

## Вокализация крыс в ультразвуковом диапазоне как модель оценки стрессового влияния обездвиживания, электрокожного раздражения и физической нагрузки фармакодинамики лекарств

Ю.В.Фокин, В.Н.Каркищенко

*Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Москва*

*Контактная информация: д.м.н., профессор Каркищенко Владислав Николаевич,  
e-mail: vlad1672@ya.ru*

---

Стресс – это ответная реакция организма на экстремальные условия, нарушающие его спокойствие и равновесие. Любая ситуация, на которую организм реагирует сильным эмоциональным возбуждением, может стать причиной возникновения стресса. Стресс могут вызвать различные факторы – действующие как положительно, так и отрицательно. Изучая причины возникновения, механизм и длительность действия стресса, а также способы выхода из него, можно в определённой степени контролировать стрессовое состояние, оценивать действия фармакологических препаратов и многое другое.

**Ключевые слова:** крысы, стресс, иммобилизация, электрокожная стимуляция, физическая нагрузка, вокализация, ультразвук, SONOTRACK, фармакодинамика.

---

Стресс может быть вызван как непосредственным воздействием внешнего фактора (сильного холода, нападения врага), так и психологическим стрессором – например, ожиданием угрозы извне. Стрессовая реакция позволяет организму быстро мобилизоваться, чтобы противостоять угрозе нарушения гомеостаза (физиологического равновесия), и подготавливает организм для «борьбы или бегства». Во время стрессовой реакции организма поднимается уровень гормонов, который увеличивает скорость поступления глюкозы в мускулатуру, что должно помогать организму справляться с физическим напряжением, необходимым для достижения цели. В то же время обостряется сознание (вероятно, чтобы способствовать переработке информации) и порой притупляется

ощущение боли. Замедляются или приостанавливаются такие физиологические процессы, как рост, размножение, воспаление и пищеварение, которые не сопряжены с немедленной выгодой и требуют больших затрат энергии. Хроническая активация стрессовой реакции может иметь неблагоприятные последствия для здоровья. Если глюкоза постоянно мобилизуется, вместо того, чтобы запасаться, то здоровые ткани атрофируются, и наступает истощение. Сердечно-сосудистые изменения со временем приводят к гипертензии, что плохо сказывается на сердце, кровеносных сосудах и почках. Кроме того, когда анаболические процессы без конца откладываются, организм расплачивается нарушением восстановления тканей, снижением плодовитости, ослаблением функций

иммунной системы и повышением вероятности развития язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Постоянная активация ответа организма на стресс может быть вредна, хотя мало кто проживет долго, если не способен к этой реакции [1].

**Цель исследования:** изучение влияния иммобилизации, электрокожного раздражения и физической нагрузки как факторов стресса для лабораторных крыс на ультразвуковую вокализацию животных и оценка длительности стресс-периода.

### Материалы и методы

Эксперимент проводился в НЦБМТ РАМН. Тестировались пятимесячные самцы крыс линии WAG/GY в количестве 3 особей и трёхмесячные самки крыс той же линии в количестве 3 особей. Содержание животных – по барьерной системе, в клетке со свободным доступом к питью и пище (комбинированный корм, фирма ООО «Лабораторкорм»), зоогигиенические показатели – в пределах нормы, микробиологический статус – SPF. Иммобилизацию создавали путём помещения крысы на 2 часа в узкую пластиковую бутылку с отверстием для дыхания, исключающую возможность каких-либо движений туловища в ней. Состояние стресса от электрокожного раздражения вызывали пульсирующим током такой величины, чтобы крыса не издавала звука в слышимом диапазоне (до 15 кГц). Стимуляцию осуществляли 10 минут, в течение которых крыса находилась под постоянным наблюдением. Данная процедура проходила в закрытой камере (30х30х40 см) с отверстиями для воздухообмена. С помощью этой же камеры изучалось и стресс-

совое влияние физической нагрузки. В течение эксперимента крыса передвигалась на вращающемся вале, покрытом мягким, пористым материалом (диаметр вала 7 см, скорость вращения постепенно нарастала первые 5 минут с 9 до 12 об/мин). Вал был поднят на высоту 15 см от пола. Пол камеры состоял из стальных стержней, на которые подавалось постоянное напряжение 25-35 В (ток 1 А без учёта сопротивления кожи животных). Длительность эксперимента составляла 40-50 минут с момента научения животного (прекращения падений с вала), окончание его определялось визуально, по снижению выносливости и физической усталости крысы, расслабляющей мышцы и падающей на электрический пол камеры. После чего измерялся уровень вокализации тестируемой крысы с помощью системы SONOTRACK (Mertis B.V., Netherlands) – метода анализа ультразвука, издаваемого лабораторными животными. Специальные микрофоны и оборудование позволяли регистрировать сигнал частотой от 20 до 100 кГц и записывать его в цифровом формате для дальнейшей обработки [2]. Длительность регистрации – 10 минут. В предыдущих опытах (с обездвиживанием и электрокожным раздражением) ультразвук записывался непосредственно в период иммобилизации и во время стимуляции током. Далее крыс помещали обратно в свои клетки, с целью возвращения к нормальным условиям и адаптации. Процедура регистрации ультразвуковой вокализации повторялась через 1,5 часа. Полученные в программе SONOTRACK числовые значения обрабатывались с помощью Microsoft Office Excel, после чего находились медианы необходимых частот в диапазонах 20-30, 30-60, 60-80 и 80-100 кГц.

## Результаты и их обсуждение

Результаты эксперимента по обездвиживанию крыс (табл. 1) показали преимущественное отсутствие вокализации во время иммобилизации. Данный эффект, связанный с замиранием животных, а также появление ультразвуковых частот в диапазоне 20-30 кГц (в трёх случаях) свидетельствуют о том, что они испытывают чувства волнения и тревоги. Превышение в еди-

вывод о том, что в этот период времени у животных наблюдается ослабление стресса, они постепенно приходят в норму, но у них всё ещё отмечаются остаточные эффекты психоэмоционального шока.

Результаты, полученные в период стрессового влияния электрокожного раздражения (см. табл. 2), показали появление у обеих групп животных вокализации в диапазонах 20-30 и 60-80 кГц. Значения медиан частот в диапазоне 30-

Таблица 1

### Иммобилизация крыс (в течение 2 часов)

Группа животных	Функциональное состояние	Интервал нахождения медиан ультразвуковых частот, кГц			
		20-30	30-60	60-80	80-100
Самцы	Комфорт	–	37,18	–	–
	Иммобилизация	25,38	–	–	–
	Последствие через 1,5 часа	–	36,99	–	–
Самки	Комфорт	–	39,85	–	–
	Иммобилизация	–	–	–	–
	Последствие через 1,5 часа	–	–	–	–

ничном случае уровня ультразвуковых колебаний в диапазоне 30-60 кГц по сравнению с фоновыми значениями, видимо, является следствием дискомфортного состояния, приближающегося к болевому порогу [3]. По истечении полутора часов, для крыс характерны отсутствие вокализации в диапазонах 20-30 и 30-60 кГц, а также (в половине случаев) ультразвуковые колебания в последнем диапазоне, значения которых приблизительно соответствуют состоянию комфорта. На основании данного факта, можно сделать

60 кГц превышают таковые в состоянии спокойного бодрствования, что свидетельствует о дискомфорте у животных, а наличие данных в диапазоне от 60 кГц говорит о превышении болевого порога. Преимущественное отсутствие вокализации в постстрессовый период и некоторое превышение значений медиан частот (в двух случаях) по сравнению с фоновыми числовыми значениями говорит, вероятно, о том, что животные, уже не испытывающие ударов током, продолжают находиться в стрессовом состоянии.

## Электрокожное раздражение (до вокализации в слышимом диапазоне)

Группа животных	Функциональное состояние	Интервал нахождения медиан ультразвуковых частот, кГц			
		20-30	30-60	60-80	80-100
Самцы	Комфорт	–	37,18	–	–
	Эл. раздражение	25,68	43,33	63,30	–
	Последствие через 1,5 часа	–	40,28	–	–
Самки	Комфорт	–	39,85	–	–
	Эл. раздражение	27,71	46,40	65,09	–
	Последствие через 1,5 часа	–	–	–	–

Полученные результаты по влиянию физической нагрузки (см. табл. 3) показали, что в данном функциональном состоянии у животных отмечается отсутствие ультразвука во всех диапазонах, кроме 30-60 кГц. Усиление вокализации в данном интервале по сравнению с фоновыми значениями свидетельствует о том, что интенсивная физическая нагрузка (не характерная для обычной жизни исследуемых животных) является для них стресс-фактором и вызывает

ет дискомфорт. Через 1,5 часа действие данного стресса, видимо, практически прекращается, о чём говорит уменьшение медиан частот в диапазоне 30-60 кГц и возвращение их к значению, характерным для состояния спокойного бодрствования.

Исследованы влияния на ультразвуковую вокализацию в условиях моделирования стресса ряда препаратов (мексикор, идебенон, эритропозтин), которые обнаружили выраженное ноотроп-

## Физическая нагрузка (в среднем, 45 минут)

Группа животных	Функциональное состояние	Интервал нахождения медиан ультразвуковых частот, кГц			
		20-30	30-60	60-80	80-100
Самцы	Комфорт	–	37,18	–	–
	Физ. нагрузка	–	52,08	–	–
	Последствие через 1,5 часа	–	36,98	–	–
Самки	Комфорт	–	39,85	–	–
	Физ. нагрузка	–	55,07	–	–
	Последствие через 1,5 часа	–	38,17	–	–

ное действие на параметры поведенческих реакций животных. Результаты исследований будут представлены в дальнейших публикациях.

### Выводы

1. Обездвиживание, электрокожное раздражение и физическая нагрузка являются стресс-факторами для лабораторных крыс и оказывают влияние на частоту их вокализации в ультразвуковом диапазоне.

2. Наиболее сильным стрессом является электрокожное раздражение.

3. Стрессовое влияние иммобилизации и электрокожного раздражения сохраняется у животных по крайней мере на протяжении полутора часов.

4. Стресс, испытываемый крысами при интенсивной физической нагрузке, прекращается приблизительно через

час после её окончания и достижения миорелаксации.

5. Предложенная модель может быть использована для скрининга, оценки фармакодинамики и выявления механизмов действия нейрпсихотропных средств.

### Список литературы

1. *Коган Н.* Стресс и борьба за власть // Наука и техника, № 9, 2008.

2. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под редакцией *Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева*. М.: Профиль–2С, 2010, 358 с.

3. *Amir S.* Effects of ACTH on responsiveness in mice. Interaction with morphine. – *Neuropharmacology*, 1981. Vol.20. P.959–961.

## Vocalization of rats in an ultrasonic range as model of estimation of stressful influence of immobilization, electroskin irritation and physical activity on a pharmacodynamics drugs

Y.V.Fokin, V.N.Karkischenko

*Scientific center of biomedical technologies RAMS, Moscow*

The stress is a response of an organism to the extreme conditions breaking its calmness and balance. Any situation to which the organism reacts strong emotional excitation, can become the reason of occurrence of stress. Various factors – operating can cause stress both are positive, and are negative. Studying the occurrence reasons, the mechanism and duration of action of stress, and also ways of an exit from it, it is possible to supervise a stressful condition in certain degree, to estimate actions of pharmacological preparations and many other things.

**Key words:** rats, stress, immobilization, electroskin stimulation, physical activity, vocalization, ultrasound, SONOTRACK, pharmacodynamics.