

ЛИПИДНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КОЖИ, МОЗЖЕЧКА И ПРОДОЛГОВАТОГО МОЗГА ПРИ ВОДНО-ИММЕРСИОННОМ СТРЕССЕ У КРЫС

Г.А.ГРИБАНОВ¹, Н.В.КОСТЮК¹, Ю.В.АБРАМОВ², В.А.БЫКОВ²,
Л.Б.РЕБРОВ², Т.В.ВОЛОДИНА², С.С.ПЕРЦОВ³

¹Тверской государственный университет, Тверь, тел. (0822)36-0633

²Научно-исследовательский и учебно-методический центр биомедицинских технологий, 123056, Москва, ул. Красина, 2, факс (095)254-5681

³Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К.Анохина, Москва, ул. Б.Никитская, 6, факс (095)203-5432

Методом микротонкослойной хроматографии изучали изменения липидов кожи и основных липидных фракций мозжечка и продолговатого мозга крыс после кратковременного водно-иммерсионного стресса. Определяли количество общих липидов, абсолютное и относительное содержание основных липидных фракций: фосфолипидов, диглицеридов, незатерифицированного холестерина, свободных жирных кислот, триглицеридов и эфиров холестерина. Выявлено, что в ответ на водно-иммерсионный стресс у крыс происходят значительные "отставленные" во времени изменения липидного компонента кожи. Первые достоверные изменения липидных фракций кожи отмечаются только через 20 часов после окончания стрессорного воздействия и сохраняются с некоторыми видоизменениями до конца вторых суток. В мозжечке стрессированных крыс по сравнению с контрольной группой выявлено снижение концентрации общих липидов и этерифицированного холестерина, что может свидетельствовать об активном вовлечении в стрессорную реакцию холестеразной метаболической системы. В продолговатом мозге при стрессе содержание общих липидов также снижается, однако, содержание отдельных липидных классов изменяется иначе: выявлен прирост концентрации диглицеридов и снижение содержания холестерина. Полученные данные дают основание предположить, что метаболические превращения липидов кожи протекают преимущественно в направлении распада триглицеридов. Образующиеся при этом свободные жирные кислоты, по-видимому, используются на синтез фосфолипидов и эфиров холестерина. Результаты исследования свидетельствуют также о принципиально различных механизмах взаимоотношения между отдельными липидными фракциями в изученных отделах головного мозга крыс и связаны, вероятно, с их различной ролью в реализации ответной реакции организма на стресс.

Ключевые слова: стресс, липиды, кожа, мозжечок, продолговатый мозг.

ВВЕДЕНИЕ. В настоящее время существует обширная научная литература, свидетельствующая о влиянии стресса на метаболизм липидов различных тканей [1,2]. Известно, что различного рода стрессорные воздействия стимулируют секрецию адренкортикотропного и соматотропного гормонов, адреналина, глюкокортикостероидов, являющихся неспецифическими регуляторами липидного обмена. Значительные изменения метаболизма этого класса соединений в ответ на различные виды стресса отмечены в крови, печени, сердце, мышцах и других органах и тканях [3-5]. В литературе отсутствуют данные о влиянии эмоционального стресса на липидный состав кожи и различные мозговые структуры, хотя во многих тканях, в том числе в мозжечке и продолговатом мозге [6], обнаружены рецепторы к кортикостероидам.

Задача настоящего исследования состояла в изучении изменений липидных показателей кожи и лабильных структур головного мозга в постстрессорный период.

МЕТОДИКА. Эксперименты выполнены на крысах-самцах линии Вистар массой 200-250 г, содержавшихся на стандартном рационе, в летний период. Животные первой группы служили контролем. Животные второй группы подвергались четырехчасовому водно-иммерсионному эмоциональному стрессу [7]. В эксперименте исследовались участки кожи из межлопаточной области массой 80-270 мг. Отбор проб кожи производили после декапитации животных через 2, 20 и 44 часа после окончания стресса. У животных также извлекали головной мозг, выделяя мозжечок и продолговатый мозг. Для анализа липидного компонента головного мозга использовали навески тканей 20-30 мг. Экстракцию липидов проводили по методу Фолча [8]. Разделение липидных фракций осуществляли методом микротонкослойной хроматографии на силикагеле [9]. Количество общих липидов и отдельных фракций определяли разложением с концентрированной серной кислотой [9]. Данные обрабатывали методом вариационной статистики [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Результаты определения содержания общих липидов (ОЛ) и липидного спектра кожи крыс приведены в таблицах 1 и 2. Как видно из представленных данных, существенные изменения количества ОЛ наблюдаются только через 20 часов после стресса. Значение этого показателя через 2 часа близко к таковому у интактных животных. Через 20 часов после окончания стрессорного воздействия отмечается возрастание содержания ОЛ на 27,1% ($p < 0,05$). Их уровень остается повышенным до 44 часов.

Таблица 1. Абсолютное содержание липидов в коже крыс при стрессе (в мг/% влажного веса)

Группа животных	Сроки после стресса	ОЛ	ФЛ	ДГ	Х	СЖК	ТГ	ЭХ
Контроль		1805 ± 82,3	373,4 ± 12,1	128,7 ± 20,9	136,9 ± 13,8	175,3 ± 16,9	694,9 ± 26,0	296,1 ± 32,2
Стресс	2 часа	1734,7 ± 126,5	347,0 ± 9,8	125,9 ± 7,2	124,8 ± 19,8	177,0 ± 11,9	671,5 ± 43,4	288,6 ± 11,1
	20 ч.	2204,3 ± 93,1**	351,6 ± 24,2	117,3 ± 13,0	174,1 ± 16,1	295,5 ± 23,4**	873,2 ± 27,3**	392,1 ± 22,2**
	44 часа	1117,9 ± 104,7**	424,3 ± 13,8**	162,3 ± 23,6	156,3 ± 14,4	289,2 ± 20,2*	777,6 ± 25,2*	407,7 ± 32,1*

Примечание: * - достоверно по сравнению с контрольными животными при $p \leq 0,05$; ** - достоверно по сравнению с предыдущим часом при $p \leq 0,05$. Условные обозначения: КГ - контрольная группа животных; ВИС - группа животных, подвергшихся водно-иммерсионному стрессу; ОЛ - общие липиды; ФЛ - фосфолипиды; ДГ - диацилглицерины; Х - холестерин; СЖК - свободные жирные кислоты; ТГ - триацилглицерины; ЭХ - эфиры холестерина

Таблица 2. Относительное содержание липидов в коже крыс при стрессе (в % от суммы фракций)

Группа животных	Сроки после стресса	ФЛ	ДГ	Х	СЖК	ТГ	ЭХ
Контроль		22,2 ± 0,7	6,0 ± 1,0	6,7 ± 0,7	8,5 ± 0,8	39,6 ± 1,4	16,9 ± 1,8
Стресс	2 часа	21,5 ± 0,6	6,2 ± 0,4	6,3 ± 1,0	9,0 ± 0,6	39,9 ± 2,5	17,2 ± 0,7
	20 часов	17,2 ± 1,2*	4,5 ± 0,5*	6,9 ± 0,6	11,8 ± 0,9**	41,3 ± 1,2	18,3 ± 1,2
	44 часа	20,6 ± 0,7*	6,2 ± 0,9	6,2 ± 0,6	11,4 ± 0,8*	36,6 ± 1,4*	19,0 ± 2,1

Примечание: * - достоверно по сравнению с контрольными животными при $p \leq 0,05$; ** - достоверно по сравнению с предыдущим часом при $p \leq 0,05$. Условные обозначения как в таблице 1.

В коже интактных животных преобладающими фракциями являются триглицериды (ТГ), фосфолипиды (ФЛ) и эфиры холестерина (ЭХ). Содержание таких классов липидов как диглицериды (ДГ) и свободный холестерин (Х), свободные жирные кислоты (СЖК) не превышает 6,0-8,6%. Аналогичный характер распределения сохраняется и при расчете абсолютных значений.

Сопоставление липидных показателей кожи животных в разное время после перенесенного водно-иммерсионного стресса показывает, что ответная реакция со стороны отдельных липидных фракций также развивается в относительно поздние сроки. Первые достоверные изменения отмечаются только через 20 часов после окончания стрессорного воздействия и сохраняются с некоторыми видоизменениями до конца вторых суток.

Через 2 часа после стресса содержание большинства липидных фракций кожи мало отличалось от контрольных показателей. Отмечается только тенденция к незначительному снижению как относительного, так и абсолютного количества ФЛ.

Через 20 часов наблюдается снижение относительного содержания ФЛ (на 20,0%, $p < 0,05$) и ДГ (на 27,4 %, $p < 0,05$) с параллельным возрастанием СЖК (на 32,1%, $p < 0,05$). Доля остальных фракций существенно не меняется.

Сопоставление абсолютных количеств липидов через 2 и 20 часов после водно-иммерсионного стресса (табл 1.) показывает, что увеличение содержания общих липидов в исследуемой ткани происходит вследствие возрастания содержания таких фракций как ТГ, ЭХ, СЖК и, в меньшей степени, Х. Отмеченное выше снижение относительного содержания ФЛ не сопровождается уменьшением их абсолютного количества.

Таким образом, изменения содержания липидов в коже к концу первых суток, по-видимому, можно связать с поступлением в нее ТГ, СЖК, ЭХ из крови или подкожной жировой клетчатки. Нельзя также исключать и синтез некоторых липидов непосредственно в коже.

Во вторые сутки наблюдений наиболее лабильными оказались фракции ФЛ и ТГ, что выражается в достоверном возрастании относительного содержания ФЛ на 19,8% ($p < 0,05$) по сравнению с 20 часами и одновременно снижении уровня ТГ на 11,4% ($p < 0,05$). Обнаруживается тенденция к восстановлению исходного уровня ДГ. Аналогичный характер изменений наблюдается и при расчете абсолютного содержания фракций.

В таблице 3 представлены данные о суммарном содержании липидов и относительном количестве их основных классов мозжечка контрольной группы животных и животных, подвергшихся водно-иммерсионному стрессу.

Как видно из таблицы, водно-иммерсионный стресс оказывает существенное влияние на суммарное содержание липидов в мозжечке. У экспериментальной группы животных концентрация общих липидов снижается в 1,4 раза. Качественный состав липидов мозжечка в условиях водно-иммерсионного стресса не отличается от контрольной группы, однако, количественное соотношение основных липидных фракций значительно изменяется. Существенные изменения наблюдаются в реципрокной паре холестерин - эфиры холестерина. В экспериментальной группе отмечается увеличение почти в 2 раза доли свободного холестерина с параллельным снижением этерифицированного холестерина на 57,8 % от исходных значений. Приведенные данные могут свидетельствовать о том, что основной метаболической системой, активно вовлекающейся в стрессорную реакцию в условиях проведенных нами экспериментов, является холестеролэстеразная система. Отсутствие выраженного прироста свободных жирных кислот при образовании холестерина из эфиров холестерина может быть объяснено их дальнейшими превращениями.

Вместе с тем, содержание отдельных липидных классов под влиянием экспериментального стресса изменяется иначе, чем в мозжечке. Так, для большинства классов липидов достоверных изменений их концентраций не отмечено. Однако, для холестериновой фракции обнаружено снижение до 70,4 % от

исходных значений, которое не сопровождалось увеличением уровня эфиров холестерина. В тоже время наблюдается незначительный прирост концентрации дилицеридов.

Таблица 3. Влияние водно-иммерсионного стресса на липидный состав мозжечка крыс линии Вистар.

Группа животных	ОЛ мг%	Относительное содержание фракций (% от суммы)					
		ФЛ	ДГ	Х	СЖК	ТГ	ЭХ
КГ	4392,3 ±299,7	52,4 ±0,5	3,4 ±1,1	10,3 ±1,2	11,3 ±1,1	7,0 ±1,4	15,6 ±1,5
ВИС	2941,9 ±31,4*	50,2 ±1,3	4,9 ±0,7	19,5 ±1,8*	13,0 ±1,7	8,7 ±0,6	6,6 ±0,9*

Примечание: * - $p \leq 0,05$ по сравнению с контрольной группой Условные обозначения как в таблице 1.

В таблице 4 представлены результаты изменений липидного состава продолговатого мозга крыс под влиянием водно-иммерсионного стресса.

Как видно из таблицы 4, водно-иммерсионный стресс в продолговатом мозге, так же, как и в мозжечке, вызывает снижение общего количества липидов почти в 2 раза.

Таблица 4. Влияние водно-иммерсионного стресса на липидный состав продолговатого мозга крыс линии Вистар

Группа животных	ОЛ мг%	Относительное содержание фракций (% от суммы)					
		ФЛ	ДГ	Х	СЖК	ТГ	ЭХ
контроль	5422,3 ±370,8	46,3 ±1,4	5,7 ±0,4	19,3 ±1,3	11,4 ±0,6	8,3 ±1,6	9,0 ±1,7
стресс	2639,9 ±194,7*	50,5 ±3,0	7,5 ±0,2*	13,6 ±0,9*	10,9 ±1,9	9,3 ±0,6	8,2 ±1,1

Примечание: * - $p \leq 0,05$ по сравнению с контрольной группой. Условные обозначения как в таблице 1.

Представленные результаты свидетельствуют о том, что в ответ на водно-иммерсионный стресс происходят значительные изменения липидного компонента кожи, имеющие "отставленный" во времени характер. В механизме реагирования на стресс, по-видимому, могут иметь место как перестройки метаболических отношений липидов в самой коже, так и изменения метаболизма и транспорта этих соединений в других тканях, в частности крови и подкожной жировой клетчатке. Водно-иммерсионный стресс у крыс оказывает заметное влияние на липидный компонент тканей мозжечка и продолговатого мозга. При этом, если общее количество липидов под влиянием водно-иммерсионного стресса снижается в обоих отделах мозга, относительное содержание отдельных липидных фракций изменяется по-разному, с участием принципиально различных механизмов взаимоотношений между ними. Обнаруженные изменения, вероятно, связаны с различной ролью мозжечка и продолговатого мозга в реализации ответной реакции крыс на водно-иммерсионный стресс.

Таким образом, полученные данные показывают, что изученные нами ткани активно реагируют на воздействие эмоционального стресса. Причем липидный состав кожи, которая считается одной из наименее лабильных структур организма, изменяется довольно значительно. Однако, механизмы, с помощью которых изменяется липидный обмен в ответ на стрессовое воздействие, различны для изученных

тканей и зависят, очевидно, от многих факторов, в том числе, их структуры, выполняемых функций и метаболических отношений целостного организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Войнер И.А., Богачева Т.Р., Емельянов Н.А. (1987) Укр. биохим. журн., **59**, (4), 75-83.
2. Меерсон Ф.З., Архипенко Ю.В., Диденко В.В. (1988) Бюлл. exper. биол. мед, **106**, - N 11. 542.
3. Иванов В.В., Луста И.В. (1990) Пробл. эндокрин., **36** (6), 77-80.
4. Connet R.J. (1979) Amer. J. Physiol., **237**, (5), 231-236.
5. Edwards D., Chapman D., Cramp W.A., Vatvin M.B. (1984) Prog. Biophys. Molec. Biol. **43**, 71-93.
6. Pavlic A., Buresova M. (1984) Dev. Brain Res., **12**, 13-20
7. Overmier J., Murison R., et al. (1986) Behav. Neural Biol., **46**, 372-386.
8. Folch J.M., Less G.H., Sloane St. (1957) J. Biol. Chem., **226**, 497- 509.
9. Грибанов Г.А. (1979) Успехи соврем. биол., № 1, 16-32.
10. Лакин Г.Ф. (1980) Биометрия.- М.

Поступила 10. 06. 97г.

LIPID INDEXES OF THE SKIN, THE CEREBELLUM AND THE MEDULLA OBLONGATA IN RATS DURING WATER-IMMERSION STRESS

G.A.GRIBANOV¹, N.V.KOSTYUK¹, YU.V.ABRAMOV², V.A.BYKOV², L.B.REBROV²,
T.V.VOLODINA², AND S.S.PERTSOV³

¹Tver State University, Tver, tel (0822)36-0633

²Research Centre for Biomedical Technology, 123056 Moscow, Krasin str.,2, fax (095)254-56-81

³Anokhin Research Institute of Normal Physiology, Moscow, B.Nikitskaya str.,6,
fax (095)203-5432

The influence of short-form water immersion stress of rats on lipids in the skin, the cerebellum and the medulla oblongata was studied. The level of total lipids and absolute and relative contents of the main lipid fractions (phospholipids, nonesterified cholesterol, free fatty acids, triglycerides, and cholesterol esters) were measured. Stress induced delayed changes of the lipid component of the skin. The first significant changes of lipid fractions were only observed 20 h later after the stress procedure. These changes were retained (being at nearly constant levels) till the end of the second day. The decrease in contents of total lipids and esterified cholesterol was revealed in the cerebellum of stressed rats (in comparison to these levels in control rats). These results suggest the involvement of cholesterol metabolic system in the stress reaction. The content of total lipids decreased also in the medulla oblongata. However, levels of the main lipid fractions changed differently. The content of diglycerides increased and the content of cholesterol decreased. The data obtained suggest that degradation of triglycerides is the principle pathway of metabolic conversions of lipids. Free fatty acids formed during these processes are probably involved in the synthesis of phospholipids and cholesterol esters. The data indicate absolutely different mechanisms of interrelations between individual lipid fractions in the brain regions studied. Various roles of the brain structures in the stress response of the body may account for the differences revealed.

Keywords: stress, lipids, skin, cerebellum, medulla oblongata.