

УДК [57.084.1+616-08-039.71]:616.314-002-08
DOI <https://doi.org/10.35220/2523-420X/2025.1.16>

С. В. Шпак,

кандидат медичних наук, доцент,
Одеський національний медичний університет,
Валіховський провулок, 2, м. Одеса, Україна,
індекс 65082

ОСОБЛИВОСТІ АНТИОКСИДАНТНО-ПРООКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА МАРКЕРА ЗАПАЛЕННЯ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ НА ТЛІ МОДЕЛЮВАННЯ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ ТА ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАХОДІВ

Хронічний психоемоційний стрес супроводжується дисбалансом між антиоксидантними та прооксидантними процесами, що зумовлює ушкодження клітинних структур і підтримує системне запалення. Оптимізація схем фармакокорекції таких порушень є важливим напрямом сучасної експериментальної та клінічної медицини. **Метою дослідження** було оцінити вплив лікувального комплексу препаратів на показники антиоксидантно-прооксидантної системи та маркера запалення в сироватці крові щурів на тлі моделювання хронічного стресу. **Матеріали та методи.** У дослідженні використано 34 щура-самця лінії Wistar (2-місячного віку, маса тіла 140 ± 8 г), яких розподілили на три групи: інтактну ($n = 10$), зі змодельованим хронічним звуковим стресом ($n = 12$) та зі змодельованим стресом із подальшим застосуванням ЛПК ($n = 12$). Упродовж 50 діб тваринам 2-ї та 3-ї груп моделювали хронічний звуковий стрес за допомогою ультразвукового відлякувача шкідників. У групі «стрес + ЛПК» тварини додатково отримували лікувальний комплекс препаратів. По завершенню досліджу біохімічні показники сироватки крові. Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою програми STATISTICA 6.1 з використанням t-критерію Стьюдента ($p < 0,01$ вважали достовірним). **Результати дослідження.** У щурів зі стресом активність еластази та рівень МДА зросли відповідно на 26,3 % і 64,2 %, активність каталази знизилась на 23,1 %, а АПІ впав у 4,4 рази відносно інтактних тварин. ЛПК зменшував активність еластази на 14,8 %, концентрацію МДА – на 41,3 % і підвищував активність каталази на 20,0 % ($p_1 < 0,01$), нормалізуючи АПІ до значень інтактної групи. **Висновки.** Хронічний звуковий стрес індукує виражений оксидативний дисбаланс і запалення у щурів. Застосування запропонованого ЛПК демонструє антиоксидантну та протизапальну ефективність, відновлюючи функціональну рівновагу системи «антиоксидантний захист – перекисне окиснення ліпідів».

Ключові слова: стрес, каріозний процес, сироватка крові, щури, експеримент.

S. V. Shpak,

Candidate of Medical Sciences, Associate Professor,
Odesa National Medical University,
2 Valikhovsky lane, Odesa, Ukraine, postal code 65082

FEATURES OF THE ANTIOXIDANT-PROOXIDANT SYSTEM AND INFLAMMATORY MARKER IN THE BLOOD SERUM OF RATS AGAINST THE BACKGROUND OF CHRONIC STRESS MODELLING AND TREATMENT AND PREVENTION MEASURES

Chronic psycho-emotional stress provokes a persistent imbalance between antioxidant and pro-oxidant processes, leading to cellular damage and systemic inflammation. Optimising pharmacological correction of these disturbances remains a pressing issue in experimental and clinical medicine. **Aim of the study.** To evaluate the effect of a therapeutic complex of drugs on the parameters of the antioxidant-prooxidant system and inflammatory markers in the blood serum of rats under chronic stress modeling. **Materials and methods.** The study included 34 male Wistar rats (2 months old, body weight 140 ± 8 g), which were divided into three groups: an intact group ($n = 10$), a group with induced chronic sound stress ($n = 12$), and a group with induced stress followed by administration of a therapeutic-prophylactic complex (TPC) ($n = 12$). Over 50 days, the rats in the second and third groups were exposed to chronic sound stress using an ultrasonic pest repellent. In the “stress + TPC” group, the rats additionally received the therapeutic-prophylactic complex. Upon completion of the experiment, biochemical parameters of blood serum, were determined. Statistical processing was performed using STATISTICA 6.1 with Student's t-test ($p < 0.01$ was considered significant). **Results.** Stress increased elastase activity and MDA by 26.3 % and 64.2 % respectively, reduced catalase activity by 23.1 % and decreased API 4.4-fold versus intact animals. TPC administration lowered elastase activity by 14.8 %, reduced MDA by 41.3 %, increased catalase activity by 20.0 % and restored API to near-control values. **Conclusions.** Chronic acoustic stress induces pronounced oxidative imbalance and inflammation in rats. The tested TPC exhibits significant antioxidant and anti-inflammatory efficacy, restoring the functional equilibrium of the antioxidant-lipid peroxidation system under stress conditions.

Key words: stress, carious process, blood serum, rats, experiment.

Стресові реакції організму – поширений тригер дисфункції системного гомеостазу. Хронічне психоемоційне навантаження активує гіпоталамо-гіпофізарно-надниркову вісь та посилює утворення реактивних форм кисню, що реалізу-

ється у вигляді перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і виснаження антиоксидантного захисту [1]. Накопичення продуктів ПОЛ, зокрема маломолекулярного діальдегіду, сприяє ушкодженню біомембран, інактивації ферментних систем та запуску каскаду прозапальних цитокінів [2]. Поряд із прооксидантним зсувом, стрес-індукована активація нейтрофільної еластази поглиблює тканинні ушкодження, підтримуючи циркуляторне запалення та дисфункцію судинного ендотелію [3].

Сучасні дослідження приділяють значну увагу фармакологічним стратегіям, здатним коригувати оксидативно-запальні зміни при стресі. Однак дані щодо ефективності комплексних препаратів, які одночасно відновлюють антиоксидантний потенціал та модулюють запальну відповідь, залишаються обмеженими [4]. Крім того, більшість публікацій спрямована на вивчення окремих антиоксидантів або гормональної терапії, тоді як багатокомпонентні композиції, що поєднують антиоксиданти, мембраностабілізатори та протизапальні агенти, досліджені недостатньо.

Таким чином, з'ясування особливостей антиоксидантно-прооксидантної системи та запального маркера еластази на тлі хронічного звукового стресу, а також визначення коригувального потенціалу лікувально-профілактичного комплексу препаратів, є актуальним завданням експериментальної медицини.

Мета даного дослідження. Оцінка впливу лікувального комплексу препаратів на показники антиоксидантно-прооксидантної системи та маркера запалення в сироватці крові щурів на тлі моделювання хронічного стресу.

Матеріал та методи дослідження. Були проведені експериментальні дослідження, в процесі яких було використано 34 щурах-самцях лінії Wistar стадного розведення, 2-місячного віку із середньою масою тіла 140 ± 8 г. Тварин утримували у звичайних умовах віварію при природному освітленні та з вільним доступом до води та їжі. На протязі всього періоду проведення експерименту були дотримані чітко мікрокліматичні умови навколишнього середовища віварію: температура – (19–23 °C) та вологість – (50–75 %). Експериментальні дослідження проводили в лабораторії біохімії та віварію ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицьової хірургії Національної академії медичних наук України» (ДУ «ІСЦЛХ НАМН»). Усі експерименти на щурах проводилися за затвердженими в ДУ «ІСЦЛХ НАМН» стандартними операційними процедурами, розробленими відповідно до Методичних вказівок Фармакологічного Комітету МОЗ

України та Міжнародних правил роботи з лабораторними тваринами [5, 6].

Тварин розподілили на 3 групи наступним чином:

1 – інтактна (стандартний раціон віварію), $n = 10$;

2 – модель хронічного звукового стресу, $n = 12$;

3 – модель хронічного звукового стресу + комплекс препаратів, $n = 12$.

Стрес моделювали за допомогою ультразвукового відлякувача шкідників LS-912 (виробник «Leaven Enterprise», Тайвань), що діє у чутному та ультразвуковому діапазонах та має частоту від 30 до 65 кГц. Звуковий тиск 130 дБ, потужність 1,5 Вт на площі до 232 м².

Моделювання звукового стресу ультразвуком у щурів 2 та 3 групи здійснювали протягом 5 діб, по 6 годин на день за наступною схемою: на протязі 2-х днів – застосовували ультразвук із частотою 30 кГц, наступні 2 дні – по 40 кГц, наступні 2 дні – по 50 кГц, наступні 2 дні – по 60 кГц. Далі схему повторювали за допомогою ультра звуку. До ультра звуку кожного дня додавали чутний звук по 1 годині за допомогою фіксації кнопки контролю звуку на відлякувачі. На одному рівні з клітками тварин встановлювали відлякувач на відстані 3 м від них.

Тривалість експерименту склала 50 днів. Дослідних тварин виводили із експерименту етаназією під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг) шляхом кровопускання з серця. У сироватці крові дослідних щурів визначали рівень маркерів запалення – рівень МДА (кінцевий продукт ПОЛ) по реакції із тіобарбітуровою кислотою, активність антиоксидантного ферменту – каталази за допомогою молібдату амонію, активність еластази по гідролізу Nt-BOC-L-alanin-p-nitrophenyl ester за методом Visser [7].

При статистичній обробці отриманих результатів використовувалася комп'ютерна програма STATISTICA 6.1. для оцінки їхньої достовірності та похибок вимірювань. Статистично значущу відмінність між альтернативними кількісними ознаками з розподілом, відповідним нормальному закону, оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Різницю вважали статистично значущою при $p < 0,01$ [8].

Результати та їх обговорення. Багато досліджень підтверджують, що хронічний стрес супроводжується інтенсифікацією вільнорадикального окиснення, утворенням активних форм кисню і активацією антиоксидантної системи. Одним із основних факторів регуляції метаболізму при

стресорному пошкодженні тканин є співвідношення антиоксидантних та прооксидантних механізмів, і обумовлює здатність антиоксидантної системи захистити клітину від вільнорадикального окиснення. Відомо, що активація вільнорадикального окиснення, є основним механізмом у розвитку патологічних змін у тканинах під впливом стресорів на організм. Накопичення продуктів вільнорадикального окиснення призводить до порушення активності мембрано-зв'язаних ферментів, ушкодження біомембран, структуру і функції мітохондрій, а також інші органели.

У таблиці 1 наведені показники маркерів запалення в сироватці крові дослідних щурів за умов хронічного звукового стресу та під впливом ЛПК препаратів – МДА (кінцевий продукт перекисного окиснення ліпідів) та активність еластази (маркер запалення), а також показник першої ланки антиоксидантної системи – активність каталази і розрахунковий індекс АПІ.

У щурів 2-ої групи на тлі тривалого стресу у сироватці крові дослідних щурів вміст МДА достовірно підвищився на 64,2 % ($p < 0,001$), активність еластази на 26,3 % ($p < 0,02$), та знизилась активність каталази на 23,07 % ($p < 0,02$), відносно показників інтактної групи. Водночас, реєстрували значні порушення в системі «антиоксидантний захист – перекисні процеси» про що свідчить індекс АПІ, який був вірогідно нижчим за показники інтактної групи у 4,4 рази ($p < 0,001$). Отже, суттєве збільшення маркерів запалення (вміст МДА та активності еластази) за умов тривалого звукового стресу свідчить про наявність запальних процесів в організмі щурів з одночасним зниженням антиоксидантного захисту.

Регулярне, довготривале застосування лікувально-профілактичного комплексу препаратів на тлі хронічного стресу у щурів 3-ої групи в сироватці

крові приводить до зниження активності еластази на 14,8 % ($p_1 > 0,1$), відносно показників 2-ої групи, що сприяє зменшенню запалення та володіє вираженою протизапальною дією.

Введення шурам 3-ої групи композиції препаратів на тлі хронічного звукового стресу запобігало спалаху ПОЛ, оскільки вміст МДА у сироватці крові значно знизився на 41,3 % ($p_1 < 0,001$) у порівнянні із показниками 2-ої групи, та сягав показників інтактної групи ($p > 0,4$).

Також, у сироватці крові дослідних тварин за умов хронічного стресу та застосування ЛПК препаратів вивчали стан антиоксидантної системи, результати дослідження наведені у таблиці 1. Наведені в таблиці 1 дані свідчать, що активність показника першої ланки антиоксидантної системи – активності каталази у 3-ій групі щурів під дією препаратів сприяє вірогідному збільшенню на 20,0 % ($p_1 < 0,01$), у порівнянні із показниками 2-ої групи (хронічний стрес). Водночас, відбуваються зміни антиоксидантно-прооксидантного індексу в сироватці крові щурів 3-ої групи. На тлі застосування комплексу препаратів індекс АПІ значно підвищився у 2,0 рази ($p_1 < 0,001$), що свідчить про коригувальну властивість застосованого комплексу препаратів на показники антиоксидантного захисту та перекисного окислення ліпідів на тлі хронічного стресу.

Висновки

1. Хронічний звуковий стрес у щурів спричиняє достовірний дисбаланс системи «антиоксидантний захист – прооксидантні процеси»: підвищення рівня МДА на 64,2 % і активності еластази на 26,3 % супроводжується зниженням активності каталази на 23,1 % та чотириразовим падінням АПІ відносно інтактних тварин.

2. Застосування лікувально-профілактичного комплексу на тлі стресу нормалізує прооксидантні

Таблиця 1

Показники антиоксидантно-прооксидантної системи та маркера запалення в сироватці крові щурів при хронічному стресі та під впливом лікувального-профілактичного комплексу препаратів, $M \pm m$

Показники Групи щурів	Активність еластази, мккат/л	Активність каталази, мккат/л	Вміст МДА ммоль/л	Індекс АПІ
Інтактна група, $n = 10$	153,69 ± 10,68	0,26 ± 0,02	0,28 ± 0,02	9,2 ± 0,2
Хронічний стрес, $n = 12$	194,25 ± 14,32 $p < 0,02$	0,20 ± 0,01 $p < 0,02$	0,46 ± 0,03 $p < 0,001$	4,3 ± 0,1 $p < 0,001$
Хронічний стрес + ЛПК, $n = 12$	165,46 ± 12,35 $p > 0,5$ $p_1 > 0,1$	0,24 ± 0,01 $p > 0,4$ $p_1 < 0,01$	0,27 ± 0,02 $p > 0,4$ $p_1 < 0,001$	8,8 ± 0,2 $p > 0,2$ $p_1 < 0,001$

Примітка: p – достовірність відмінностей від показників в інтактній групі; p_1 – достовірність відмінностей від показників у групі «Хронічний стрес».

показники (зниження МДА на 41,3 %; $p_1 < 0,001$) і відновлює антиоксидантний потенціал (підвищення каталази на 20,0 %; $p_1 < 0,01$), що приводить до подвоєння АПІ та зменшення активності еластази на 14,8 %.

3. Отримані результати підтверджують виражену антиоксидантну та протизапальну ефективність досліджуваного комплексу препаратів і обґрунтовують доцільність його подальшого вивчення як перспективного засобу корекції стрес-індукованих оксидативно-запальних порушень.

Література:

1. Koplík E. V., Vlasova M. A., Moshkovsky S. A., Archakov A. I., Sudakov K. V. Mass spectrometric profile of the serum as a marker of experimental psychoemotional stress in rats. *Bull Exp Biol Med.* 2008. № 145(5). P. 552–5. doi: 10.1007/s10517-008-0148-9
2. Jamel M. J., Pereira Lde P., Mello N. B., Eleuthério E. C., Schanaider A. Blood carbonyl protein measurement as a specific oxidative stress biomarker after intestinal reperfusion in rats. *Acta Cir Bras.* 2010. № 25(1). P. 59–62. doi: 10.1590/s0102-86502010000100014
3. Gokul M., Arun Kumar N., Durgadas Kini R., Blossom V., Kodavanji B., Noojibail A., Murali N., Vishwanath Rai S.P. Evaluation of biomarkers of stress in chronic stress-exposed comorbid depression model Wistar rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2019. № 30(5). doi: 10.1515/jbcpp-2018-0215
4. Pal R., Gulati K., Banerjee B., Ray A. Pharmacological and biochemical studies on the role of free radicals during stress-induced immunomodulation in rats. *Int Immunopharmacol.* 2011. № 11(11). P. 1680–4. doi: 10.1016/j.intimp.2011.05.026
5. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasburg. Council of Europe, 1986. № 123. 51 p.
6. Наказ України «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» // Міністерство освіти і науки України. 2012. № 249.
7. Методи дослідження стану кишечника та кісток у лабораторних щурів. Довідник / О. А. Макаренко та ін. Одеса : видавець С. Л. Назарчук, 2022. 81 с.
8. Рогач І. М., Керетсман А. О., Сіткар А. Д. Правильно вибраний метод статистичного аналізу – шлях до якісної інтерпретації даних медичних досліджень. *Науковий вісник Ужгородського університету.* 2017. Вип. 2. С. 124–28.

References:

1. Koplík, E. V., Vlasova, M. A., Moshkovsky, S. A., Archakov, A. I., & Sudakov, K. V. (2008). Mass spectrometric profile of the serum as a marker of experimental psychoemotional stress in rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 145(5), 552–555. doi: 10.1007/s10517-008-0148-9
2. Jamel, M. J., Pereira, L. de P., Mello, N. B., Eleuthério, E. C., & Schanaider, A. (2010). Blood carbonyl protein measurement as a specific oxidative stress biomarker after intestinal reperfusion in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 25(1), 59–62. doi: 10.1590/S0102-86502010000100014
3. Gokul, M., Arun Kumar, N., Durgadas Kini, R., Blossom, V., Kodavanji, B., Noojibail, A., Murali, N., & Vishwanath Rai, S. P. (2019). Evaluation of biomarkers of stress in chronic stress-exposed comorbid depression model Wistar rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 30(5). doi: 10.1515/jbcpp-2018-0215
4. Pal, R., Gulati, K., Banerjee, B., & Ray, A. (2011). Pharmacological and biochemical studies on the role of free radicals during stress-induced immunomodulation in rats. *International Immunopharmacology*, 11(11), 1680–1684. doi: 10.1016/j.intimp.2011.05.026
5. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (1986). Strasburg. Council of Europe. Retrieved from <https://rm.coe.int/168007a67b>.
6. Nakaz Ukrainy "Pro zatverdzhennya Poryadku provedennya naukovymy ustanovamy doslidiv, eksperimentiv na tvarynakh" [Order of Ukraine "On Approval of the Procedure for Conducting Experiments and Experiments on Animals by Scientific Institutions"]. *Ministerstvo osvity i nauky Ukrainy – Ministry of Education and Science of Ukraine. zakon.rada.gov.ua*. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12#Text> [in Ukrainian].
7. Makarenko O. A., Khromahina L. M., Khodakov I. V., Maikova H. V., Mudryk L. M., Kika V. V., & Mohilevska T. V. (2022). *Metody doslidzhennia stanu kyshchnyku ta kistok u laboratornykh shchuriv. Dovidnyk [Methods for studying the state of the intestine and bones in laboratory rats. Handbook]*. Odesa : vydavets S.L. Nazarchuk.
8. Rohach, I. M., Keretsman, A. O., & Sitkar, A. D. (2017). Pravylny vybranyy metod statystychnoho analizu – shlyakh do yakisnoyi interpretatsiyi danykh medychnykh doslidzen [Correct choice of statistical analysis method is the key way to high-quality interpretation of data of medical research]. *Naukovyy visnyk Uzhhorodskoho universytetu – Scientific Bulletin of Uzhgorod University*, 2(56), 124–28 [in Ukrainian].