

Маслов Л.Н.¹, Цибульников С.Ю.^{1,2}, Нарыжная Н.В.¹, Иванов В.В.¹, Цибульникова М.Р.²

Хроническое воздействие холода — адаптация без стресса

¹ — ФГБУ «Научно-исследовательский институт кардиологии», 634012, г.Томск, Россия

² — «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», г.Томск, Россия

Установлено, что длительное непрерывное холодное воздействие (+4°C, 24 ч/сут., 4 нед.) вызывает у крыс увеличение массы бурого жира, гипертрофию надпочечников, селезенки и не влияет на уровни кортизола и кортикостерона в сыворотке крови. Язв желудка у этих крыс не наблюдалось. Хроническое прерывистое воздействие холода (+4°C, 8 ч/сут., 4 нед.) способствует увеличению массы тела, бурого жира, селезенки, почек и сердца, язв желудка не наблюдалось, уровни кортизола и кортикостерона не изменялись. Кратковременное периодическое воздействие холода (+4°C, 1,5 ч/сут., 4 нед.) не влияло на массу бурого жира, но способствовало увеличению массы тела, селезенки, почек и сердца, язв желудка не обнаружено, уровни кортизола и кортикостерона не изменялись.

Ключевые слова: холод; стресс; адаптация

Для цитирования: Маслов Л.Н., Цибульников С.Ю., Нарыжная Н.В., Иванов В.В., Цибульникова М.Р. Хроническое воздействие холода — адаптация без стресса. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2016; 60(1): 28—31.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда грант 14-15-00008.

Maslov L.N.^{1,2}, Tsibulnikov S.Yu.^{1,2}, Naryzhnaia N.V.^{1,2}, Tsibulnikova M.R.²

Chronic exposure to cold is adaptation without stress

¹ — Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute for Cardiology, Tomsk, Russia

² — National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia

It has been established that prolonged continuous cold exposure (+4°C for 24 hours/day, four weeks) causes an increase in brown fat weight, hypertrophy of the adrenal gland, spleen and did not affect cortisol and corticosterone levels in the blood serum in rats. Gastric ulcers were not observed in the rats. Chronic intermittent exposure to cold (+4°C, 8 hours/day, 4 weeks) promoted an increase in the weight of brown fat, spleen, kidneys and heart, stomach ulcers and an alteration of cortisol and corticosterone levels were did observed. Short-term intermittent exposure to cold (+4°C, 1.5 hours/day, 4 weeks) did not affect the weight of brown fat, but promoted an increases in the weight of body, spleen, kidneys and heart, stomach ulcers were not found, cortisol and corticosterone levels was not changed.

Keywords: cold; stress; adaptation

For citation: Maslov L.N.^{1,2}, Tsibulnikov S.Yu.^{1,2}, Naryzhnaia N.V.^{1,2}, Tsibulnikova M.R.² Chronic exposure to cold is adaptation without stress. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya*. 2016; 60(1): 28—31. (in Russian)

For correspondence: Maslov N. Leonid, Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Laboratory of Experimental Cardiology, Institute of Cardiology, 634012 Tomsk, e-mail: maslov@cardio-tomsk.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study was supported by Grant of the Russian Science Foundation

По мнению Г. Селье, стресс является общей неспецифической адаптационной реакцией организма на чрезвычайные по силе раздражители [1]. Вместе с тем, в своих поздних работах он различал эустресс (нормальная адаптивная реакция на экстремальный фактор) и дистресс (патологическая адаптивная реакция на чрезмерный по силе раздражитель) [2, 3]. По мнению Г. Селье [2, 3], дистресс приводит к повреждению органов и тканей и может участвовать в патогенезе некоторых заболеваний, прежде всего заболе-

ваний сердечно-сосудистой системы и язвенной болезни желудка. В эксперименте дистресс можно легко зафиксировать по появлению язв в желудке у подопытных животных

В литературе отсутствуют данные о том, что адаптация к холоду вызывает формирование язв желудка. Однако имеются сведения о том, что хроническое воздействие холода может вызывать типичные для стресса гипертрофию надпочечников [4] и инволюцию тимуса [5]. Вместе с тем, есть данные о том, что хроническое воз-

Для корреспонденции: Маслов Леонид Николаевич, доктор мед. наук, проф., зав. лаб. экспериментальной кардиологии, НИИ кардиологии, e-mail: maslov@cardio-tomsk.ru

действие холода не влияет на величину надпочечников [6]. Вполне вероятно, что в зависимости от характера воздействия, вызывающего адаптивную реакцию на хроническую холодную экспозицию может формироваться хронический эустресс или могут наблюдаться только адаптивные изменения без триады Селье.

Цель исследования — изучение хронического холодного воздействия на показатели стресс-реакции у крыс.

Методика

Моделирование адаптации к холоду. Исследование выполнено на крысах-самцах Вистар массой 200—220 г. Крыс помещали в холодильную камеру при +4°C по 2 в клетке. Использовали три протокола исследований. В 1-м — животные постоянно находились в холодильной камере при +4°C в течение 4 нед. [7]. При использовании 2-го протокола животных подвергали воздействию температуры +4°C по 8 ч ежедневно в течение 4 нед. [8]. Согласно третьему протоколу, крысы находились в холодильной камере при +4°C по 1,5 ч ежедневно в течение 28 сут. [9]. Интенсивность стресс-реакции оценивали количественно по изменению массы тимуса, надпочечников и селезенки, а также по числу язв на слизистой желудка и уровню кортизола в сыворотке кро-

ви животных, для чего использовали шкалу В.И. Добрякова (табл. 1) в нашей модификации [10]. Для оценки адаптации к холоду определяли массу межлопаточного бурого жира [11].

Непосредственно после декапитации под эфирным наркозом забирали кровь, которую центрифугировали в течение 15 мин со скоростью 3000 об/мин. Полученную сыворотку крови замораживали в морозильной камере (при -18С) и хранили до 2 нед. Измерение уровня кортизола проводили радиоиммунным методом с помощью набора «Cortisol RIA KIT» IM1841 (Beckman Coulter, Immunotech, Прага, Чехия). Радиоактивность проб определяли с помощью многоканального радиометра РИГ-12 «Прогресс-РИА» (Россия, Санкт-Петербург). Определение уровня кортикостерона проводили с помощью иммуоферментного набора «Corticosterone (Human, Rat, Mouse) ELISA» RE52211 (IBL International GmbH, Hamburg, Germany) с использованием микропланшетного считывателя Infinite 200 PRO (Tecan Austria GmbH, Salzburg, Austria).

Статистическую обработку данных проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна—Уитни. Результаты выражали как среднее арифметическое (M) ± стандартная ошибка средней (SEM, standard error of means). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Таблица 1

Оценки степени стресс-реакции животных

Исследуемый орган	Баллы					
	0	1	2	3	4	5
Надпочечник	100%	101—111%	112—123%	124—135%	136—150%	>150%
Тимус	100%	99—86%	85—74%	73—62%	61—50%	<50%
Селезенка	100%	99—86%	85—74%	73—62%	61—50%	<50%
Желудок (число язв), шт.	0	0—0,9	1—1,9	2—2,9	3—4,0	4

Примечание. Расчет производится относительно контрольных значения, принятых за 100%.

Таблица 2

Морфологические показатели стресс-реакции у крыс (M ± SEM)

Группа	Масса крысы, г	Масса бурого жира, мг	Масса тимуса, мг	Масса надпочечников, мг	Масса селезенки, мг	Масса почек, мг	Масса сердца, мг	Балл стресса
Интактные крысы, n = 12	282,6 ± 9,3	300,4 ± 38,2	240,5 ± 13,1	35,6 ± 2	1059,5 ± 96,1	2068 ± 117,3	825,4 ± 55,5	0
Холод 24 часа, 4 недели, n = 15	264,8 ± 3,56	764,6 ± 30,5; P<0,01	217,4 ± 12,9	49,7 ± 2,0; P<0,05	933,9 ± 45,2	1531,1 ± 27,4*	853,4 ± 15,8	7,1 ± 0,3
Холод 8 часов, 4 недели, n = 12	338,83 ± 5,74*	566,7 ± 28,9; P<0,01	339,5 ± 13,73*	29 ± 1,1	1315,83 ± 58,61*	2696,66 ± 38,77*	1174,16 ± 17,72*	0
Холод 1,5 часа, 4 недели, n = 12	364,7 ± 12,5*	311,7 ± 21,1	343,5 ± 15,2*	30,5 ± 1,2	1460 ± 94,3*	2634,2 ± 74,08*	1212,5 ± 31,6*	0

Примечание. M — среднее значение масс органов; m — ошибка среднего; n — число крыс в группе; p — достоверность относительно интактных животных.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты представлены в табл. 2. Установлено, что непрерывное воздействие холода ($+4^{\circ}\text{C}$, 4 нед.) вызывает двукратное увеличение массы бурого жира в сравнении с интактными животными. При непрерывном воздействии холода (4 нед.) масса надпочечников увеличилась на 40% по сравнению с интактными животными. Уровень кортизола и кортикостерона в сыворотке крови при этом не изменялись (см. рисунок). На слизистой желудка язвы у адаптированных особей отсутствовали. Масса почек после длительной холодной экспозиции уменьшалась. Изменений массы тела и ряда внутренних органов выявить не удалось. Средний балл стресса по шкале Добрякова у данной группы животных составлял 7,1.

После применения протокола 2 ($+4^{\circ}\text{C}$, 8 ч/сут., 4 нед.) холодное воздействие приводило к увеличению массы тела на 25%. Масса бурого жира возрастала в полтора раза по сравнению с интактными животными, тимуса, селезенки, почек и сердца увеличивалась в среднем на 30%, масса надпочечников не изменялась, язвы в желудке отсутствовали. Уровни кортизола и кортикостерона в сыворотке крови не изменялись относительно показателей интактных крыс (см. рисунок). Средний балл стресса по шкале Добрякова у данной группы животных составлял 0.

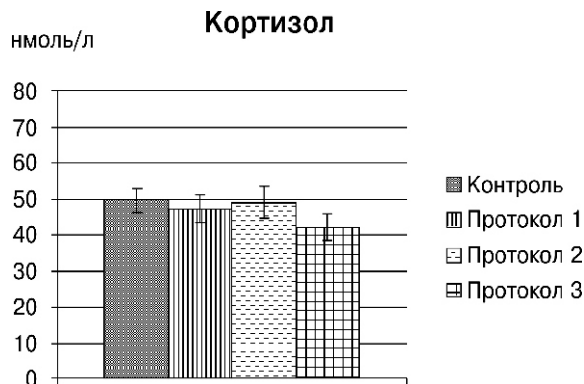


Рис. 1. Уровень кортизола в крови испытуемых животных.

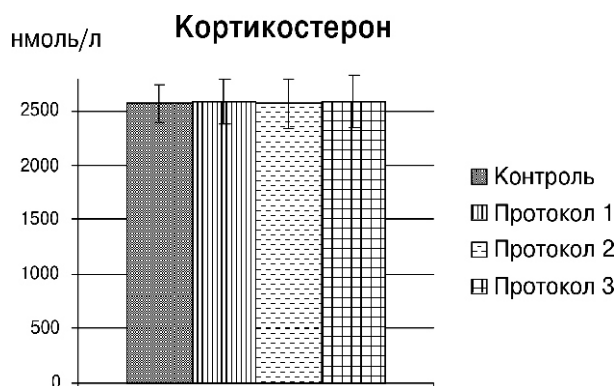


Рис. 2. Уровень кортикостерона в крови испытуемых животных.

У животных, адаптированных согласно протоколу 3 ($+4^{\circ}\text{C}$, 1,5 ч/сут., 4 нед.), холодное воздействие обеспечивало увеличение массы тела на 25%, по сравнению с интактными животными, масса тимуса селезенки, почек и сердца увеличивалась в среднем на 30%, масса бурого жира и масса надпочечников не изменялась (табл. 2). Не изменялись относительно показателей интактных животных и уровни кортизола и кортикостерона в сыворотке крови. Язвенных дефектов в желудке крыс после холодного воздействия не наблюдалось. Средний балл стресса был равен 0.

Как известно, бурый жир играет важную роль в термогенезе и акклиматизации к холоду. Увеличение массы бурой жировой ткани считается показателем адаптации к холодному воздействию [11].

Полученные данные указывают на то, что длительное холодное воздействие ($+4^{\circ}\text{C}$, 4 нед.) вызывает адаптационную реакцию организма на холод, о чём свидетельствует увеличение массы надпочечников и бурого жира, что, по мнению многих исследователей [4, 12, 13], является признаком адаптивной реакции на длительное воздействие низкой температуры. Обычно после длительной холодной экспозиции отмечается увеличение массы почек [4, 12—15], поэтому снижение массы этого органа было несколько неожиданным.

Увеличение массы бурого жира, обнаруженное после адаптации по второму протоколу ($+4^{\circ}\text{C}$, 8 ч/сут., 4 нед.), свидетельствует об адаптации к холоду. Наши результаты говорят о том, что акклимация к холоду произошла, но при этом не отмечалось развития стресс-реакции. Действительно, мы не обнаружили у крыс ни язв желудка, ни инволюции тимуса и селезенки, ни гипертрофии надпочечников. Уровень кортизола и кортикостерона у адаптированных особей тоже не увеличивался. После экстремального воздействия отмечается усиление катаболизма и, как следствие, может снижаться масса тела [1]. Мы же, напротив, обнаружили увеличение массы тела, селезенки, тимуса, почек и сердца после холодной экспозиции, что прямо противоположно реакции организма на стрессор [1]. Подобное повышение массы тела и органов, по-видимому, является следствием активации анаболических реакций. Обычно исследователи отмечают отсутствие изменений массы тела подопытных животных после длительной холодной экспозиции [15] или даже снижение массы тела после адаптации к холоду [12, 14]. В наших экспериментах было зафиксировано увеличение массы тела. Причина расхождений результатов состоит в том, что упомянутые авторы использовали непрерывную холодную экспозицию, мы же — прерывистое холодное воздействие. Повышение массы сердца и почек является типичным признаком холодной акклимации [4, 12, 13, 14]. При использовании протокола 2 мы не обнаружили изменения массы надпочечников, что согласуется с данными канадских физиологов, которые не обнаружили у крыс изменения массы указанных

органов после периодической холодной экспозиции (+4°C, 4 ч/сут., 3 нед.) [6].

Известно, что длительное воздействие холода вызывает уменьшение массы тимуса и селезенки у мышей [5] и способствует уменьшению массы тимуса у крыс [6, 16]. Мы же, напротив, отмечали увеличение массы указанных органов. Причина подобного расхождения данных литературы и результатов наших исследований остаётся неясной. Возможно, причина в том, что в большинстве работ, в которых было обнаружено снижение массы селезенки и тимуса, использовали непрерывную холодную экспозицию [5, 16], а мы — прерывистое холодное воздействие. Согласно Г. Селье [1], стресс характеризуется инволюцией тимуса и селезенки с последующей супрессией иммунных реакций. Мы не исследовали иммунитет у адаптированных крыс, но можем предположить, что иммунный ответ у них не подавлялся, поскольку масса указанных органов не изменялась в случае непрерывного воздействия холода или даже увеличивалась при прерывистой холодной экспозиции. Эти факты говорят о том, что использованные нами холодные воздействия не являются стрессом и могут рассматриваться, как холодная акклимация. Следовательно, периодическое холодное воздействие (+4°C, 8 ч/сут., 4 нед.) является адаптивной реакцией на холод.

Увеличение массы бурого жира является одним из основных критериев адаптации к холоду [11]. Однако при использовании третьего протокола (+4°C, 1,5 ч/сут., 4 нед.) масса бурого жира не менялась, что говорит об отсутствии акклимации к холоду. У этих особей мы не обнаружили язв желудка. Уровни кортизола и кортикостерона были такими же, как у интактных животных. Однако после длительной холодной экспозиции у крыс отмечалось увеличение массы тела, тимуса, селезенки, почек, сердца, что, видимо, является результатом усиления анаболизма. Следовательно, периодическое кратковременное воздействие холода (+4°C, 1,5 ч/сут., 4 нед.) не является ни стрессом, ни адаптацией к холоду.

Таким образом, хроническое непрерывное воздействие холода (+4°C, 4 нед.) и хроническое периодическое воздействие холода (+4°C, 8 ч/сут., 4 нед.) вызывает адаптивный ответ, но не является хроническим стрессом. Хроническое периодическое кратковременное воз-

действие холода (+4°C, 1,5 ч/сут., 4 нед.) не вызывает ни стресс-реакции, ни адаптации к холоду.

References

1. Selye H. *Ocherki ob adaptatsionnom syndrome (The story of the adaptation syndrome)* Per. S angl., M. Medgiz; 1960.
2. Selye H. Stress bez distressa. (Stress without distress). M.: Progress. 1978.
3. Selye H. Forty years of stress research: principal remaining problems and isconceptions. *Can. Med. Assoc. J.* 1976; 115(1): 53-6.
4. Sun Z., Cade J.R., Fregly M.J., Rowland N.E. Effect of chronic treatment with propranolol on the cardiovascular responses to chronic cold exposure. *Physiol. Behav.* 1997; 62(2): 379-84.
5. Cichon M., Chadzinska M., Ksiazek A., Konarzewski M. Delayed effects of cold stress on immune response in laboratory mice. *Proc. Biol. Sci.* 2002; 269(1499):493-1497.
6. Bhatnagar S., Meaney M.J. Hypothalamic-pituitary-adrenal function in chronic intermittently cold-stressed neonatally handled and non handled rats. *J. Neuroendocrinol.* 1995; 7(2): 97-108.
7. Kvetnansky R., Ukropec J., Laukova M., Manz B. Stress stimulates production of ^cholamines in rat adipocytes. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2012; 32(5): 801-13.
8. van Bergen P., Fregly M.J., Rossi F., Shechtman O. The effect of intermittent sure to cold on the development of hypertension in the rat. *Am. J. Hypertens.* 1992; 5(8): 548-55.
9. Bozhko A.P., Gorodetskaya I.V. The value of thyroid hormones in the cold adaptation. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya Terapiya.* 1994; 4: 29-32.
10. Dobryakov V.I. *Stess and adaptation.* Tez. Vsesoyuzn. simpoziuma. Kishinev, SHTince; 172.
11. Cannon B., Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological — significance. *Physiol. Rev.* 2004; 84(1): 277-359.
12. Fregly M.J., Rossi F., Cade J.R. A role for thyroid hormones in cold-induced elevation of blood pressure and cardiac hypertrophy. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1994a; 72(9): 1066-74.
13. Riesselmann A., Baron A., Fregly M.J., van Bergen P. Hypertension during chronic exposure to cold: comparison between Sprague-Dawley and Long-Evans strains. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1992; 70(5): 701-8.
14. Fregly M. J., Shechtman O., van Bergen P., Reeber C. Changes in blood pressure and Epsogenic responsiveness to angiotensin II during chronic exposure of rats to cold. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1991; 38(4): 837-42.
15. Fregly M.J., Rossi F., Sun Z., Turner N. Effect of chronic treatment with prazosin L-arginine on the elevation of blood pressure during cold exposure. *Pharmacology.* 1994b; 49(6): 351-62.
16. Manciulea S., Giurgea R., Ilyes I. Changes of functional state of liver, thymus and fenals, in cold acclimatized white rats. *Zentralbl. Veterinarmed A.* 1976; 23(6): 454-9.

Поступила 02.02.14

Сведения об авторах:

Цибульников Сергей Юрьевич, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. экспериментальной кардиологии, «НИИ кардиологии», e-mail: tsibulnikov@outlook.com

Нарыжная Наталья Владимировна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. экспериментальной кардиологии «НИИ кардиологии», e-mail: natalynar@yandex.ru

Иванов Владимир Владимирович, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. экспериментальной кардиологии «НИИ кардиологии», e-mail: Ivanovvv.1953@qip.ru

Цибульникова Маргарита Радиевна, к.г.н., доцент, доцент кафедры экономики природных ресурсов ФГАОУ ВПО Национальный исследовательский Томский политехнический университет, тел 3822 557054; e-mail: tsibulnikova@yandex.ru