

УДК 616-009-092.9+518.1+[615.012/014: 59.085]

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.15066208>

## ПРОФІЛАКТИКА ЗАПАЛЕННЯ І ПОРУШЕНЬ АНТИОКСИДАНТНО-ПРООКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ НА ТЛІ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ

**Макаренко О. А., Хромагіна Л. М., Мудрик Л. М., Ходаков І. В.**

*Державна установа «Інститут стоматології та  
щелепно-лицевої хірургії НАМН України»*

## PREVENTION OF INFLAMMATION AND DISORDERS OF THE ANTIOXIDANT-PROOXIDANT SYSTEM IN RATS UNDER CHRONIC STRESS

**Makarenko O.A., Khromagina L.M., Mudryk L.M., Khodakov I. V.**

*State Establishment "Institute of Stomatology and Maxillofacial Surgery" of the  
National Academy of Sciences of Ukraine*

### Summary/Резюме

The study was aimed at determining the antioxidant and anti-inflammatory efficacies of the daytime and nighttime complex of anxiolytics in rats subjected to prolonged stress. Stress was induced using variable frequency ultrasound in combination with audible sound. The signs of stress were assessed by the adrenal organ index, the degree of inflammation by the activity of elastase and thymol test in the blood, the state of the antioxidant-prooxidant system by the activity of catalase, the level of malondialdehyde in the blood and liver of animals. It was found that prolonged sound stress in rats caused hypertrophy of the adrenal glands, an increase in the level of malondialdehyde, a decrease in catalase activity, i.e. the development of oxidative stress, as well as inflammation in the whole organism and in the liver in particular. Administration of the daytime and nighttime complex anxiolytics to rats under conditions of sound stress prevented adrenal hypertrophy, promoted antioxidant and anti-inflammatory efficacy.

**Key words:** *rats, chronic sound stress, antioxidant-prooxidant system, inflammation, anxiolytics.*

Дослідження присвячено визначенню антиоксидантної та протизапальної ефективності комплексу денного та нічного анксіолітиків у щурів, яким моделювали тривалий стрес. Відтворення стресу здійснювали за допомогою ультразвуку змінної частоти у комбінації зі звуком чутного діапазону. Ознаки стресу оцінювали за органичним індексом надниркових залоз, ступень запалення — за активністю еластази і тимолової проби в крові, стан антиоксидантно-прооксидантної системи — за активністю каталази, рівнем малонового діальдегіду у крові та печінці тварин. Встановлено, що тривалий звуковий стрес у щурів викликав гіпертрофію надниркових залоз, збільшення рівню малонового діальдегіду, зменшення активності каталази, тобто розвиток оксидативного стресу, а також запалення у цілому організмі та зокрема у печінці тварин. Введення щурам денного та нічного анксіолітиків в умовах звукового стресу запобігало гіпертрофії надниркових залоз, сприяло антиоксидантної та протизапальної ефективності.

**Ключові слова:** *щури, хронічний звуковий стрес, антиоксидантно-прооксидантна система, запалення, анксіолітики.*

Проблема профілактики наслідків стресу особливо актуальна для України, де триває війна. Постійне внутрішнє емоційне напруження, нестабільність, непередбачуваність майбутнього, тривога за життя і безпеку рідних впливає на різні аспекти здоров'я сучасного українця, що може бути причиною розвитку різних патологічних станів [5, 6]. Дослідження патогенетичних ланок, які розкривають механізми пошкоджувального впливу хронічного стресу, може сприяти розробці ефективних методів корекції. [7]. У нинішніх умовах надзвичайно важливо застосовувати різні методи знищення стресу, в тому числі психотерапію, практику релаксації, ароматерапію, фізичні вправи, музику, голковколювання, фізіотерапевтичні заходи та ін. Відомо, що при стресових ситуаціях може розвиватися оксидативний стрес, зумовлений гіперсекрецією адреналіну, тому виникає важливість профілактики за допомогою прийому лікарських засобів, а саме сучасних анкіолітиків з антиоксидантними властивостями [2, 9, 12].

**Мета** роботи — дослідження проти-запальної та антиоксидантної ефективності комплексу анкіолітиків у щурів на тлі моделювання хронічного звукового стресу.

#### **Матеріали та методи дослідження**

Експеримент виконали на 30 щурах-самцях лінії Wistar стадного розведення, віком 5 місяців та масою тіла 260-285 г. Умови отримання тварин у віварії «Інститута стоматології та щелепно-лицевої хірургії» є стандартними і відповідають положенням Директиви Європейського парламенту та Ради (2010/63/EU) [European convention..., 2010] та наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 року № 249 [Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах].

Щурів поділили на три групи по 10 тварин у кожній: 1 група — інтактна (контроль); 2 група — хронічний звуковий

стрес; 3 група — стрес + корекція комплексом анкіолітиків.

Відтворення стресу у щурів 2-ої і 3-ої груп реалізовували звуковими стимулами чутного та ультразвукового діапазонів за допомогою відлякувача шкідників LS-912 (виробник «Leaven Enterprise», Тайвань). Відлякувач надає ультразвук у діапазоні від 30 до 65 кГц зі звуковим тиском 130 дБ, потужністю 1,5 Вт на площу до 232 м<sup>2</sup>. Відлякувач використовували по 6 годин щодня за винятком вихідних днів. Схема Моделювання звукового стресу здійснювали наступним чином: 2 дні надавали ультразвук з частотою 30 кГц, наступні 2 дні — 50 кГц, далі 2 дні — 40 кГц і останні 2 дні — 65 кГц. Потім схему повторювали. Також щодня на 1 годину до ультразвуку додавали звук чутного діапазону, якій нагадує звук повітряної тривоги.

Комплекс анкіолітиків складався з препаратів, які розроблені ТДВ «Інтерхім» (м. Одеса): Мебікар ІС 0,3 г у дозі 11 мг/кг та Левани ІС 2 мг у дозі 3 мг/кг. Дози препаратів для щурів адекватні людині за рекомендаціями виробника. Анкіолітики вводили з першого дня дослідження щоденно перорально: Мебікар ІС — зранку, Левани ІС — увечері.

Експеримент тривав 70 днів. Тварин під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) шляхом тотального кровопускання з серця виводили з дослідження. Збирали кров для отримання сироватки, у якій визначали маркери запалення (тимолову пробу, активність еластази) та показники антиоксидантно-прооксидантної системи (вміст малонового діальдегіду і активність каталази) [3, 4]. Виділяли надниркові залози для визначення органного індексу, печінку для приготування гомогенатів (50 мг/мл 0,05 М трис-НСІ буфер рН 7,6), у яких визначали активність еластази, каталази, вміст малонового діальдегіду [4]. Для оцінки вірогідності різниці між показниками у контрольній та дослідній групах користувалися параметричним Т-тестом Стюдента. Відмінності вважали вірогідними при рівні значущості не менше 95

% ( $p < 0,05$ ) [8].

### Результати дослідження та їх обговорення

На першому етапі роботи для доказу формування стресу у тварин визначали органний індекс надниркових залоз, як показника нейроендокринної реакції на стресовий фактор. У нашому досліді органний індекс надниркових залоз у щурів, яких піддавали хронічному звуковому стресу, підвищився на 88,7 % ( $315,1 \pm 1,2$  до  $285,5 \pm 1,9$  мг/100 г маси тіла). Відомий розвиток гіпертрофії надниркових залоз при хронічному стресі внаслідок активації гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи та гіперпродукції глюкокортикоїдів. Щоденне введення анксиолітиків стресованим щурам сприяло достовірному зниженню (на 39,3 %) органного індексу надниркових залоз, який відповідав рівню у інтактних тварин. Взагалі, гіпертрофія надниркових залоз у щурів після тривалої дії ультразвуку в поєднанні зі звуком чутного діапазону свідчить про наявність стресової реакції у тварин, а попередження цієї гіпертрофії за допомогою Мебікара ІС і Левани ІС в умовах стресу — про транквілізуючу активність препаратів.

На наступному етапі визначали біохімічні показники стану антиоксидантно-прооксидантної системи та запалення у сироватці крові експериментальних тварин. Як показано у табл. 1, під впливом тривалої дії ультразвуку змінної частоти у комбінації зі звуком чутного діапазону у крові щурів зареєстровано збільшення рівня малонового діальдегіду (МДА) на 57,1 % ( $p < 0,001$ ), що говорить про інтенсифікацію пероксидації ліпідів [1, 2].

На тлі активації перекисного окис-

нення ліпідів у крові стресованих щурів зменшилась активність антиоксидантного ферменту каталази — на 31,8 % ( $p < 0,01$ ). Це є характерною ознакою виснаження антиоксидантної системи організму тварин під впливом дії ультразвуку змінної частоти у комбінації зі звуком чутного діапазону [10, 12].

Тимолова проба у крові щурів 2-ої групи, яких піддавали дії ультразвуку в комбінації зі звуком чутного діапазону, зросла у 3,7 рази ( $p < 0,001$ ; табл. 1). Отримані результати свідчать про негативну дію хронічного звукового стресу на організм, а саме розвиток запалення і порушення білково-синтетичної функції печінки. Хронічний звуковий стрес викликав у сироватці крові щурів 2-ої групи підвищення активності еластази на 23,2 % ( $p < 0,02$ ), що підтверджує активацію запальних процесів в організмі. Відомо, що спалах запалення різного ґенезу призводить до збільшення у крові активності еластази, яка має нейтрофільні походження [11].

У сироватці крові щурів 3-ої групи, яка отримувала профілактичний комплекс анксиолітиків Мебікар ІС і Левана ІС при моделюванні хронічного звукового стресу, зареєстровано вірогідне зниження тимолової проби, активності еластази та рівню МДА при одночасному підвищенні активності каталази ( $p_1 < 0,001-0,05$ ). Усі досліджувані маркери у крові тварин 3-ої

Таблиця 1

Маркери антиоксидантно-прооксидантної системи і запалення у сироватці крові щурів на тлі звукового стресу та профілактики

| Групи                | Вміст МДА, ммоль/л                            | Активність каталази, мкат/л                   | Тимолова проба, од                                | Активність еластази, мкат/л                   |
|----------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Інтактна             | $0,35 \pm 0,02$                               | $0,22 \pm 0,02$                               | $0,526 \pm 0,031$                                 | $175,0 \pm 10,7$                              |
| Стрес                | $0,55 \pm 0,03$<br>$p < 0,001$                | $0,15 \pm 0,01$<br>$p < 0,01$                 | $1,940 \pm 0,012$<br>$p < 0,001$                  | $215,6 \pm 14,3$<br>$p < 0,02$                |
| Стрес + профілактика | $0,38 \pm 0,02$<br>$p > 0,3$<br>$p_1 < 0,001$ | $0,20 \pm 0,01$<br>$p > 0,4$<br>$p_1 < 0,002$ | $0,973 \pm 0,075$<br>$p < 0,001$<br>$p_1 < 0,001$ | $180,1 \pm 12,4$<br>$p > 0,4$<br>$p_1 < 0,05$ |

Примітка:  $p$  — достовірність різниці до показників у інтактній групі,  $p_1$  — достовірність різниці до показників у групі «стрес».

групи, крім тимолової проби, відповідали значенням у інтактних щурів ( $p > 0,3-0,04$ ; табл. 1).

Тимолова проба у крові тварин після профілактики стресу зменшилася у 2 рази ( $p_1 \text{ В } 0,001$ ), але її рівень зберігався вірогідно високим по відношенню до значень у крові інтактною групи ( $p \text{ В } 0,001$ ; табл. 1). Цей факт свідчить про серйозне порушення функції печінки внаслідок хронічного звукового стресу, яке можливо треба корегувати специфічними гепатопротекторами.

Отримані результати дозволяють заключити, що крім прямої дії анксиолітиків, спрямованої на подолання стресових реакцій (тривоги, страху, неспокою), Мебікар ІС у комбінації з Леваною ІС також запобігають розвитку запальних процесів, інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів та виснаженню антиоксидантної системи у тварин, які тривалий час існували в умовах дії ультразвуку змінної частоти у комбінації зі звуком чутного діапазону. Ці данні підтверджують характеристику Мебікара ІС від виробника як такого, що проявляє антиоксидатну дію завдяки мембраностабілізуючим властивостям.

У табл. 2 наведено результати визначення вмісту МДА, активності еластази і каталази у гомогенатах печінки стресованих тварин та після профілактики анксиолітиками. Тривалий звуковий стрес викликав у печінці збільшення вмісту МДА на 81,5 %, активності еластази — на 25,2 % на тлі зниження активності каталази на 13,5 %. Ці результати показують наявність запальних явищ, активації пероксидації ліпідів зі виснаженням процесів антиоксидантного захисту не тільки на рівні організму, але і у паренхімі печінки тварин, у яких моделю-

вали хронічний стрес за допомогою ультразвуку в комбінації зі звуком чутного діапазону (табл. 2).

Введення комплексу анксиолітиків Мебікар ІС і Левана ІС щурам 3-ої групи ефективно попереджувало встановлені порушення у тканині печінки, що були індуковані дією звукового стресу тривалий час. Маркер запалення (активність еластази) та пероксидації ліпідів (вміст МДА) достовірно знизилися, а показник антиоксидантного захисту (активність каталази) — збільшився у гомогенатах печінки тварин 3-ої групи ( $p_1 \text{ В } 0,001-0,05$ ). Усі показники відповідали рівню у інтактних щурів ( $p > 0,3-0,8$  табл. 2).

Таким чином, проведене дослідження дозволяє ствердити про активацію перекисного окиснення ліпідів та запалення, а також патологічних явищ у паренхімі печінки під впливом тривалого стресу, викликаного ультразвуком в комбінації зі звуком чутного діапазону, що підтверджують роботи інших авторів [1, 7, 10]. За інформацією виробника Мебікар ІС має виражену антиоксидантну активність завдяки мембраностабілізуючій дії, що підтвердили наші дослідження. Тому завдяки гальмуванню не тільки стресової реакції, гіпертрофії надниркових залоз, вироблення кортизолу, але і також через попередження пероксидації ліпідів в організмі, яка викликана тривалим стресом, Мебікар ІС і Левана ІС додатково надають протизапальну й гепатопротекторну ефективність у лабораторних щурів

Таблиця 2

Показники антиоксидантно-прооксидантного стану і запалення у печінці щурів на тлі тривалого звукового стресу та профілактики

| Групи                | Вміст МДА, ммоль/кг                        | Активність каталази, мкат/кг             | Активність еластази, мкат/кг              |
|----------------------|--------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Інтактна             | 16,80 ± 1,18                               | 6,09 ± 0,32                              | 495,6 ± 37,0                              |
| Стрес                | 30,5 ± 1,24<br>$p < 0,001$                 | 5,27 ± 0,21<br>$p < 0,05$                | 620,5 ± 43,7<br>$p < 0,05$                |
| Стрес + профілактика | 17,26 ± 1,17<br>$p > 0,8$<br>$p_1 < 0,001$ | 6,10 ± 0,24<br>$p > 0,8$<br>$p_1 < 0,02$ | 483,5 ± 50,2<br>$p > 0,3$<br>$p_1 < 0,05$ |

Примітка:  $p$  — достовірність різниці до показників у інтактній групі,  
 $p_1$  — достовірність різниці до показників у групі «стрес»



в умовах тривалої дії ультразвуку змінної частоти у комбінації зі звуком чутного діапазону.

Попередження розвитку запалення та розладів антиоксидантно-проксидантної системи у організмі та у печінці за допомогою комплексу анксиолітиків вказує на нервово-ендокринне походження розвитку цих патологічних станів, індукованих тривалою дією ультразвуку змінної частоти у комбінації зі звуком чутного діапазону. Крім того, отримані результати вказують на те, що анксиолітики здатні не тільки впливати на нервову систему шляхом гальмування почуття неспокою, тривоги, страху та роздратування, але й надавати протизапальну та антиоксидантну дію в умовах тривалого звукового стресу.

Результати цього експериментального дослідження можуть бути корисними для практичної медицини, оскільки дозволять розробити дієві стратегії запобігання порушенням функції не тільки нервової системи, а і печінки у пацієнтів, які зазнають хронічного стресу, і, таким чином, покращити якість їхнього життя.

### Висновки

1. Тривала дія ультразвуку змінної частоти у комбінації зі звуком чутного діапазону викликала гіпертрофію надниркових залоз щурів, а саме підвищення органного індексу надниркових залоз на 88,7 %. Профілактичне введення Мебікара ІС і Левана ІС попереджувало розвиток гіпертрофії надниркових залоз в умовах звукового стресу.
2. Хронічний звуковий стрес сприяв інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів у щурів (зростання вмісту малонового діальдегіду на 57,1 % у крові та на 81,5 % у гомогенатах печінки) на тлі пригнічення антиоксидантного захисту (зниження активності каталази у крові на 31,8 % та у печінці на 13,5 %), а також — розвитку запалення (підвищення активності еластази у крові на 23,2 % та у печінці на 25,2

%) та значному зростанню тимолової проби — 3,7 рази.

3. Профілактичне застосування комплексу препаратів Мебікар ІС і Левана ІС в умовах тривалого звукового стресу запобігало встановленим порушенням у організмі і печінці щурів та надавало протизапальний (зменшення активності еластази і тимолової проби), антиоксидантний (зростання активності каталази та зниження вмісту малонового діальдегіду) ефекти.

### Література

1. Говоруха О. Ю., Шнайдерман О. Ю. Значення взаємодії перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантних систем в розвитку патологічних процесів. *Теоретична і експериментальна медицина*. 2016. № 4 (73). С. 10-14.
2. Діордіца Я. В. Антиоксидантна система печінки щурів за умов гострого гепатиту під час корекції комплексами антиоксидантів. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2019. Вип. 81. С. 12-20.
3. Клінічна лабораторна діагностика: підручник / Л. Є.Лаповець та ін.; за ред. Л. Є.Лаповець. Київ: ВСВ «Медицина», 2019. 472 с.
4. Методи дослідження стану кишечника та кісток у лабораторних щурів. Довідник / О. А. Макаренко та ін. Одеса: Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, 2022. 81 с.
5. Наугольник Л. Б. Психологія стресу: підручник. Львів: Львівський державний університет внутрішніх справ, 2015. 324 с.
6. Овчаренко О. Ю. Психологія стресу та стресових розладів: навч. посіб. Київ: Університет «Україна», 2023. 266 с.
7. Ординський Ю. М. Вплив стресу на процеси перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в серці самців і самиць щурів з різною стійкістю до гіпоксії. *Медицина та клінічна хімія*. 2016. Т. 18, № 3. С. 75-80.
8. Статистичні методи обробки результатів медико-біологічних досліджень: методичні вказівки з дисципліни «Медицина інформатика» / Левченко Т. В., Радзішевська Є. Б. Харків: ХНМУ, 2016. 39 с.
9. Степанов Ю. М., Скирда І. Ю., Петішко О. П. Хвороби органів травлення — актуальна проблема клінічної медицини. *Гастроентерологія*. 2019. Т. 53, № 1. С. 1-6.
10. Фейса С. В. Стан перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту у

- пацієнтів із неалкогольною жировою хворобою печінки та супутнім гіпотиреозом. *Фізіол. журн.* 2019. Т. 65, № 2. С. 89-96.
11. Neutrophil elastase: From mechanisms to therapeutic potential / W. Zeng et al. *J Pharm Anal.* 2023. Vol. 13 (4). P. 355-366.
12. Oxidative stress, a trigger of hepatitis C and B virus-induced liver carcinogenesis / A V. Ivanov et al. *Oncotarget.* 2017. Vol. 8 (3). P. 3895-3932. doi: 10.18632/oncotarget.13904.
- References**
1. Govorukha O. Yu., Shnaiderman O. Yu. The significance of the interaction of lipid peroxidation and antioxidant systems in the development of pathological processes. *Theoretical and Experimental Medicine.* 2016. No. 4 (73). P. 10-14.
2. Diorditsa Ya V. The antioxidant system of the rat liver in conditions of acute hepatitis during correction with antioxidant complexes. *Visnyk of Lviv University. Biological Series.* 2019. Issue. 81. P. 12-20.
3. Clinical laboratory diagnostics: textbook / L. Ye. Lapovets et al.; ed. L. Ye. Lapovets. Kyiv: VSV "Medicine", 2019. 472 p.
4. Methods for studying the condition of the intestine and bones in laboratory rats. Handbook / O. A. Makarenko et al. Odesa: Odessa National University named after I. I. Mechnikov, 2022. 81 p.
5. Naugolnyk L. B. Psychology of stress: a textbook. Lviv: Lviv State University of Internal Affairs, 2015. 324 p.
6. Ovcharenko O. Yu. Psychology of stress and stress disorders: a teaching aid. Kyiv: University "Ukraine", 2023. 266 p.
7. Ordynskyi Y. M. The influence of stress on the processes of lipid peroxidation and the antioxidant system in the heart of male and female rats with different resistance to hypoxia. *Medical and clinical chemistry.* 2016. Vol. 18, No. 3. P. 75-80.
8. Statistical methods for processing the results of medical and biological research: methodological guidelines for the discipline "Medical Informatics" / Levchenko T. V., Radzishavska E. B. Kharkiv: KhNMU, 2016. 39 p.
9. Stepanov Yu. M., Skyrda I. Yu., Petishko O. P. Digestive diseases - a current problem of clinical medicine. *Gastroenterology.* 2019. Vol. 53, No. 1. P. 1-6.
10. Feysa S. V. The state of lipid peroxidation and antioxidant protection in patients with non-alcoholic fatty liver disease and concomitant hypothyroidism. *Physiol. Journal.* 2019. Vol. 65, No. 2. P. 89-96.
11. Neutrophil elastase: From mechanisms to therapeutic potential / W. Zeng et al. *J Pharm Anal.* 2023. Vol. 13 (4). P. 355-366.
12. Oxidative stress, a trigger of hepatitis C and B virus-induced liver carcinogenesis / A V. Ivanov et al. *Oncotarget.* 2017. Vol. 8 (3). P. 3895-3932. doi: 10.18632/oncotarget.13904.

Вперше надійшла до редакції 28.12.2024 р.  
Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування