СИСТЕМНЫЙ ОТВЕТ ОРГАНИЗМА НА ОСТРЫЙ КОМБИНИРОВАННЫЙ СТРЕСС КОРОТКОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ

Е.Р. Эрастов, *д-р мед. наук, доцент*
В.А. Мордвинов, *студент*
Приволжский исследовательский медицинский университет
(Россия, г. Нижний Новгород)

DOI:10.24412/2500-1000-2026-2-1-60-64

Аннотация. *На модели острого комбинированного стресса короткой продолжительности у нелинейных мышей-самцов применен многомерный анализ взаимодействий между гистоархитектоникой селезенки, морфологией гиппокампа, спектром продуктов перекисного окисления липидов в плазме и поведенческими реакциями животных. Показано, что экспериментальное воздействие, не вызывая значимых изменений морфометрических показателей селезенки, но достоверно повышая уровень диеновых и триеновых конъюгат, а также оснований Шиффа, приводит к качественной трансформации корреляционных сетей. Кластерный анализ выявил три конституциональных эндофенотипа, существующих независимо от экспериментального воздействия: «стресс-ассоциированный», «дезинтегрированный» и «структурно-компенсированный».*

Ключевые слова: *острый комбинированный стресс; селезенка; гиппокамп; поведенческие реакции; перекисное окисление липидов; системные взаимоотношения; эндофенотип.*

Информация о том, что иммунитет может сильно пострадать в результате стресса, не является новостью [1, 2]. Более того – острый психогенный стресс часто инициирует мультиорганный ответ, интегрирующий активность нервной, эндокринной и иммунной систем. Традиционный исследовательский подход, сосредоточенный на выявлении статистически значимых различий средних значений отдельных биомаркеров между экспериментальной и интактной группами, не учитывает два фундаментальных принципа биологической организации: конституциональную вариабельность особей и целостность физиологических процессов. Поскольку патология, как известно, представляет собой нарушение нормальных отношений между элементами функциональной системы, любое картографирование количества, силы и статистической значимости этих связей в интактном состоянии является необходимым условием для понимания поломок.

Цель работы заключалась в оценке системной реакции организма в ответ на острый комбинированный стресс (ОКС) короткой продолжительности.

Материал и методы исследования. Работа проведена на 19 половозрелых нелинейных мышах-самцах (возраст 10-12 недель), содержавшихся в стандартных условиях вивария. Животных методом случайной выборки разделили на интактную (n = 10) и опытную (n = 9) группы. Модель ОКС представляла собой одномоментное двухчасовое воздействие: иммобилизацию в индивидуальных перфорированных пластиковых контейнерах в сочетании с шумом интенсивностью 120 дБ (в течение первого часа) и постоянным освещением лампой накаливания 60 Вт (в течение второго часа). До и после эксперимента проводили классические нейробиологические методики «Открытое поле» и «Вынужденное плавание».

Головной мозг и селезенку после фиксации заливали в парафин-целлоидин. На каждом срезе селезенки в 20 случайных, не пересекающихся полях зрения при увеличении ×400 оценивали следующие параметры:

1) количество лимфоидных фолликулов на мм² площади среза;

2) среднюю площадь фолликула;

3) соотношение паренхиматозной и стромальной зон красной пульпы, рассчитываемое как отношение плотности клеточных элементов в паренхиме к плотности в ретикулярной строме;

4) среднюю ширину синусов красной пульпы путем проведения 10 перпендикулярных замеров в каждом поле зрения.

Мозг резали фронтально через зубчатую извилину гиппокампа. В гранулярном слое зубчатой извилины на 10 микрофотографиях (увеличение ×1000) оценивали средний объем нейронов и глиальный индекс.

В плазме крови, полученной после декапитации животных, определяли продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) по методу Волчегорского [3] при помощи спектрофотометра – основания Шиффа (ОШ), диеновые (ДК) и триеновые (ТК) конъюгаты. В дальнейшем рассчитывали коэффициент липопероксидации (ОШ/(ДК+ТК)).

Статистическая обработка выполнена в среде R (v.4.3.1). Для сравнения интактной и экспериментальной групп по отдельным количественным параметрам использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни, поскольку данные в большинстве случаев не соответствовали нормальному распределению (критерий Шапиро-Уилка).

Для оценки системных взаимодействий использовали четыре вида анализа:

Во-первых, для выявления естественных группировок животных по всему массиву данных проводили иерархический кластерный анализ по стандартизированным (Z-score) значениям изучаемых ключевых параметров.

Во-вторых, широко использовали корреляционный анализ – для интактной и экспериментальной групп независимо вычисляли матрицы парных ранговых корреляций Спирмена (ρ), в которых корреляции с $p < 0{,}05$ считались статистически значимыми.

В-третьих, для снижения размерности данных и визуализации взаимного расположения животных в пространстве, определяемом первыми двумя главными компонентами (PC1 и PC2), объясняющими максимальную долю общей дисперсии, применяли анализ главных компонент (PCA).

Наконец, в-четвертых, для выявления прямых и опосредованных путей влияния анализировали паттерны значимых корреляций между переменными разных систем.

Результаты исследования и их обсуждение. Сравнение интактной и экспериментальной групп по морфометрическим параметрам не выявило статистически значимых различий для всех изучаемых морфометрических показателей селезенки ($p > 0{,}05$). В то же время, в плазме крови животных, перенесших ОКС, наблюдалось достоверное повышение уровня вторичных продуктов ПОЛ – концентрации диеновых (ДК), триеновых (ТК) конъюгат и оснований Шиффа (ОШ) ($p < 0{,}05$). Интегральный коэффициент липопероксидации (КЛП) также был выше в экспериментальной группе, но различие не достигало порога статистической значимости ($p < 0{,}05$). Поведенческие показатели (общая длина пройденного пути в тесте «Открытое поле», время пассивного плавания в тесте «Вынужденное плавание») и глиальный индекс гиппокампа демонстрировали выраженную вариабельность, и их групповые различия также не были значимыми ($p < 0{,}05$). Кластерный анализ по стандартизированным значениям десяти ключевых признаков выявил три устойчивых кластера, что свидетельствует о существовании дострессовых эндофенотипов (рис. 1 и 2).

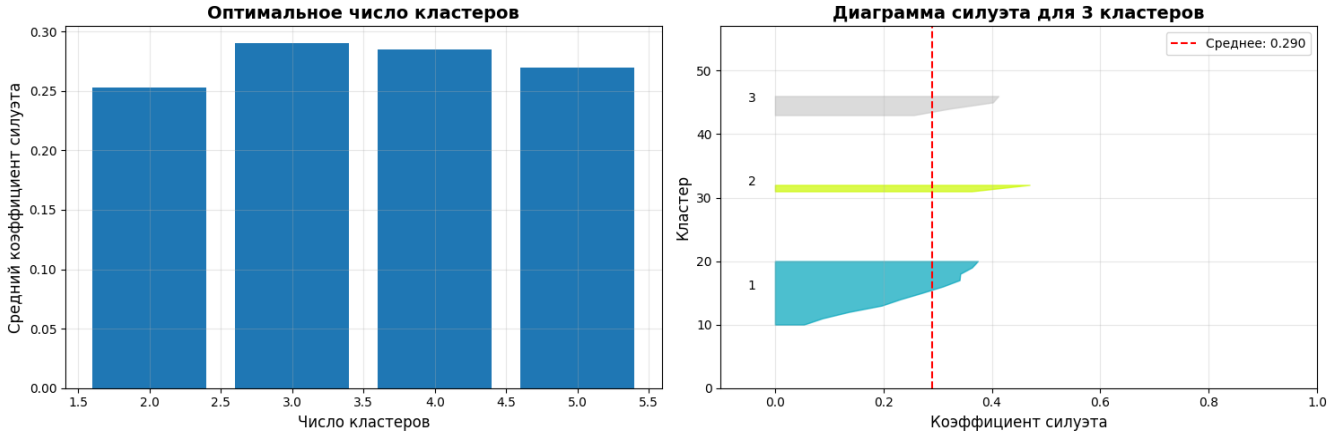

Рис. 1.

Тип первый, «стресс-ассоциированный» (n = 9), включал 7 из 8 животных, получивших ОКС короткой продолжительности и 2 интактных животных. Отличается максимальными значениями ширины синусов селезенки, площади фолликулов и глиального индекса гиппокампа, а также выраженным сосудистым компонентом в селезенке и сопутствующим нейровоспалением в ответ на стресс.

Тип второй, «дезинтегрированный» (n = 4), состоял исключительно из интактных животных. Ключевая черта – экстремально высокое время пассивного плавания при минимальных значениях глиального индекса и умеренных показателях ПОЛ. Это состояние «чистой» поведенческой дезинтеграции без признаков периферического окислительного стресса и нейровоспаления.

Тип третий, «структурно-компенсированный» (n = 5), включал оставшихся интактных животных. Характеризовался средними значениями по всем параметрам, представляя, по-видимому, наиболее сбалансированный, или резистентный, эндофенотип.

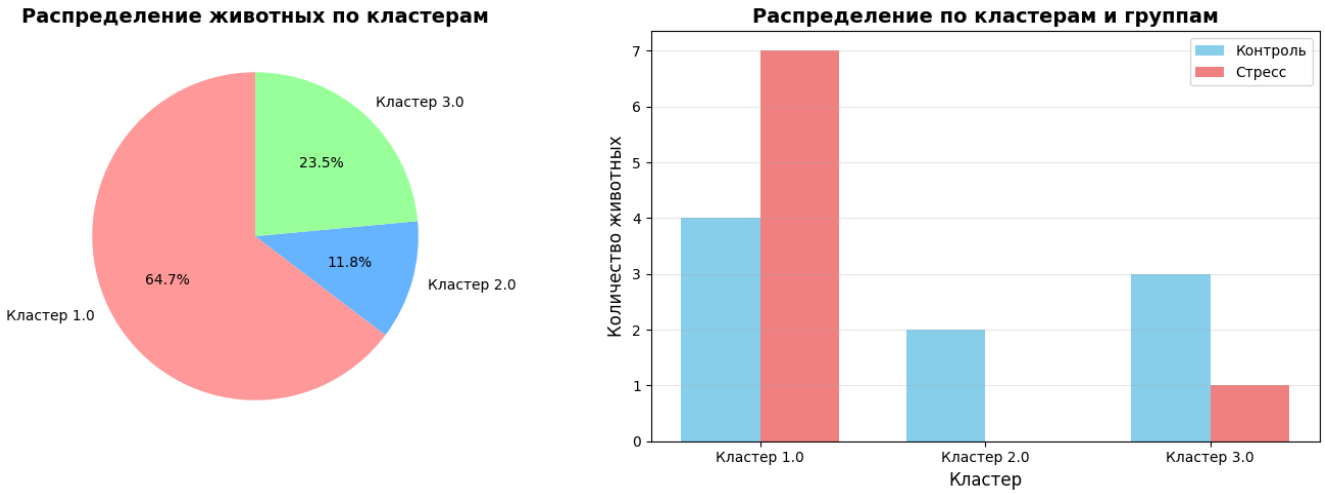

Рис. 2.

Сравнение корреляционных матриц и их визуализация в виде сетей выявили радикальные различия между группами. Так, в интактной группе наблюдалась плотная, когерентная сеть с несколькими сильными положительными связями. Наиболее значимой была связь между соотношением паренхимы и стромы селезенки и общей двигательной активностью, ($\rho = +0{,}883$, $p < 0{,}001$). Это указывает на существование в норме тесной положительной связи между гистоархитектоникой иммунного органа и уровнем спонтанной исследовательской активности.

В группе животных, получивших ОКС короткой продолжительности, эта ключевая физиологическая связь была не просто утрачена, но даже инвертирована ($\rho = -0{,}357$, $p > 0{,}05$). Данный факт возможно рассматривать как системную дезинтеграцию, разрыв нормальной координации между элементами системы. Параллельно сформировалась новая, сверхсильная отрицательная связь между шириной синусов селезенки и двигательной активностью, ($\rho = -0.905$, $p < 0{,}001$). Это позволяет говорить о возникновении новой, патологической оси регуляции «сосудистое русло селезенки – поведенческие реакции». Анализ главных компонент показал, что первые две компоненты (PC1 и PC2) объясняют 67,3% общей дисперсии данных. В пространстве PC1-PC2 животные группы мышей, получивших ОКС короткой продолжительности, демонстрируют тенденцию к смещению относительно интактной, занимая частично перекрывающуюся, но смещенную область. Примечательно, что животные «дезинтегрированного» второго эндофенотипа образуют компактную, обособленную группу в левой части графика, что подтверждает их уникальный фенотипический профиль, выявленный кластерным анализом (рис. 3).

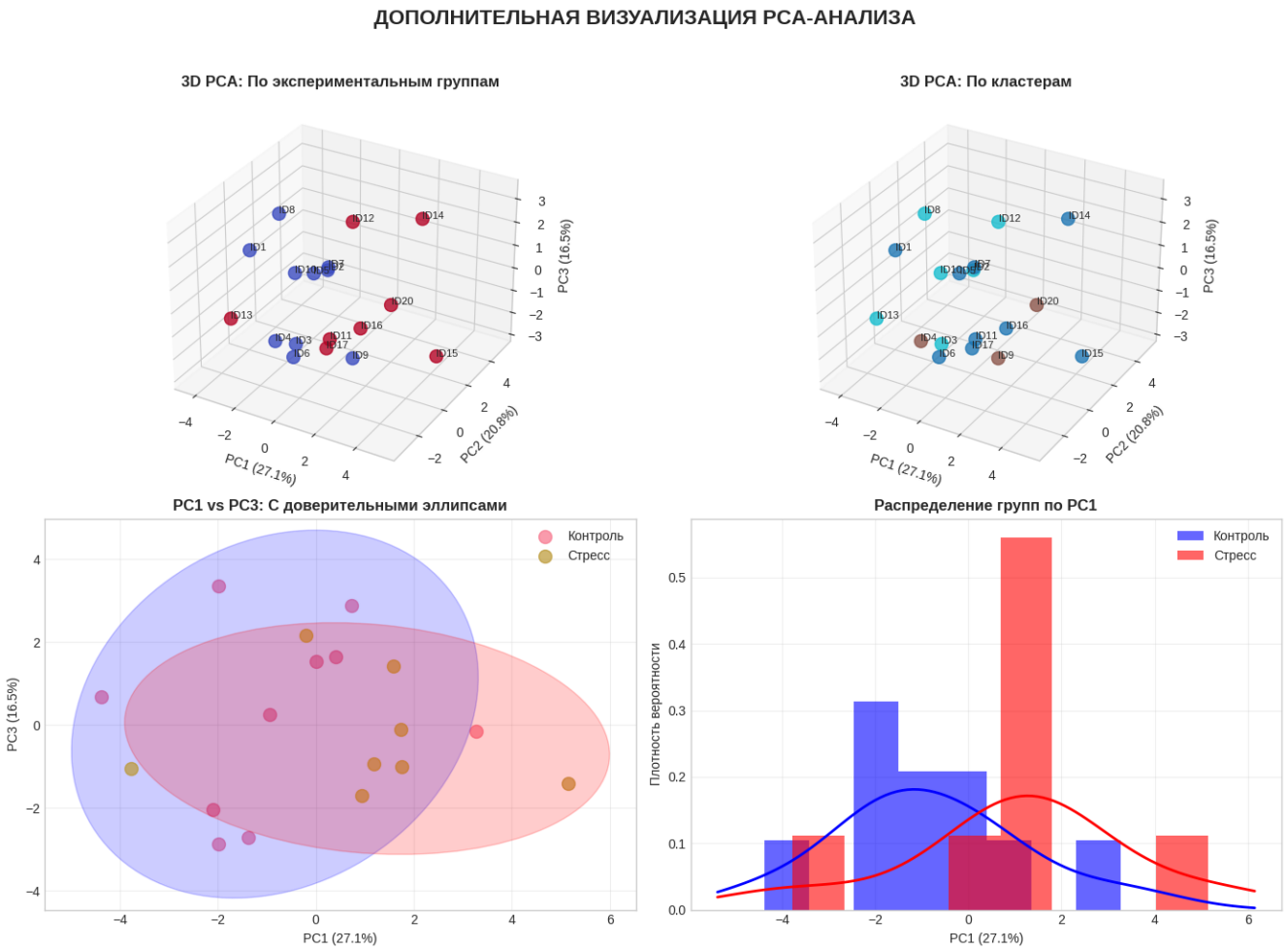

Рис. 3.

Межорганный корреляционный анализ позволил выявить наиболее вероятную последовательность событий. Оказалось, что связь между стрессом и нейровоспалением в гиппокампе опосредована не через структурные изменения селезенки, а напрямую через системный оксидативный стресс. Обнаружена сильная положительная корреляция между фактом стрессового воздействия (бинарная переменная) и уровнем оснований Шиффа (ОШ) в плазме ($\rho = +0{,}873$, $p < 0{,}01$). Показатель ОШ, в свою очередь, демонстрировал сильную положительную корреляцию с глиальным индексом гиппокампа ($\rho = +0{,}735$, $p < 0{,}01$). При этом значимых корреляций между параметрами селезенкии и глиальным индексом нейронов гиппокампа выявлено не было. Это свидетельствует о том, что сосудистая реакция в селезенке и реакция глии в гиппокампе представляют собой параллельные, а не последовательные звенья стресс-ответа, объединенные общим драйвером в виде генерализованного ПОЛ.

Наиболее значимым результатом данного исследования является не появление новых маркеров, а качественная перестройка корреляционных ландшафтов. Сильная положительная связь между соотношением паренхимы и стромы селезенки и двигательной активностью ($\rho = +0.883$ в интактной группе), по-видимому, отражает фундаментальную физиологическую ось кооперации. Ее можно интерпретировать как проявление общего энергетического и регуляторного тонуса организма: оптимальная архитектура лимфоидной ткани, обеспечивающая эффективный иммунный надзор, сопряжена с высокой исследовательской активностью мышей, живущих в состоянии относительного комфорта. Полное разрушение и инверсия этой связи при стрессе ($\rho = -0{,}357$) свидетельствует о коллапсе данной кооперативной системы. Это согласуется с концепцией «аллостатической нагрузки» [4, 5], где цена адаптации представляет собой потерю гибкости и рассогласование систем. При этом формируется новая,

сверхжесткая отрицательная ось «ширина синусов селезенки – двигательная активность» (ρ = -0,905). Мы предполагаем, что в условиях стресса доминирующее влияние на поведение начинает оказывать не лимфоидный, а сосудисто-депонирующий компонент селезенки. Расширение синусов может отражать активацию симпато-адреналовой системы, ведущую к сокращению капсулы и выбросу депонированных лейкоцитов и тромбоцитов в системный кровоток, что является частью подготовительной реакции «борьбы или бегства». Таким образом, стресс не просто усиливает или ослабляет связи, а переключает регуляторный контур селезенки с иммуно-регуляторного на вазомоторно-мобилизационный, и именно этот новый контур негативно влияет на поведение.

Всё вышеизложенное позволяет сделать такой ключевой вывод, что ОКС короткой продолжительности приводит не столько к количественным сдвигам изолированных параметров, сколько к качественной дезинтеграции системных связей между органами и функциями, что проявляется в перестройке корреляционных сетей и может быть выявлено через анализ индивидуальных траекторий и естественных кластеров (эндофенотипов).

Библиографический список

1. Stress and immunity in poultry: light management and nanotechnology as effective immune enhancers to fight stress / Abo-Al-Ela H.G., El-Kassas S., El-Naggar K. et all. // Cell Stress Chaperones. – 2021. – Vol. 26, № 3. – P. 457-472.

2. Молчанов Р.А. Влияние психологического состояния на иммунитет человека // Студенческий вестник. – 2023. – Т. 21. – № 2. – С. 55-57.

3. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Ярвинский Б.Г. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // Вопросы медицинской химии. – 1989. – № 1. – С. 127-131.

4. Структура аллостатической нагрузки у работников железнодорожного транспорта / С.Г. Горохова, В.Ф. Пфаф, Е.В. Мурасеева и др. // Медицина труда и промышленная экология. – 2016. – № 4. С. 5-9.

5. Изменения параметров сердечного ритма и артериального давления за время кругосветного океанического перелета вокруг Северного полюса по Северному Ледовитому Океану / О.Ю. Атьков, И.Б. Алчинова, М.В. Полякова и др. // Патогенез. – 2018. – № 3. – С. 90-93.

THE BODY'S SYSTEMIC RESPONSE TO ACUTE COMBINED STRESS OF SHORT DURATION

E.R. Erastov, *Doctor of Medical Sciences, Associate Professor*
V.A. Mordvinov, *Student*
Volga Region Research Medical University
(Russia, Nizhny Novgorod)

Abstract. *A multidimensional analysis of the interactions between the histoarchitectonics of the spleen, the morphology of the hippocampus, the spectrum of lipid peroxidation products in plasma and the behavioral reactions of animals was used on a model of acute combined stress of short duration in nonlinear male mice. It is shown that experimental exposure, without causing significant changes in the morphometric parameters of the spleen, but significantly increasing the level of diene and triene conjugates, as well as Schiff bases, leads to a qualitative transformation of correlation networks. Cluster analysis revealed three constitutional endophenotypes that exist independently of experimental exposure: "stress-associated", "disintegrated" and "structurally compensated".*

Keywords: *acute combined stress; spleen; hippocampus; behavioral reactions; lipid peroxidation; systemic relationships; endophenotype.*