

Влияние нейропептида окситоцина на органы-маркеры стресса у крыс, подвергнутых длительной стрессорной нагрузке

Е.А. Леонова, Ю.В. Кашина ✉, И.Л. Чередник, Е.И. Панченко, В.В. Котов,
Ю.О. Кашина, А.А. Бахова

Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия

Аннотация. Классические вегетативные проявления стресса заключаются в инволюционных изменениях тимуса, появлении язвенных образований в слизистой оболочке ЖКТ, гипертрофии коркового слоя надпочечников. Ведутся активные исследования для поиска стресс-протективных веществ среди нейропептидов. В фокусе нашего внимания – пептидный нейротрансмиттер – окситоцин. Исследование проведено на 70 крысах самцах породы Вистар. Моделировалась стрессовая нагрузка в течение 24 ч. За 15 мин перед стрессовым воздействием животные получили вещества: группы В – физиологический раствор; группы С – окситоцин. Выполняли лапаротомию с целью извлечения тимуса, надпочечников, селезенки и желудка для определения степени выраженности классических проявлений стресса. В проведенном исследовании продемонстрировано, что интраназальное введение окситоцина оказывает положительное воздействие на все органы-маркеры стресса в различные наблюдаемые периоды. Установлено, что после длительного иммобилизационного стресса были выявлены характерные изменения органов-маркеров стресса у крыс после введения физиологического раствора, при отсутствии менее значительных подобных изменений у крыс после окситоцина.

Ключевые слова: стресс, окситоцин, органы-маркеры стресса, крысы

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

The effect of the neuropeptide oxytocin on stress-related organs in rats subjected to prolonged stress

E.A. Leonova, Yu.V. Kashina ✉, I.L. Cherednik, E.I. Panchenko, V.V. Kotov,
Yu.O. Kashina, A.A. Bakhova

Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

Abstract. The classic vegetative manifestations of stress are involutional changes in the thymus, the appearance of ulcerative formations in the mucous membrane of the gastrointestinal tract, hypertrophy of the adrenal cortex. Active research is underway to find stress-protective substances among neuropeptides. Our focus is on the peptide neurotransmitter oxytocin. The study was conducted on 70 male Wistar rats. The stress load was simulated for 24 hours and 15 minutes before the stress exposure, the animals received substances: group B – saline solution; group C – oxytocin. Laparotomy was performed to extract the thymus, adrenal glands, spleen, and stomach to determine the severity of classical stress symptoms. The study demonstrated that intranasal administration of oxytocin has a positive effect on all stress marker organs during various observed periods. It has been established that after prolonged immobilization stress.

Keywords: stress, oxytocin, stress marker organs, rats

В современном мире проблема психоэмоционального стресса занимает одну из ведущих позиций. Терминология стресса впервые в физиологии была введена Г. Селье (1936 г.) как «общий адаптационный синдром», характеризующийся изменениями в определенных органах-маркерах стресса. Классические вегетативные проявления стресса заключаются в инволюционных изменениях тимуса, появлении язвенных образований в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта, гипертрофии коркового слоя надпочечников [1, 2].

В настоящее время растет интерес к познанию фундаментальных физиологических механизмов стрессоустойчивости, роли различных гормонов в патофизиологии стрессорных реакций. Существуют представления о взаимодействии между эмоциогенными структурами мозга, участвующими в формировании стресса и эндогенными пептидами [3, 4]. Ведутся активные исследования для поиска стресс-протективных веществ, среди нейропептидов для разработки фармакологических препаратов. Известно, что эндогенные пептиды, такие как пролактин, пеп-

тид дельта-сна, субстанция Р повышают устойчивость к эмоциональному стрессу [3]. Дальнейший поиск научно-экспериментальных данных о свойствах и механизме фармакологического действия биологически активных пептидных факторов, способных снизить разрушительное влияние стрессорных воздействий на организм и повысить устойчивость к эмоциональному стрессу, активно продолжается, и является актуальной задачей для физиологии [5].

В фокусе нашего внимания – пептидный нейротрансмиттер – окситоцин. Ряд работ демонстрирует участие данного эндогенного нейропептида в формировании эмоционального и социального взаимодействия, познания и памяти, альтруистической реакции и привязанности, снижении уровня тревожности, угнетения оборонительной реакции [6]. При разработке дизайна исследования возник вопрос о способе введения окситоцина крысам. В последнее десятилетие для избегания эффекта «первого прохождения», то есть прохождения вещества через печеночный барьер, более оперативной доставки его в центральную нервную систему, быстрого наступления желаемого эффекта используют интраназальный способ введения лекарственных средств. Молекулярная масса окситоцина составляет 1007 Да, что не препятствует прохождению данного пептида через эпителиальный барьер слизистой оболочки полости носа. Данный способ является неинвазивным и за счет высокой васкуляризации слизистой носовых путей способствует поступлению введенного вещества в мозговой кровоток, более активному проникновению через гематоэнцефалический барьер и эффективной доставке в головной мозг [7]. Большинство исследований указывают на то, что интраназальный путь введения окситоцина имеет преимущества. Известно, что при внутривенном введении только лишь небольшая часть нейропептида проходит через гематоэнцефалический барьер, а при интраназальном распределение C_{max} в таких структурах, как гиппокамп и миндалинное тело в два раза выше, чем при внутрибрюшинном введении [8].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить изменения в органах-маркерах стресса у крыс после длительной стрессорной нагрузки при интраназальном введении окситоцина.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на 70 крысах самцов породы Вистар четырехмесячного возраста, массой $(230,3 \pm 5,0)$ г. Протокол исследования был утвержден независимым этическим комитетом ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (протокол № 126 от 05.10.2023 г. [3]).

Крысы были разделены с помощью генератора случайным образом на группы, содержащие по 10 особей в

каждой. Контрольной группой с интактными животными являлась группа А. С крысами данной группы проводили процедуру хендлинга, и до лапаротомии они находились в клетках вивария. На крысах в группах В-1, В-2, В-3 и С-1, С-2, С-3 моделировалась стрессовая нагрузка в течение 24 ч (иммобилизации в индивидуальных камерах из полимерного материала размером 16×6 см).

Данная модель демонстрирует яркие изменения в органах-маркерах стресса (истощение липидной зоны во всех слоях надпочечников, снижение массы селезенки, инволюцию тимуса, образование язвенных элементов слизистой оболочки желудка).

За 15 мин перед стрессовым воздействием животные получили интраназально билатерально вещества: группы В – физиологический раствор 20 мкл; группы С – окситоцин (Gedeon Richter, Германия) дозой 0,25 МЕ в объеме 20 мкл. Данная дозировка нейропептида была выбрана с учетом анализа литературных данных по изучаемой тематике [8, 9]. Для интраназальной доставки окситоцина использовали канюлю 22G × 50 mm и шприц Luer Lock 1 ml.

Для выполнения общей анестезии животным после 24 часовой иммобилизации вводили внутримышечно золетил 100 (Virbac, Франция) дозой 15 мг/кг. Следующим этапом выполняли лапаротомию с целью извлечения тимуса, надпочечников, селезенки и желудка для определения степени выраженности классических проявлений стресса. Извлечение органов при лапаротомии у групп В-1, С-1 осуществляли через 3 ч после завершения иммобилизации, у групп В-2, С-2 – через 1 сут., у групп В-3, С-3 – через 8 сут. В одной из экспериментальных групп (В-3) две крысы на 6-е сут. вышли из эксперимента по причине смерти.

Использование для наблюдений разных сроков постстрессорного периода обусловлено проявлением в исследуемых органах характерных изменений в определенные временные промежутки [1].

Тимус, селезенка и надпочечники тщательно отщипывались от жировой и соединительной ткани и взвешивались на весах (серии SK/SK-D/SK-WP) с точностью 0,0001 г. Расчет относительной массы органов производился по формуле: масса органа (г) / масса тела (г) × 100 %. Проводили наблюдения за изменением состояния слизистой оболочки желудка.

Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2019. Статистический анализ результатов исследования проводился с помощью программы IBM SPSS Statistics 27.0, Inc., США.

Количественные показатели описаны с использованием медианы и нижнего и верхнего квартилей. При сравнении двух независимых выборок использовался критерий Манна – Уитни. Результаты считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе полученных данных после иммобилизации животных в течение 24 ч было выявлено пост-стрессорное снижение относительной массы тимуса в экспериментальных группах, получивших интраназально физиологический раствор (группы В) в сравнении с контрольной группой А. В группе В-1 – на 19,4 % ($p < 0,001$), в группе В-2 – на 7,9 %, однако результат не является статистически значимым ($p = 0,265$), в группе В-3 – на 15,9 % ($p < 0,002$). Медианные значения относительной массы тимуса в группе В-1 – 0,068 [0,067; 0,068]; в группе В-3 – 0,08 [0,08; 0,082].

В группах, получивших перед длительной стрессовой нагрузкой интраназально окситоцин, показатели относительной массы тимуса были ниже, чем в интактной группе А: на 7,6 % ($p < 0,001$), 4,1 % ($p = 0,334$) и 7,4 % ($p < 0,001$) соответственно в группах С-1, С-2, С-3. Результат был статистически значимым только для групп С-1 и С-3. Медианные значения относительной массы тимуса в группе С-1 – 0,108 [0,108; 0,068]; в группе С-3 – 0,109 [0,106; 0,112]. В группах, получавших окситоцин, статистически значимых различий с контрольной группой выявлено не было ($p = 0,748$).

Масса селезенки в группах, получавших физиологический раствор, снижалась следующим образом: в группе В-1 – на 19,8 %, однако результат не является статистически значимым ($p = 0,075$), В-2 – на 20,3 % ($p < 0,001$) и В-3 – на 21,9 % ($p < 0,001$). Медианные значения относительной массы селезенки в группе В-2 – 0,153 [0,152; 0,153]; в группе В-3 – 0,15 [0,148; 0,151]. В группах, получавших окситоцин, статистически значимых различий с контрольной группой выявлено не было ($p = 0,748$).

Относительная масса надпочечников у крыс в группах В-1, В-2 и С-1, С-2 статистически значимо не отличалась от контрольной группы А, но в группе В-3 анализируемый показатель увеличился на 21,4 % ($p = 0,011$). В группе С-3 масса надпочечников увеличилась всего на 10,7 % ($p = 0,012$) в сравнении с группой А. Медианные значения относительной массы надпочечников в группе В-3 – 0,034 [0,033; 0,034]; в группе С-3 – 0,031 [0,03; 0,031].

В слизистой оболочке желудка в контрольной группе А патологических изменений обнаружено не было, так же, как и в группах С-1, С-2, С-3, получавших окситоцин. Однако в группах, получавших физиологический раствор, такие изменения наблюдались: для группы В-2 у 70 % особей были выявлены единичные мелкие кровоизлияния и гиперемия, а в группе В-3 наблюдались изъязвления уже у всех особей, причем у 87,5 % были крупные кровоизлияния и изъязвления.

Также стоит отметить, что значения относительной массы тимуса и селезенки в группах В-1, В-2 и В-3

статистически значимо ниже показателей, полученных в группах С-1, С-2 и С-3 ($p < 0,001$). Для относительной массы надпочечников статистически значимых различий в группах В-1 и С-1 ($p = 0,971$), В-2 и С-2 ($p = 0,19$) выявлено не было, тогда как для группы В-3 этот показатель был статистически значимо выше, чем в группе С-3 ($p < 0,001$).

В контрольной группе А, в группах В-1 и В-2 гибели крыс за весь исследуемый период не наблюдалось, как и у всех животных, получивших окситоцин перед длительной стрессовой нагрузкой (группы С-1, С-2, С-3). В группе В-3 погибло 20 % животных.

Модель длительного однократного иммобилизационного стресса у крыс характеризуется инволюцией тимуса и снижением массы селезенки во все исследуемые периоды (через 3 ч, через 1 и 8 сут.). При обсуждении полученных результатов следует отметить, что иммунная система осуществляет контроль над гомеостазом организма, являясь одной из важнейших регуляторных систем. Тимус и селезенка чувствительны к стрессорным воздействиям. Также к органам-маркерам стресса относят надпочечники и желудок. Надпочечники входят в состав гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы, осуществляющей ключевую роль в процессах адаптации. Увеличение массы надпочечников характерно для отдаленного периода после 24-часовой стрессорной нагрузки (8-е сут.). Нарушение целостности слизистой оболочки желудка наблюдалось через сутки и в большей мере через 8 суток после эксперимента. Представленные результаты соответствуют аналогичным исследованиям других авторов [1, 2].

Антистрессовые эффекты как эндогенного, так и экзогенного окситоцина подтверждены рядом исследователей и активно продолжают изучаться [6, 7]. В проведенном исследовании продемонстрировано, что интраназальное введение окситоцина оказывает положительное воздействие на все органы-маркеры стресса в различные наблюдаемые периоды.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что после длительного иммобилизационного стресса были выявлены характерные изменения органов-маркеров стресса у крыс после введения физиологического раствора, при отсутствии менее значительных подобных изменений у крыс после окситоцина.

Таким образом, группы крыс, получившие данный нейропептид, имели менее выраженную гипертрофию надпочечников в отдаленный период, меньшее снижение массы тимуса и нарушения слизистой оболочки желудка, отсутствие изменений в массе селезенки. Все эти факты позволяют отметить стресс-протективное действие окситоцина, связанное с контролем эндокринной составляющей стрессорной реакции, блокирующим действие гиперактивности

симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой стресс-реализующих систем организма, что согласуется с информацией об обнаружении рецепторов к окситоцину в мозговых областях, контролирующих стресс [7].

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Алексеева И.В., Абрамова А.Ю., Козлов А.Ю., Коплик Е.В., Перцов А.С., Лядов Д.А. и др. Состояние органов-маркеров стресса у крыс после однократной длительной стрессорной нагрузки в условиях введения липополисахарида. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2019;5(167):561–565.
2. Корнева Е.А., Шанин С.Н., Новикова Н.С., Пугач В.А. Клеточно-молекулярные основы изменения нейроиммунного взаимодействия при стрессе. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2017;3(103):217–229.
3. Кашина Ю.В., Леонова Е.А., Чередник И.Л., Бахова А.А., Юматов Е.А., Шаханова А.В. Корректировка поведения «крыс-садистов» с помощью эндогенного пептида – окситоцина. *Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия*. 2024;2(10):62–77. doi: 10.29039/2413-1725-2024-10-2-62-77.
4. Ясенявская А.Л., Самотруева М.А., Цибизова А.А., Мясоедов Н.Ф., Андреева Л.А. Влияние нейропептидов на психоэмоциональное состояние в условиях «социального» стресса. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2020;3:37–44. doi: 10.21626/vestnik/2020/3/05.
5. Каде А.Х., Ахеджак-Нагузе С.К., Дуров В.В., Кашина Ю.В., Таценко Е.Г., Пенжоян А.Г. и др. Влияние транскраниальной электростимуляции на результаты трактографии фронтальной коры студентов при психоэмоциональном стрессе. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина*. 2020;1(24):75–84. doi: 10.22363/2313-0245-2020-24-1-75-84.
6. Тюзиков И.А., Греков Е.А., Смирнов А.В. Окситоцин – незаслуженно забытый гормон у мужчин? *Андрология и генитальная хирургия*. 2023;2(24):67–76. doi: 10.17650/2070-9781-2023-24-2-66-76.
7. Циркин В.И., Трухина С.И., Трухин А.Н. Окситоцин: синтез, выделение, метаболизм и регуляция этих процессов (обзор). *Журнал медико-биологических исследований*. 2018;6(3):270–283. doi: 10.17238/issn2542-1298.2018.6.3.270.
8. Кательникова А.Е., Крышень К.Л., Зуева А.А., Макарова М.Н. Интраназальное введение лекарственных средств лабораторным животным. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2019;2:9. doi: 10.29296/2618723X-2019-02-09.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Информация об авторах

Елена Алексеевна Леонова – старший лаборант кафедры нормальной физиологии, Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия; alenaakiyashko@mail.ru

Юлия Викторовна Кашина – доктор биологических наук, доцент кафедры нормальной физиологии, Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия; yulia-kashina@yandex.ru

Ирина Леонидовна Чередник – доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной физиологии, Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия; ilch2009@rambler.ru

REFERENCES

1. Alekseeva I.V., Abramova A.Y., Kozlov A.Y., Koplik E.V., Lyadov D.A. et al. State of stress-marker organs in rats after a single exposure to long-term stress and treatment with lipopolysaccharide. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019;5(167):561–565. (In Russ.).
2. Korneva E.A., Shanin S.N., Novikova N.S., Pugach V.A. Cell-molecular basis of neuroimmune interactions during stress. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova = Russian Journal of Physiology*. 2017;3(103):217–229. (In Russ.).
3. Kashina Yu.V., Leonova E.A., Cherednik I.L., Bakhova A.A., Yumatov E.A., Shakhanova A.V. Adjustment of behavior of “sadistic” rats using endogenous peptide – oxytocin. *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo. Biologiya. Khimiya = Scientific notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*. 2024;2(10):62–77. (In Russ.) doi: 10.29039/2413-1725-2024-10-2-62-77.
4. Ysenyavskaya A.L., Samotruueva M.A., Tsbizova A.A., Myasoedov N.F., Andreeva L.A. Influence of neuropeptides on psychoemotional state under conditions of “social” stress. *Kurskii nauchno-prakticheskii vestnik “Chelovek i ego zdorov'e” = Kursk Scientific and Practical Bulletin “Man and His Health”*. 2020;3:37–44. (In Russ.) doi: 10.21626/vestnik/2020/3/05.
5. Kade A.H., Ahejak-Naguze C.K., Durov V.V., Kashina YU.V., Tacenko E.G., Penzhoyan A.G. et al. The effect of transcranial electrostimulation on the frontal crust of students during a psychoemotional stress. *Vestnik Rossiiskogo universiteta druzhby narodov. Seriya: Meditsina = Rudn Journal of Medicine*. 2020;1(24):75–84. (In Russ.) doi: 10.22363/2313-0245-2020-24-1-75-84.
6. Tyuzikov I.A., Grekov E.A., Smimov A.V. Is oxytocin an undeservedly forgotten hormone in men? *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery*. 2023;2(24):67–76. (In Russ.) doi: 10.17650/2070-9781-2023-24-2-66-76.
7. Tsirkin V.I., Trukhina S.I., Trukhin A.N. Oxytocin: synthesis, release, metabolism and the regulation of these processes (review). *Zhurnal mediko-biologicheskikh issledovaniy = Journal of Medical and Biological Research*. 2018;6(3):270–283. (In Russ.) doi: 10.17238/issn2542-1298.2018.6.3.270.
8. Katelnikova A.E., Kryshen K.L., Zueva A.A., Makarova M.N. Intranasal introduction to laboratory animals. *Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy = Laboratory Animals for Science*. 2019;2:9. (In Russ.) doi: 10.29296/2618723X-2019-02-09.

Елена Ивановна Панченко – преподаватель кафедры нормальной физиологии, Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия; elena.pan.ppp@yandex.ru

Вадим Вячеславович Котов – студент, Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия; valim.kotov@bk.ru

Юлия Олеговна Кашина – студентка, Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия; yikled@yandex.ru

Альбина Аскарбиевна Бахова – ассистент кафедры нормальной физиологии, Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, Россия; bakhova.albina@mail.ru

Статья поступила в редакцию 10.01.2025; одобрена после рецензирования 24.03.2025; принята к публикации 19.05.2025.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Information about the authors

Elena A. Leonova – Senior Laboratory Assistant at the Department of Normal Physiology, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia; alenaakiyashko@mail.ru

Yulia V. Kashina – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Normal Physiology, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia; yulia-kashina@yandex.ru

Irina L. Cherednik – MD, Professor of the Department of Normal Physiology, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia; ilch2009@rambler.ru

Elena I. Panchenko – Lecturer at the Department of Normal Physiology, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia; elena.pan.ppp@yandex.ru

Vadim V. Kotov – student, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia; valim.kotov@bk.ru

Yulia O. Kashina – student, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia; yikled@yandex.ru

Albina A. Bakhova – Assistant Professor of the Department of Normal Physiology, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia; bakhova.albina@mail.ru

The article was submitted 10.01.2025; approved after reviewing 24.03.2025; accepted for publication 19.05.2025.