ткачук О.В. Особливості впливу тимічних пептидів на стан фібрино- та протеолітичної активності в структурах мозку щурів з синдромом пренатального стресу // Клініч. та експерим. патол. — 2004. — Т.11, № 3. — С. 85-89. 9. Houlihan C.M., Knuppel R.A., Vintzileos A.M. et al. The effect of specific hormones on fibrinolysis // Amer. J. Obstetrics and Gynecol. — 1996. — V.175, N1. — P. 168-172. 10. Konig J.F., Klippel P.A. The rat brain. A stereotaxis atlas of forebrain and lower part of the brain stem. — Baltimore: The Williams and Wilkins Company, 1963. — 162p. 11. Tabrizi P., Wang L., Seeds N. Tissue plasminogen activator (tPA) deficiency exacerbates cerebrovascular fibrin deposition and brain injury in a murine stroke model: Studies in tPA-deficient mice and wild-type mice on a matched genetic background // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vasc. Biol. — 1999. — Vol. 19, № 11. — P. 2801-2806.

**ВЛИЯНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕССА НА ПОКАЗАТЕЛИ ФИБРИНО- И ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В СТРУКТУРАХ МОЗГА КРЫС РАЗНОГО ПОЛА**

Л. Д. Олійник

**Резюме.** В экспериментах на половозрелых самцах и самках белых крыс изучена возможность модифицирующего влияния пренатального стресса на показатели фибрино- и протеолитической активности в лимбико-гипоталамических структурах мозга. Установлено, что влияние пренатального стресса на исследованные показатели характеризуется половым диморфизмом, который может носить количественный или качественный характер. Констатированные изменения имеют структурный характер и приобретают особую выраженность после иммобилизации.

**Ключевые слова:** пренатальный стресс, половой диморфизм, тканевой фибринолиз, протеолиз, мозг.

### THE EFFECT OF PRENATAL STRESS ON THE INDICES OF FIBRINO- AND PROTEOLYTIC ACTIVITY IN THE BRAIN STRUCTURES OF RATS OF DIVERSE SEX

L. D. Oliinyk

**Abstract.** A possibility of a modification action of prenatal stress on the indices of the fibrino- and proteolytic activity in the limbic-hypothalamic structures of the brain has been studied in experiments of pubertal male and female albino rats. It has been established that the effect of prenatal stress on the indices under study are characterized by sexual dimorphism which may be of a quantitative or qualitative nature. The verified changes are of a marked structural character and acquire particular intensity after immobilization.

**Key words:** prenatal stress, sexual dimorphism, tissue fibrinolysis, proteolysis.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. — 2004. — Vol. 3, №4. — P. 47–51.

Надійшла до редакції 22.11.2004