

Н.Ф. Величко

## Особливості гормонально-метаболических змін у дорослих самців щурів за умов емоційного стресу під час молочного вигодовування

ДУ «Ін-т проблем ендокрин. патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», Харків;  
E-mail: aureamediocritas@inbox.ru

*Досліджено особливості протеїнового, ліпідного обміну та концентрації статевих гормонів у дорослих самців щурів внаслідок дії емоційного стресу в період молочного вигодовування. Виявлено, що стрес у цей період діє за типом імпринтингу, внаслідок чого у дослідних тварин вміст статевих гормонів і метаболічні процеси, які мають чіткі статеві особливості, стають подібними до показників інтактних самиць. У стресованих самців концентрація тестостерону ( $6,78 \pm 0,44$  нмоль/л), тригліцеридів ( $2,0 \pm 0,04$  ммоль/л), загального протеїну ( $150,30 \pm 3,8$  мг/мл) у сироватці крові подібна до значень цих показників у інтактних самиць –  $5,6 \pm 0,30$  нмоль/л;  $2,1 \pm 0,1$  ммоль/л;  $160,91 \pm 5,1$  мг/мл відповідно. У печінці цих тварин вміст тестостерону ( $1,06 \pm 0,01$  нмоль/л), загального протеїну ( $261,30 \pm 6,33$  мг/г), активність аланінамінотрансферази ( $1,08 \pm 0,05$  мкмоль · год<sup>-1</sup> · мг<sup>-1</sup> протеїну) також не відрізнялися від значення цих показників у самиць –  $1,09 \pm 0,05$  нмоль/л;  $253,73 \pm 5,15$  мг/г;  $1,05 \pm 0,03$  мкмоль · год<sup>-1</sup> · мг<sup>-1</sup> протеїну відповідно. Знайдено зміни у розподілі амінокислоти аргінін у крові та печінці і суттєве зростання вмісту оксиду азоту. Так, у інтактних самців концентрація оксиду азоту в сироватці крові становила  $0,14 \pm 0,01$  мкмоль/л, у стресованих самців –  $0,61 \pm 0,01$  мкмоль/л. Таким чином, у дорослих самців щурів внаслідок дії стресу в період молочного вигодовування спостерігаються істотні зміни концентрації статевих гормонів, порушення білкового та ліпідного обміну. Також відмінний від фізіологічного вміст амінокислоти аргінін, якій притаманні антиоксидантні властивості, та високий вміст оксиду азоту (вільного радикала) є ознакою розвитку хронічного оксидативного стресу – фундаменту пошкодження судинного тонуусу, а це може бути ініціюючим кроком у патогенезі чоловічого безпліддя.*

*Ключові слова: емоційний стрес, період молочного вигодовування, протеїновий обмін, ліпідний обмін, статеві гормони, дорослі самці щурів.*

### ВСТУП

Частота чоловічого безпліддя за різними даними коливається від 30 до 50 %, з яких у близько 32 % випадків констатується ідіопатична форма [1]. Етіологія погіршення сперматогенезу до кінця не відома. Однак встановлено, що майже 42–46 % патологічних станів, які формують копулятивні та репродуктивні патології чоловіків, починаються на ранніх етапах онтогенезу, коли в організмі відбуваються морфофункціональні зміни основних його систем і формування регуляторних механізмів. Різноманітні

чинники довкілля в так звані критичні періоди впродовж раннього онтогенезу, зокрема материнський стрес, здатні суттєво впливати на статевий розвиток. Так, у дорослих самців щурів, що зазнали пренатального стресу, відмічаються виражені ушкодження репродуктивної системи, порушення центральних нейромедіаторних механізмів регуляції процесів відтворення, демаскулінізація і фемінізація статевої поведінки [2, 3].

Проте для розвитку організму ссавців важливий і період молочного вигодовування,

© Н.Ф. Величко

який є надзвичайно чутливим до дії несприятливих чинників і стресу зокрема. Адже зміна гормонального статусу в цей час може призвести до порушень дозрівання систем нейрогуморальної регуляції, віддалені наслідки якої на становлення репродуктивної системи вивчені недостатньо.

Сучасні уявлення про механізми становлення статі у ссавців базуються на його первинній генетичній детермінації та подальшому формуванні специфічного статевого фенотипу під впливом гормональних факторів [4]. Однак у забезпеченні та прояві статевого диморфізму беруть участь не тільки органи розмноження та відповідний склад гормонів, а ще й інтегративні органи, до яких належить печінка [5, 6]. Встановлено чітко залежний від статі характер перебігу різноманітних реакцій у клітинах цього органа [7]. Значна частина метаболізму ліпідів відбувається саме в печінці. Також гепатоцити є головними протеїнсинтезувальними системами та продуцентами гормонів, язувальних транспортних ензимів. У гепатоцитах відбувається детоксикація продуктів метаболізму протеїнів. Провідна роль у цьому процесі належить амінокислоті аргінін, з якою пов'язана складна система метаболічних шляхів. Ензиматичне розщеплення аргініну алостеричним ензимом аргіназою в печінці призводить до утворення сечовини, котра є маркером обміну протеїнів.

Відомо, що внаслідок дії стресу підвищується вміст вільних радикалів та розвивається оксидативний стрес. Вільним радикалом є оксид азоту (NO), який утворюється при окисненні L-аргініну НАДФН-залежними NO-синтазами (NOS). NO є міжклітинним посередником, фізіологічні концентрації якого задіяні у процесах запліднення. Однак його підвищення внаслідок дії стресу призводить до розвитку нітрозативного стресу.

Дані багатьох досліджень доводять тісний зв'язок між оксидативним стресом і розвитком ендотеліальної дисфункції [8], яка є ініціюючим кроком у патогенезі різноманітних захворювань. Ендотеліальна дисфункція

супроводжується пошкодженням судинного тонусу та метаболічної функції ендотелію. Це, у свою чергу, негативно позначається на функціонуванні багатьох систем організму, в тому числі й репродуктивній.

Достеменно невідомо яким чином такі патофізіологічні зміни в критичні періоди онтогенезу (період молочного вигодовування) впливають на статеву диференціацію, гормонально-метаболічні процеси та, зрештою, на стан репродуктивної системи у дорослих особин. Базуючись на медико-біологічній та соціальній значущості проблеми детермінації статі та її формування, вивчення молекулярних і фізіологічних закономірностей цих процесів у особин чоловічої статі, що є найбільш чутливими до дії зовнішніх чинників, може виявитися корисним для виявлення причин і попередження можливих статевих порушень.

Метою нашої роботи було визначення характеру імпринтингових наслідків емоційного стресу в період молочного вигодовування за гормональними показниками та станом протеїнового, ліпідного обміну в сироватці крові та гомогенаті печінки дорослих щурів-самців.

## МЕТОДИКА

Експеримент проводили відповідно до національних «Загальноетичних принципів експериментів на тваринах» [9]. Інтактні самиці були запліднені інтактними щурами-самцями лінії Вістар. За 2-3 доби до пологів вагітні самиці були рандомізовані на дві групи – інтактні та стресовані. Після пологів у групі стресованих самиць з 3-ї по 15-ту добу життя був відтворений емоційний стрес нащадків і матері за моделлю «clean bedding» та «maternal separation stress». Для цього щурят викладали поодиночі на чисту підстилку. Одночасно самиць поміщали у пусту клітку, де перед цим знаходилися самці (експозиція до запаху «чужого» самця) [10]. Тривалість таких маніпуляцій як для щурят, так і для матері становила 15 хв.

На 30-ту добу життя нащадки були відсажені від матері. Нашадків-щурів було поділено на 3 групи по 12 тварин: до 1-ї ввійшли інтактні самиці інтактних матерів (контроль 1), до 2-ї – інтактні самці інтактних матерів (контроль 2), до 3-ї – стресовані нащадки-самці стресованих матерів. У віці 10 міс тварин швидко декапітували [11]. У сироватці крові щурів та 10%-му гомогенаті печінки, який готували у розчині хлориду натрію концентрацією 9 г/л, визначали біохімічні показники: загальний протеїн, сечовина, активність ензимів аланінамінотрансферази (АЛТ) та аспартатамінотрансферази (АСТ), вільний аргінін, оксид азоту (NO), загальний холестерин (ЗХС), тригліцериди, холестерин ліпопротеїдів високої щільності (ХС ЛПВЩ), загальний тестостерон, естрадіол. Отримані результати наведено у перерахунку на 1 г сирової тканини.

Концентрацію загального протеїну визначали методом Лоурі в модифікації Міллера [12, 13], вільний аргінін – за реакцією взаємодії аргініну гідрохлориду з спиртовим розчином  $\alpha$ -нафтолу та гіпобромним реактивом [14]; оксид азоту – за сумарним вмістом стабільних метаболітів циклу азоту (NOx) (нітрит- та нітрат-аніонів) при взаємодії NOx з реактивом Грісса [15]. Концентрацію тригліцеридів, ЗХС, ХСЛПВЩ, сечовини, активність АЛТ та АСТ визначали комерційними наборами фірми «СпайнЛаб» та ТОВ НВП «Філісіт-Діагностик» (Україна). Концентрацію загального тестостерону та естрадіолу досліджували імуноферментними тест-наборами фірми «Хема» (Росія). Для визначення вмісту гормонів у тканинах печінки робили подвійну спирт-ефірну екстракцію гомогенату та отримували сухий осад, який розчиняли в фосфатно-сольовому буфері (рН 7,4).

Зважаючи на нормальний характер розподілу у вибірках, результати представлені як середнє арифметичне ( $\bar{x}$ ) та його похибка ( $\pm S \bar{x}$ ), оцінку достовірності відмінностей між групами проводили з використанням критерію t Стьюдента. Розходження вважали статистично значущими при  $P \leq 0,05$  [16].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У нашому експерименті дія емоційного стресу в період молочного вигодовування призвела до значних змін гормонально-метаболических показників у дорослих дослідних самців щурів 3-ї групи. Концентрація естрадіолу в крові тварин становила  $35,72 \pm 1,90$  пмоль/л – майже в 1,5 раза вище, ніж у контрольній групі самців ( $24,20 \pm 0,58$  пмоль/л), але в 1,8 раза нижче, ніж у контрольній групі самиць у стадії дієструс ( $64,59 \pm 1,76$  пмоль/л;  $P \leq 0,05$ ). Слід відмітити, що за даними попереднього дослідження у стресованих щурів віком 6 міс цей показник не відрізнявся від контролю [17]. У групі контрольних самців вміст естрадіолу був втричі меншим, ніж у контрольних самиць. У печінці концентрація естрадіолу в 3-й групі становила  $0,13 \pm 0,01$  пмоль/л, що в 1,5 раза менше порівняно з контрольною групою самців, а з групою контрольних самиць – майже в 3 рази:  $0,20 \pm 0,003$  та  $0,36 \pm 0,011$  пмоль/л відповідно ( $P \leq 0,05$ ).

Відомо, що естрогени здатні посилювати активність ліполізу в жировій тканині, що призводить до підвищення в крові вмісту тригліцеридів [18]. У нашому дослідженні було виявлено, що у щурів 3-ї групи цей показник став майже вдвічі вищим у порівнянні з групою контрольних самців, а з контрольними самицями різниці не виявлено (рис. 1,а). Так само вміст тригліцеридів у печінці тварин 3-ї групи перевищував на 50 % цей показник у групі контрольних самців, але був статистично достовірно меншим, ніж у групі контрольних самиць (на 26 %, див. рис. 1,б). У сироватці крові та печінці в контрольних групах щурів спостерігається чітка пряма залежність між концентрацією естрадіолу та тригліцеридів [11]. У печінці стресованих щурів ця залежність порушується, оскільки підвищення вмісту тригліцеридів відбувається на тлі низького вмісту естрадіолу, що, можливо, пов'язано з активацією синтезу тригліцеридів у печінці *de novo*.

Вміст ЗХС у сироватці крові у стресо-

ваних щурів менший на 24 % у порівнянні з групою контрольних самців ( $P \leq 0,05$ ). Це, можливо, пояснюється посиленням процесів  $\beta$ -окиснення жирних кислот і підвищеною активністю ензимів глюконеогенезу під впливом глюкокортикоїдів внаслідок дії не-

онатального стресу, адже вміст холестерину в печінці, де синтезується переважна його кількість, у дослідних тварин залишився на рівні інтактних щурів-самців (див. рис. 1,б).

Також естрогени підвищують перетворення ліпопротеїдів дуже низької щільності

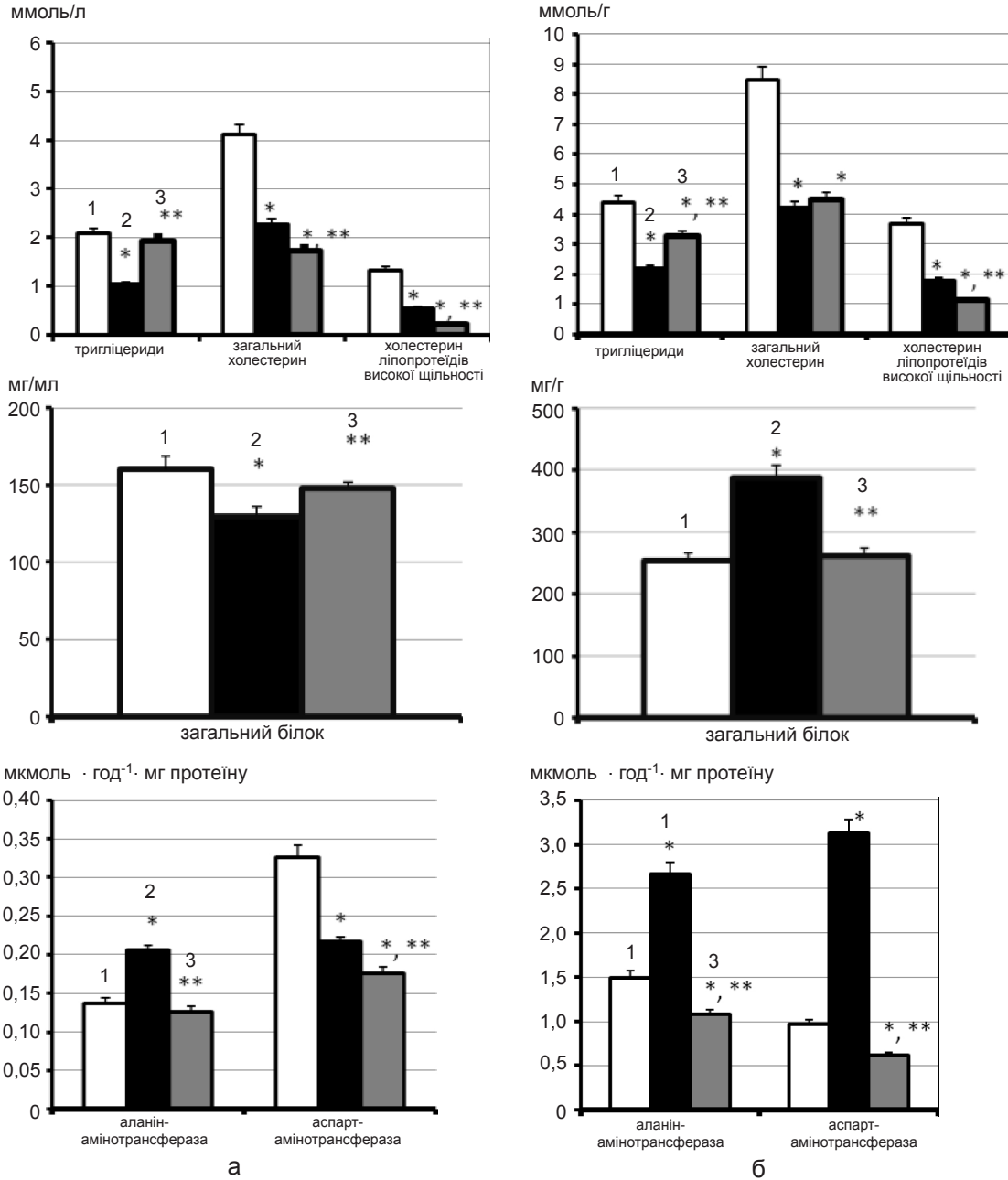


Рис. 1. Біохімічні показники ліпідного та білкового обміну крові (а) й печінки (б) контрольних і дослідних щурів: 1 – самці контрольної групи, 2 – самці контрольної групи; 3 – група стресованих самців. \* статистично значущі відмінності відносно самців контрольної групи ( $P \leq 0,05$ ); \*\* статистично значущі відмінності відносно самців контрольної групи ( $P \leq 0,05$ )

(ЛПДНЩ) у ліпопротеїди низької щільності (ЛПНЩ), що призводить до пригнічення активності постгепаринової ліпопротеїдліпази та активації ліцетин-холестерин-ацилтрансферази і підвищення вмісту ЛПВЩ у печінці. Це пояснює те, що у групі контрольних самців вміст ХСЛПВЩ у сироватці крові та печінці у 2 рази менший, ніж у контрольних самиць. Однак у стресованих самців, які відрізняються гіперестрогенією (в крові), вміст ХСЛПВЩ у сироватці крові та печінці менший на 62 та 37% відповідно (див. рис. 1,а,б), що, можливо, пов'язано з паралельним зменшенням холестерину в сироватці крові. Адже основною позитивною функцією ЛПВЩ є забезпечення зворотного транспорту холестерину у периферичні тканини та печінку для подальшого катаболізму.

Значення показників ліпідного обміну залежить від концентрації естрадіолу та андрогенів. Відомо, що останні пригнічують синтез холестерину в печінці та змінюють швидкість його окиснення фракції мітохондрій. Ця регуляція може здійснюватись як на стадії його синтезу, так і катаболізму. Андрогени здатні блокувати активність ключового ензиму пентозного циклу – глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, що призводить до зменшення утворення відновленої форми НАДФ·Н<sub>2</sub>, яка використовується для синтезу тригліцеридів, холестерину та сечової кислоти й зменшенню їх вмісту в крові [19]. Визначення концентрації тригліцеридів, ЗХС і ХС ЛПВЩ у сироватці крові та печінці показало, що їх значення у групі контрольних самців в 2 рази менші, ніж контрольних самиць, що пояснюється відповідним складом статевих гормонів (див. рис. 1,а,б) і узгоджується з даними літератури [7, 11].

Слід відмітити, що концентрація тестостерону в сироватці крові у групі контрольних самців вище, ніж у контрольних самиць майже у 3,4 рази:  $18,90 \pm 1,16$  щодо  $5,6 \pm 0,30$  нмоль/л, а в печінці – вдвічі:  $2,22 \pm 0,21$  щодо  $1,06 \pm 0,01$  нмоль/л відповідно ( $P \leq 0,05$ ). Стресовані тварини 3-ї групи відрізнялися зниженим вмістом тестостерону, який

становив  $6,78 \pm 0,44$  нмоль/л, що було майже втричі менше у порівнянні з групою контрольних самців. Тобто самці 3-ї групи за цим показником не відрізнялися від контрольних самиць:  $5,6 \pm 0,30$  щодо  $6,78 \pm 0,44$  нмоль/л ( $P \leq 0,05$ ). Такі гормональні зміни у стресованих самців скоріше за все пов'язані зі зменшенням синтезу тестостерону у сім'яниках і підвищенням активності ароматази у надниркових залозах і жировій тканині – основних постачальників естрогенів у чоловічому організмі. Адже вміст естрогенів у цих тварин у крові збільшився (див. вище). Варто також зазначити, що у молодшому віці (6 міс) у стресованих шурів гіпоандрогенія не відмічалася [17]. Це є першою ознакою зсуву метаболічних процесів стресованих самців у бік фемінізації з віком.

У печінці концентрація тестостерону у дослідних тварин 3-ї групи була в 2 рази меншою у порівнянні з контрольними самцями та стала такою, як у контрольних самиць:  $1,09 \pm 0,05$ ;  $2,22 \pm 0,21$ ;  $1,06 \pm 0,01$  нмоль/л відповідно ( $P \leq 0,05$ ). Оскільки гепатоцити мають на своїй поверхні рецептори до статевих гормонів, можна зробити припущення, що зменшення концентрації тестостерону та підвищення естрадіолу в дослідній групі пов'язано зі зміною кількості та активності відповідних рецепторів у цьому органі внаслідок імпринтингової дії стресу. Адже відомо, що підвищений вміст глюкокортикоїдів здатен посилювати дію естрогенів, активуючи їхні рецептори, окремі ділянки яких гомологічні за своєю будовою з кортикостероїдними рецепторами.

Біологічний ефект гормонів здійснюється через їх взаємодію із відповідними цитоплазматичними рецепторами, після чого цей комплекс надходить в ядро клітини. Активація відповідних структур хроматину посилює синтез протеїнів та змінює функціональний стан органа-мішені, що відображається на його біохімічних показниках.

Так, вміст загального протеїну у стресованих самців у крові та печінці був подібним



до значень у групі контрольних самиць і більшим, ніж у контрольних самців на 14 % у сироватці крові ( $P \leq 0,05$ ) та меншим на 33 % у печінці ( $P \leq 0,05$ ; див. рис. 1,а,б). Зміна концентрації загального протеїну наймовірніше пов'язана з гормональним зсувом вмісту тестостерону та естрадіолу в бік фемінізації (див. вище) та, як наслідок, дефіцитом тестостерону у дослідних самців 3-ї групи. Адже відомо, що в чоловічому організмі він має анаболічні властивості та посилює протеїновий синтез у печінці, а при його недостатності ці ефекти пригнічуються.

На порушення протеїнового синтезу вказують зміни активності таких трансфераз, як АЛТ та АСТ. Відомо, що вони беруть участь у міжмолекулярному перенесенні аміногруп (трансамінування) в печінці з утворенням відповідних  $\alpha$ -кислот, які, у свою чергу є компонентами циклу трикарбонових кислот та беруть активну участь у біосинтезі протеїнів. У нашому дослідженні було показано, що у групі контрольних самців активність АЛТ у сироватці крові вище на 35 %, в гомогенаті печінки – на 44 %; активність АСТ у сироватці крові нижча на 33 %, а в гомогенаті печінки вища на 70 % порівняно з групою контрольних самиць (див. рис. 1,а,б). Знайдені статеві відмінності у щурів за активністю АЛТ узгоджуються з даними літератури [7], тоді як така диференціація активності АСТ – показана вперше.

Стрес у період молочного вигодовування у дорослих самців виявив імпринтинговий ефект, внаслідок чого активність АЛТ у сироватці крові була майже на 40 % меншою порівняно з групою контрольних самців та більш подібною до значень контрольних самиць (див. рис. 1,а). У печінці стресованих самців цей показник також менше майже на 60 % у порівнянні з групою контрольних самців та на 30 % - контрольними самицями (див. рис. 1,б). Активність трансферази АСТ у дослідних самців 3-ї групи у сироватці крові також зменшилася: відносно групи контрольних самців - майже на 24 % і на 46 % щодо

контрольних самиць (див. рис. 1,а). У печінці активність АСТ у стресованих самців була меншою на 80 %, ніж у групі контрольних самців і стала більш подібною до активності ензиму групи контрольних самиць, але достовірно меншою на 37 % (див. рис. 1,б).

Ще одним показником протеїнового обміну є сечовина. Виявлено, що у групі контрольних самців її вміст у сироватці крові вищий на 35 %, а в гомогенаті печінки - нижчий на 34 %, ніж у групі контрольних самиць (рис. 2,а,б). У стресованих тварин концентрація сечовини як в сироватці крові, так і в печінці залишилася на рівні значень контрольних самців (див. рис. 2,а,б). Можливо, це пов'язано з активацією компенсаторних і адаптивних механізмів оптимізації швидкості виведення азотистих продуктів розпаду протеїнів та, як наслідок, попередженням інтоксикації, оскільки вміст протеїнів у сироватці крові та печінці у стресованих самців суттєво відрізняється від значень контрольних-самців (див. рис. 1,а,б).

Попередником утворення сечовини є амінокислота аргінін, яка безпосередньо бере активну участь у протеїновому обміні. У групі контрольних самців вміст вільного аргініну в сироватці крові вищий на 14 %, а в печінці нижчий на 44 %, ніж у групі контрольних самиць, що, найбільш імовірно, пов'язано з гендерними особливостями перерозподілу цієї амінокислоти на метаболічні потреби. У стресованих тварин вміст вільного аргініну зменшився в сироватці крові на 60 %, а в печінці - майже на 44 % в порівнянні з показниками контрольних самців (див. рис. 2,а,б). Така зміна концентрації аргініну у дослідних тварин 3-ї групи може свідчити про посилення експресії відповідних генів ензимів NOS з утворенням NO, оскільки вміст сечовини як в сироватці крові, так і в печінці, залишився на рівні контролю (див. рис. 1,а,б). Це припущення підтверджується тим, що при дослідженні концентрації NO у стресованих самців було виявлено статистично достовірне його підвищення в сироватці крові в 4,4 раза, а в

печінці – в 1,5 раза в порівнянні зі значеннями контрольних самців (див. рис. 2, а,б).

Слід зазначити, що за даними літератури статеві відмінності вмісту NO у сироватці крові суперечливі. Так, Zhang, Shu [20] показали, що цей показник у осіб чоловічої статі вищий, ніж у жінок. Однак за даними

Мажитової, вміст NO у самців щурів є меншим у порівнянні з самицями [8]. У нашому дослідженні було показано, що концентрація NO в сироватці крові у групі контрольних самців в 16 разів менша, ніж у контрольних самиць, що можливо пов'язано з особливостями метаболічних процесів і відповідним

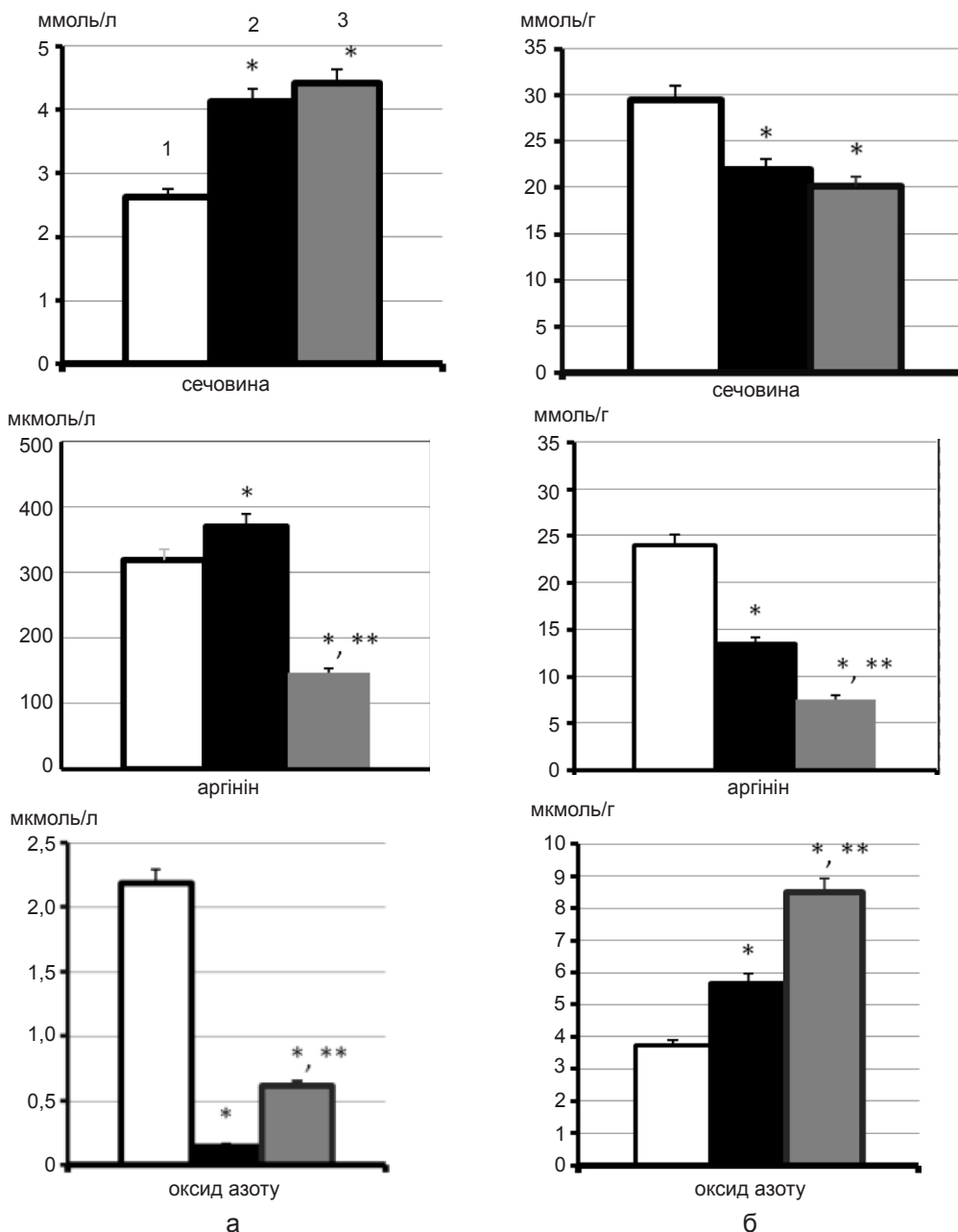


Рис. 2. Концентрація сечовини, аргініну, оксиду азоту в крові (а) та печінки (б) контрольних і дослідних щурів: 1 – самиці контрольної групи, 2 – самці контрольної групи, 3 – група стресованих самців. \* статистично значущі відмінності відносно самиць контрольної групи ( $P \leq 0,05$ ); \*\* статистично значущі відмінності відносно самців контрольної групи ( $P \leq 0,05$ )

складом гормонів (див. рис. 2,а). У печінці тварин контрольних самців концентрація NO на 35 % вища, ніж у групі контрольних самиць (див. рис. 2,б). Можливо, такий характер перерозподілу NO в печінці пов'язаний із взаємною конкуренцією ензиму аргінази й NOS за субстрат аргінін як попередника утворення оксиду азоту і сечовини та, як наслідок, меншим вмістом сечовини в цьому органі у самців (див. рис. 2,б).

Як показали наші попередні дослідження [17], у стресованих щурят на 22-гу добу життя (через 9 діб після закінчення стресування) відповіді незрілої адреналової системи на дію стресу (за вмістом кортикостерону в сироватці крові) не було, що узгоджується з даними літератури [22]. Водночас у дорослих тварин у стані спокою концентрація кортикостерону перевищувала контрольні значення ( $321,8 \pm 5,2$  щодо  $246,9 \pm 7,6$  нмоль/л).

Наразі відомо, що статеві диференціації охоплює не тільки органи самої статевої сфери, але й увесь організм в цілому. Це визначає нейроендокринні механізми регуляції статевого розмноження і координацію метаболічних процесів, які зберігають свою направленість впродовж тривалого часу. Однак ці процеси можуть бути порушені внаслідок дії такого розповсюдженого фактора, як стрес.

Механізми реалізації дії стресових чинників, особливо слабкої інтенсивності, на організм нащадків під час молочного вигодовування ще остаточно не вивчені. Проте відомо, що внаслідок стресування у матері відбуваються зміни на центральному та периферичному нейрогуморальних рівнях, які позначаються на відповідних складових молока і призводять до стресорної гіпогалакції [23]. Це супроводжується підвищенням вивільненням АКТГ, кортикостерону, норадреналіну, адреналіну і зниженням вмісту тиреоїдних гормонів і пролактину [24], які, у свою чергу, можуть впливати на організм нащадків під час молочного вигодовування. Вважають, що наявність в материнському молоці таких

адаптогенів, як гормони надниркових залоз, АКТГ,  $\beta$ -ендорфін і пролактин носить пристосувальний характер і забезпечує виживаність її нащадків [25]. Однак сильне хронічне стресування матері викликає порушення статевої диференціації мозку нащадків, уповільнення росту [26], настання статевої зрілості, зниження фертильності [27].

Таким чином, емоційний стрес у період молочного вигодовування має імпринтингові наслідки. У стресованих дорослих самців щурів вміст статевих гормонів зсувається в бік фемінізації, що супроводжується суттєвими порушеннями білкового, ліпідного обміну та оксидативного стану. Виявлено, що у стресованих самців концентрація тригліцеридів, загального протеїну, активність ензимів АЛТ і АСТ у сироватці крові та печінці стала подібною до значень інтактних самиць. Також внаслідок дії стресу в період молочного вигодовування у дорослих самців змінився в печінці та крові вміст амінокислоти аргінін, якій притаманні антиоксидантні властивості, та суттєво підвищився вміст NO (вільного радикала), що є ознакою розвитку хронічного оксидативного стресу. Такі метаболічні зміни є фундаментом пошкодження судинного тону-су та розвитку ендотеліальної дисфункції, яка є ініціюючим кроком у патогенезі чоловічого безпліддя.

**Н.Ф. Величко**

#### **ОСОБЕННОСТИ ГОРМОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ У ВЗРОСЛЫХ САМЦОВ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА В ПЕРИОД МОЛОЧНОГО ВСКАРМЛИВАНИЯ**

Исследованы особенности протеинового, липидного обмена и концентрации половых гормонов у взрослых самцов крыс вследствие действия эмоционального стресса в период молочного вскармливания. Выявлено, что стресс в этот период действует по типу импринтинга, вследствие чего у подопытных животных содержание половых гормонов и процессы метаболизма, которые имеют четкие половые особенности, становятся подобными показателям интактных самок. У стрессированных самцов концентрация тестостерона ( $6,78 \pm 0,44$  нмоль/л), триглицеридов



( $2,0 \pm 0,04$  ммоль/л), общего протеина ( $150,30 \pm 3,8$  мг/мл) в сыворотке крови подобна таковым у интактных самок –  $5,6 \pm 0,30$  ммоль/л;  $2,1 \pm 0,1$  ммоль/л;  $160,91 \pm 5,1$  мг/мл соответственно. В печени подопытных самцов содержание тестостерона ( $1,06 \pm 0,01$  ммоль/л), общего протеина ( $261,30 \pm 6,33$  мг/г), активность аланинаминотрансферазы ( $1,08 \pm 0,05$  мкмоль · ч<sup>-1</sup> · мг<sup>-1</sup> протеина) тоже не отличались от этих показателей у самок –  $1,09 \pm 0,05$  ммоль/л;  $253,73 \pm 5,15$  мг/г;  $1,05 \pm 0,03$  мкмоль · ч<sup>-1</sup> · мг<sup>-1</sup> протеина соответственно. Найдены изменения и в распределении аминокислоты аргинин в крови и печени, существенное увеличение содержания оксида азота. Так, у интактных самцов значение этого показателя в сыворотке крови составляло  $0,14 \pm 0,01$  мкмоль/л, у стрессированных самцов –  $0,61 \pm 0,01$  мкмоль/л. Таким образом, у взрослых самцов крыс вследствие действия стресса в период молочного вскармливания наблюдаются значительные изменения концентрации половых гормонов, нарушение белкового и липидного обмена. Также, отличное от физиологического, содержание аминокислоты аргинин (присущи антиоксидантные свойства) и высокое содержание оксида азота (свободного радикала) является признаком развития хронического оксидативного стресса. Это лежит в основе повреждения сосудистого тонуса и может быть инициирующим шагом в патогенезе мужского бесплодия.

Ключевые слова: эмоциональный стресс, период молочного вскармливания, протеиновый обмен, липидный обмен, половые гормоны, взрослые самцы крыс.

**N.F. Velichko**

### **PECULIARITIES HORMONAL METABOLIC CHANGES IN ADULT MALE RATS UNDER EFFECT OF EMOTIONAL STRESS DURING DAIRY FEEDING**

The peculiarities of protein, lipid metabolism and sexual hormones concentration in adult male rats due to the impact of emotional stress in period of milk feeding have been studied. It has been revealed that stress in this period functions according to imprinting type that result in feminization of the parameters of sexual hormones contents and metabolic processes, which shows gender features in normal animals and their parameters similar to intact females. The concentrations of testosterone ( $6,78 \pm 0,44$  nmol/L), triglycerides ( $2,0 \pm 0,04$  mmol/L), total protein ( $150,30 \pm 3,8$  mg/mL) in serum of stressed males were similar to intact females –  $5,6 \pm 0,30$  nmol/L;  $2,1 \pm 0,1$  mmol/L;  $160,91 \pm 5,1$  mg/mL respectively. The liver concentration of testosterone ( $1,06 \pm 0,01$  nmol/L), total protein ( $261,30 \pm 6,33$  mg/mL), activity of alanineaminotransferase ( $1,08 \pm 0,05$   $\mu$ mol/hour per mg protein) of stressed male also did not differ from those of females indicators –  $1,09 \pm 0,05$  nmol/L;  $253,73 \pm 5,15$  mg/mL;  $1,05 \pm 0,03$   $\mu$ mol/hour per mg protein, respectively. The changes of arginine amino acid distribution in blood and liver as well as significant increase of nitric oxide level. Thus, in intact males concentration of nitric

oxide in the serum was  $0,14 \pm 0,01$   $\mu$ mol/L, in stressed males –  $0,61 \pm 0,01$   $\mu$ mol/L. Thus, in adult male rats, due to the action of stress in the during dairy feeding, shifting the content of the sex hormones, substantial violation of protein and lipid metabolism. Also different from physiological content of arginine amino acid, which are antyoxidation, and increase in the concentration of nitric oxide (free radical), which in turn is a sign of chronic oxidative stress and damage to the foundation of vascular tone, which may be the initiating step in the pathogenesis of male infertility.

Key words: emotional stress, period of dairy feeding, protein metabolism, lipid metabolism, sex hormones, adult males, rats.

*SI "V.Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine", Kharkiv*

### **REFERENCES**

1. Chernykh V B Kurile L F, V. Polyakov A Y-chromosome, AZF-microdeletions and idiopathic male infertility. Reproduct. problems. 2001; 5: 35 – 48.
2. Reznikov A G, Pishak S, Nosenko N D, Tkachuk C C Myslytsky V F Prenatal stress and neuroendocrine pathology. Chernovtsy: Medical Academy; 2004.
3. Tkachuk S S, Pishak V P, Myslytsky V F Prenatal stress syndrome: manifestations and mechanisms of development. Bukovina. Med Gazette. 1999; 3 (2): 12 – 24.
4. Stanley E L, Johnston D S, Fan J, Papadopoulos V, Chen H, Ge R. S, et al. Stem Leydig cell differentiation: gene expression during development of the adult rat population of Leydig cells. Biol Reprod. 2011 Dec; 85 (6): 1161-6. PubMed PMID: 21832170.
5. Rosen V B, Mataradze G D, Smirnova O V, Smirnov A N Sexual differentsirovka of liver function. Moscow: Medicine; 1991.
6. Justo R, Boada J, Frontera M, Oliver J, Bermúdez J, Gianotti M Gender dimorphism in rat liver mitochondrial oxidative metabolism and biogenesis. Am J Physiol Cell Physiol. 2005 Aug; 289 (2):C372-8. PubMed PMID: 15800054.
7. Zachow R, Uzumcu M. The hepatocyte growth factor system as a regulator of female and male gonadal function. J Endocrinol. 2007 Dec; 195(3):359-71. PubMed PMID: 18000299.
8. Haistad D D Oxidative stress and vascular disease : 2005 Duff Lecture. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2006; Apr; 26 (4): 689-95. PubMed PMID: 16410455.
9. General ethical principles of animal experimentation. Endokrynology. 2003, 8 (1): 142–5.
10. Moles A, Rizzi R, D'Amato F R. Postnatal stress in mice: does "stressing" the mother have the same effect as "stressing" the pups? Dev Psychobiol. 2004 May; 44 (4): 230-7. PubMed PMID: 15103733.
11. Stefanov O V Preclinical studies of drugs. Kyiv: Avicenna; 2001.
12. Lowry O, Rosebrough N, Farr A, Randall R J Protein in

- measurement with a folinphenol reagent. J Biol Chem. 1951 Nov;193 (1): 265-75. PubMed PMID: 14907713.
13. Miller G. L. Protein determination for large numbers of samples. Anal Chem. 1959; 31: 964-6.
  14. Aleinikova T L, Rubtsova G V, Pavlova N A Guide to practical lessons Moscow: Medicine; 2000.
  15. Kotsyuruba A V Semykopna T V Victorov O P Method of quantitative determination nitrit anion in biological fluids. Pat. 31600 Ukraine, MPK A6G01N33/52. Bull. № 7, 2000 December 15.
  16. Atramentova L O, Utevska O M Statistical methods in biology: a schoolbook. Kharkov: Kharkov National University. V N Karazina; 2007.
  17. Karpenko N O, Somova O V, Koreneva Ye M, Chistyakova E Ye, Velichko N F and others. Hormonal changes in adult rats were stressed and / or phytoestrogenized during milk feeding. Endocrinology. 2011 ; 16 (1): 76-82.
  18. Cronenberg M, Melmed Sh, Polonsky K S, Larsen P R Endocrinology by Williams. Reproduction endocrinology. Moscow: Reed Elsyver; 2011.
  19. Dedov I I, Melnichenko G A, Fadeev V V. Endocrinology. Moscow: Medicine; 2000.
  20. Zhang H, Shu L, Cai X, Wang Z, Jiao X, Liu F, et al. Gender and age affect the levels of exhaled nitric oxide in healthy children. Exp Ther Med. 2013 Apr; 5 (4): 1174-8. PubMed PMID: 23596487; PubMed Central PMCID: PMC3628114.
  21. Mazhitova M.V., Teply D.D. Change antioxidant status and free radical processes in the blood of white rats after chronic exposure hydrogen sulfide gas. Math. Samara scientific. Ros. center. Acad. Sciences. 2010; 30: 1766–8.
  22. Neumann I D, Toschi N, Ohl F, Torner L, Krömer S A Maternal defense as an emotional stressor in female rats: correlation of neuroendocrine and behavioral parameters and involvement of brain oxytocin. Eur J Neurosci. 2001 Mar; 13 (5): 1016-24. PubMed PMID: 11264675.
  23. Neumann I. D., Torner L., Wigger A. Brain oxytocin: differential inhibition of neuroendocrine stress responses and anxiety-related behavior in virgin, pregnant and lactating rats. Neuroscience. 2000; 95(2): 567-75. PubMed PMID: 10658637
  24. Magdub A. H., Yohnson D., Belyea R. Z Effect of environmental heat and dietary fiber on thyroid physiology of lactating cows. J. Dairy Sci. 1982; Dec; 65(12): 2323-31. PubMed PMID: 6298292.
  25. Walker C.D., Deschamps S., Proulx K., Tu M., Salzman C., Woodside B. et al. Mother to infant to mother? Reciprocal regulation of responsiveness to stress in rodents and implications for humans J. Psychiatry. Neurosci. 2004 Sep; 29(5): 364-82. PubMed Central PMCID: PMC518866.
  26. Rzayeva, L V, Ismailov Y B. Education level of growth hormone and prolactin in the pituitary gland and the secretion of milk by the action of neuroleptics. XIII Congress of the Sun Physiol. society of. Pavlova Alma Atayu. Abstracts of papers at symposia, 1979. Alma Atayu. 2010; 1: 384.
  27. Aliyev M G, Ragimova Sh. A, Guseykova L M Effect of prolactin deficiency in the milk of lactating rats on the formation of the Reproductive System. IV Sun conf. “The endocrine system of the body and environmental hazards”, Sept. 15-19. 1991 Leningrad. 1991; 8.

*ДУ «Ін-т проблем ендокрин. патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України», Харків  
E-mail: aureamediocritas@inbox.ru*

*Матеріал надійшов  
до редакції 02.08.2013*