



## Влияние социальной изоляции на стрессоустойчивость и резорбцию костной ткани крыс при термическом стрессе

Д.Г. Иванов, Н.В. Александровская

ФГУП «НЦ «Сигнал», Москва

Контактная информация: Иванов Дмитрий Геннадьевич, dg1983@myrambler.ru

Изучалось влияние социальной изоляции на стрессоустойчивость и резорбцию костной ткани крыс при термическом стрессе. Животные в возрасте 2-2,5 мес. помещались на 30 сут в условия социальной изоляции. Эффект ежедневного семисуточного термического стресса исследовался на животных, содержащихся в социальной изоляции или в группе. Социальная изоляция снижала тревожность крыс в «открытом поле», уменьшала количество 11-оксикортикостероидов в крови и левом надпочечнике, содержание норадреналина в мозге, увеличивала содержание адреналина в правом надпочечнике, уровень кальция в крови и плотность бедренной кости. У крыс, содержащихся в группе, термическое воздействие активировало гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую и симпато-адреналовую системы, стимулировало резорбцию костной ткани в виде увеличения свободного оксипролина и активности кислой фосфатазы в крови, снижало уровень кальция и увеличивало уровень фосфора в сыворотке, уменьшало плотность бедренной кости. У крыс, подвергавшихся социальной изоляции, термическое воздействие не вызывало сдвигов биохимических показателей гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и костной резорбции, хотя увеличивало относительную массу левого надпочечника и снижало плотность бедренной кости. Полученный результат указывает на положительный эффект социальной изоляции на стрессоустойчивость и резорбцию костной ткани при стрессе.

**Ключевые слова:** крыса, социальная изоляция, стресс, костная резорбция.

### Введение

Стресс является неспецифической стереотипной генерализованной реакцией организма, возникающей в условиях, угрожающих нарушению гомеостаза [6], и направленной на его поддержание [24]. Физиологические реакции, осуществляющие «перестройку» гомеостаза, включают эффекты нервной и гуморальной регуляции [25]. Ведущую роль в ответе организма при стрессе отводят симпатoadреналовой системе (САС),

регулирующей быстрый ответ и анатомически состоящей из симпатической части автономной нервной системы и хромаффинных клеток мозгового вещества надпочечников и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС), регулирующей долгосрочный ответ и включающей в свой состав гипоталамус, гипофиз и кору надпочечников [4]. Долгосрочное нахождение организма в условиях стресса может приводить к развитию заболеваний внутренних ор-

ганов и выражаться в дезинтеграции поведения вплоть до нервно-психического срыва [2, 10].

Успешность адаптации индивида к условиям стресса зависит от его внутреннего состояния и характеристик фактора, вызывающего стресс. При этом одним из ключевых индивидуальных факторов стрессоустойчивости является тревожность [16]. У высокотревожных людей выполнение деятельности в стрессогенных условиях сопровождается, как правило, развитием значительного нервно-психического перенапряжения [21]. Аналогично, в модельных экспериментах у крыс, обнаруживающих низкую тревожность в «открытом поле» в виде коротких латентных периодов начала движения и первого захода в центр, а также большую двигательную активность и низкие значения показателя вегетативного баланса, наблюдается большая стрессоустойчивость, чем у высокотревожных животных, поведение которых в «открытом поле» характеризуется низкой двигательной активностью и высокими значениями показателя вегетативного баланса [11, 19].

Совместное содержание крыс ведет к конкуренции животных за жизненные ресурсы и установлению иерархии посредством агрессивного поведения [7], в результате чего возрастает социальное давление на каждую особь в клетке. Крысы низкого социального ранга, как правило, обнаруживают более тревожное поведение по сравнению с доминантными животными [9]. Изоляция животных снимает социальное давление, и изолированное животное не отличается по физиологическим показателям от доминантной особи в группе, демонстрирует низкую тревожность [23]. Это даёт основания считать, что социальная изоляция животных

моделирует состояния низкой тревожности у человека и позволяет использовать её в качестве метода при исследовании реакции организма на стресс.

Многочисленное ежедневное воздействие горячим (70°C) воздухом в течение семи суток вызывает стрессовую реакцию, обозначаемую как термический стресс, и повышает резорбцию костной ткани [15]. Несмотря на то, что стресс до сих пор не внесён в число факторов риска системных заболеваний костной ткани, стресс-индуцированную костную резорбцию важно учитывать, т.к. остеопороз выявляется клинически часто только после переломов костей. В связи с этим для диагностики, профилактики и определения тактики лечения крайне необходимо выявление факторов риска заболевания [14].

Указанный эффект термического воздействия на костную ткань предотвращается введением феназепам [8], что свидетельствует об участии эмоциогенных структур в реализации механизма развития костной резорбции при стрессе. Эти данные позволяют предположить влияние социальной изоляции на функциональную активность систем, обеспечивающих адаптацию, и резорбцию костной ткани крыс при термическом воздействии, поэтому **целью** данной работы было исследовать влияние социальной изоляции на стрессоустойчивость и резорбцию костной ткани крыс при стрессе.

### Материалы и методы

Экспериментальная часть работы выполнена на белых беспородных крысах-самцах в возрасте 2-2,5 мес. Содержание и обращение с животными в эксперименте соответствовали приказу Минздрава России от 01.04.2016 г.

№ 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и директиве ЕП и СЕС от 22.09.2010 г. «По охране животных, используемых в научных целях». Животные содержались при температуре воздуха 20-22°C, относительной влажности 40-60%, естественном световом режиме, со свободным доступом к воде и пище. Депривация корма осуществлялась за 12 ч до выведения крыс из эксперимента.

До начала эксперимента животные содержались в пластиковых клетках размером 490×370×215 мм в группах по 6-7 особей. Площадь, приходящаяся на одну крысу, составляла 302-259 см<sup>2</sup>. После этого животные опытной группы подвергались 30-суточной изоляции. Условия социальной изоляции создавали, помещая животных в пластиковые клетки размером 385×300×230 мм, разделенные стеклянной перегородкой на два равных отсека. Площадь, приходящаяся на одну крысу в условиях изоляции, составляла 578 см<sup>2</sup>. Перегородка прилегала ко дну и крышке клетки неплотно, так что животные, находящиеся в разных отсеках, могли ощущать присутствие друг друга, но не могли осуществлять зоосоциальный контакт, что исключало возможность установления социальной иерархии. Животные контрольной группы после введения в эксперимент опытных крыс оставались в своих клетках в группах по 3-4 особи, что соответствовало площади 604-453 см<sup>2</sup> на крысу.

**В первой** серии исследовали влияние социальной изоляции на тревожность крыс, функциональное состояние систем, обеспечивающих адаптацию, и морфофункциональное состояние костной ткани. Животных делили на две группы: «Изоляция», крысы которой

подвергались 30-суточной социальной изоляции, и «Контроль», животные которой в течение 30-ти суток содержались в стабильных группах по 3-4 особи, как описано выше. На следующий день по истечении сроков изоляции часть животных из каждой группы тестировали в «открытом поле». Остальных – выводили из эксперимента путём декапитации.

«Открытое поле» представляло собой камеру из белого пластика размером 1×1×0,5 м с дном, расчерченным на 25 равных квадратов, которая освещалась лампой мощностью 100 Вт. Перед проведением теста животных в течение 1 мин держали в затемненной картонной камере размером 30×15×10 см с отверстиями для доступа воздуха. Тестирование животных проводилось с 16:00 до 19:30 час. Крыс помещали в центр «открытого поля» и в течение 3 мин регистрировали время выхода из центрального квадрата, число пересеченных квадратов, число вертикальных стоек, число дефекаций и уринаций, длительность реакций замирания, обнюхивания и груминга.

У декапитированных животных определяли относительную массу стрессочувствительных органов – левого надпочечника и тимуса. Регистрировали относительную массу, а также абсолютные значения длины и вентродорсального диаметра середины правой бедренной кости. Определяли объём бедренной кости [1] и рассчитывали её плотность. Плазму получали, смешивая кровь с 5% р-ром натрия этилендиаминтетраацетата. Для приготовления сыворотки кровь без антикоагулянта выдерживали 30 мин при комнатной температуре. После центрифугирования в течение 15 мин при 2800 об./мин образцы сыворотки и плазмы замораживали и хранили при -20°C.

В плазме, гомогенатах левого надпочечника и печени, приготовленных с 30% р-ром этанола, определяли содержание 11-оксикортикостероидов (11-ОКС) флюориметрическим методом Ю.П. Панкова, И.Я. Усватовой в модификации В.Г. Подковкина [20]. В гомогенатах правого надпочечника, приготовленных с 10% р-ром трихлоруксусной кислоты, определяли содержание адреналина флюориметрическим методом Э.Ш. Матлиной в модификации В.Г. Подковкина [20]. В гомогенатах головного мозга, приготовленных с 10% р-ром ТХУ, флюориметрически определяли содержание норадреналина по методу Э.Ш. Матлиной в модификации В.Г. Подковкина [20] и серотонина по методу Г.Я. Прошиной в модификации В.Г. Подковкина [20]. В гомогенатах печени, приготовленных с 0,1 М фосфатным буфером pH 7,2, определяли содержание гликогена по реакции с антроновым реактивом после щелочного гидролиза [18] и малонового диальдегида (МДА) по реакции с тиобарбитуровой кислотой [17]. Концентрацию свободного и белковосвязанного оксипролина в плазме определяли по реакции с *n*-диметиламинобензальдегидом [17]. Содержание кальция в сыворотке измеряли на пламенном анализаторе жидкости (ПАЖ-2) согласно руководству по эксплуатации. Уровень фосфора в сыворотке анализировали по реакции с молибденовым реактивом [13]. Общую активность щелочной (ЩФ) и кислой фосфатаз (КФ), а также магния в сыворотке определяли наборами Bio-latest («Лахема», Чехия).

**Во второй** экспериментальной серии исследовали влияние термического стресса на морфофункциональное состояние костной ткани у крыс, содержащихся в группе и в социальной изоляции. Экспе-

риментальных животных делили на три группы: «ТС» (крысы подвергались термическому воздействию и содержались в группе), «ТС+Изоляция» (животные подвергались термическому воздействию и содержались в изоляции) и «Контроль» (крысы, содержащиеся в группе и не подвергавшиеся термическому воздействию).

Термический стресс у крыс воспроизводили, помещая животных по одному в камеру из фанеры размером 0,6×0,4×0,22 м, накрывающуюся крышкой из оргстекла. Воздух, нагретый электрокалорифером, подавался через множество отверстий диаметром 5 мм в полу камеры. В верхней части стенок камеры были сделаны по 6 закрывающихся отверстий диаметром 20 мм для регуляции скорости прохождения воздуха. Температура регулировалась с помощью реле с контактным термометром, к которому был подключен источник тепла. Во всех частях камеры температура воздуха была одинакова и составляла 70°C. Термическое воздействие проводили ежедневно с 9:00 до 12:00 в течение 7-ми сут, начиная с 31-го дня эксперимента, через 30 сут изоляции. В течение стрессового воздействия условия содержания животных сохранялись. Длительность первого термического воздействия составляла 10 мин, затем увеличивалась на 15 с каждый день для препятствия адаптации крыс. На следующий день по истечении срока экспериментального воздействия животных декапитировали. Кровь и органы декапитированных животных анализировали по схеме, описанной выше.

Результаты исследования представляли в виде средней арифметической и ошибки средней. Сравнение средних значений проводили методом дисперсионного анализа ANOVA. При множествен-

ных сравнениях использовали post hoc сравнение Бонферрони. В случае статистически значимого отличия дисперсий в группах по критерию Ливена средние сравнивали по критерию Манна-Уитни. Отличия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследований

**Влияние социальной изоляции на тревожность, функцию систем, обеспечивающих адаптацию, и состояние костной ткани крыс**

Результаты тестирования животных, содержащихся в 30-суточной социальной изоляции, в «открытом поле» обнаружили меньшее ( $p=0,039$ ), чем в контроле, латентное время выхода из центра ( $9,0 \pm 1,1$  с,  $n=18$

против  $13,8 \pm 1,6$  с,  $n=8$ ), а также меньшую ( $p=0,014$ ) относительно контроля длительность груминга ( $3,4 \pm 0,9$  с,  $n=18$  против  $15,5 \pm 4,5$  с,  $n=8$ ). Число пересечённых квадратов, вертикальных стоек, длительность замиранья, обнюхивания, количество дефекаций и уринаций у крыс группы «Изоляция» не отличались от контроля.

У животных, подвергавшихся изоляции, прирост массы тела в течение 30-ти сут составил  $62,8 \pm 4,1\%$  ( $n=12$ ) и по критерию Манна-Уитни был больше ( $p=0,007$ ), чем у крыс контрольной группы ( $43,7 \pm 4,9\%$ ,  $n=8$ ).

Относительные массы левого надпочечника и тимуса у крыс группы «Изоляция» не отличались от контроля (табл. 1).

Таблица 1

**Показатели функциональной активности систем, обеспечивающих адаптацию, и морфофункционального состояния костной ткани крыс, содержащихся в социальной изоляции**

Показатель	«Контроль», n=8	«Изоляция», n=12
<i>Относительная масса стресс-чувствительных органов</i>		
Левый надпочечник, %	0,019±0,001	0,018±0,001
Тимус, %	0,216±0,008	0,198±0,006
<i>Показатели функциональной активности ГГНС</i>		
11-ОКС в надпочечнике, мкг/г	53,74±2,65	45,40±1,71 <sup>a</sup>
11-ОКС в плазме, мкг/мл	0,634±0,053	0,489±0,023 <sup>a</sup>
11-ОКС в печени, мкг/г	13,13±2,27	10,49±1,33
<i>Показатели функциональной активности САС</i>		
Норадреналин в мозге, мкмоль/г	0,56±0,05	0,44±0,03 <sup>a</sup>
Адреналин в надпочечнике, мкг/г	0,98±0,09	1,20±0,06 <sup>a</sup>
Гликоген в печени, мг/г	44,37±1,80	49,79±1,44 <sup>a</sup>
МДА в печени, нмоль/г	205,18±16,28	156,88±11,35 <sup>a</sup>
<i>Биометрические показатели правой бедренной кости</i>		
Относительная масса, %	0,335±0,011	0,372±0,013
Длина кости, мм	27,87±0,63	28,53±0,44
Диаметр диафиза, мм	2,52±0,04	2,58±0,03
Плотность, г/см <sup>3</sup>	1,41±0,02	1,49±0,03 <sup>a</sup>
<i>Показатели обмена органического компонента костного матрикса</i>		
Свободный оксипролин, мг/мл	2,46±0,26	2,72±0,16
Белковосвязанный оксипролин, мг/мл	23,75±2,29	28,65±2,27
<i>Показатели обмена минерального компонента костного матрикса</i>		
Кальций, ммоль/мл	2,19±0,04	2,36±0,05 <sup>a</sup>
Фосфор, мг/мл	16,83±0,37	16,06±0,25
Магний, ммоль/мл	1,19±0,06	1,03±0,07
Щелочная фосфатаза, Ед/л	229,3±41,6	228,6±28,8
Кислая фосфатаза, Ед/л	12,5±0,8	12,9±0,7

Примечание: <sup>a</sup> – отличие от группы «Контроль» статистически значимо,  $p < 0,05$ .

Через 30 сут изоляции у крыс (табл. 1) наблюдались меньшие по сравнению с контролем уровень 11-ОКС в плазме (-22,9%,  $p=0,011$ ) и содержание 11-ОКС в надпочечнике (-15,5%,  $p=0,012$ ). Содержание 11-ОКС в печени крыс, подвергавшихся изоляции, не отличалось от контроля.

У животных, содержащихся в изоляции, обнаружено (табл. 1) меньшее, чем в контроле, содержание норадреналина в головном мозге (-21,4%,  $p=0,027$ ) и МДА в печени (-23,5%,  $p=0,022$ ), а также большее содержание адреналина в надпочечнике (+23,1%,  $p=0,043$ ) и гликогена в печени (+12,2%,  $p=0,030$ ).

Через 30 сут социальной изоляции содержание серотонина в головном мозге крыс не отличалось от сходных значений в контроле ( $1,97 \pm 0,23$  мкг/г против  $2,06 \pm 0,16$  мкг/г,  $p=0,769$ ).

Относительная масса, абсолютная длина и диаметр диафиза правой бедренной кости у изолированных и групповых крыс не отличались статистически значимо (табл. 1), хотя плотность правой бедренной кости у крыс группы «Изоляция» была больше, чем в контроле (+5,7%,  $p=0,049$ ).

У крыс группы «Изоляция» зарегистрирован больший, чем в контроле, уровень кальция в сыворотке (+7,8%,  $p=0,030$ ). Средние значения уровня фосфора, магния, активности ЩФ и КФ в сыворотке, свободного и белковосвязанного оксипролина в плазме животных группы «Изоляция» не отличались от контроля (табл. 1).

#### **Влияние термического стресса на состояние костной ткани крыс, содержащихся в социальной изоляции**

Средняя масса тела животных групп «ТС» и «ТС+Изоляция» в течение экс-

перимента не отличалась от контроля. Прирост массы тела по окончании эксперимента у крыс группы «Контроль» ( $26,6 \pm 2,8\%$ ,  $n=10$ ) был больше, чем у крыс групп «ТС» ( $18,8 \pm 2,0\%$ ,  $n=10$ ,  $p=0,037$ ) и «ТС+Изоляция» ( $19,4 \pm 1,2\%$ ,  $n=12$ ,  $p=0,047$ ). Отличий в значениях показателя между группами «ТС» и «ТС+Изоляция» обнаружено не было.

Через 7 сут термического воздействия значения относительной массы левого надпочечника у крыс групп «ТС» (+16,7%,  $p=0,035$ ) и «ТС+Изоляция» (+16,7%,  $p=0,012$ ) были больше, чем в контроле (табл. 2), но не отличались между собой. Относительная масса тимуса у животных групп «ТС» и «ТС+Изоляция» была меньше, чем в контроле, на 15,4% ( $p=0,015$ ) и 14,4% ( $p=0,017$ ), хотя не отличалась между группами.

В группе «ТС» наблюдался больший, чем в контроле, уровень 11-ОКС в плазме (+64,6%,  $p=0,032$ ) и содержание 11-ОКС в надпочечнике (+36,3 %  $p=0,033$ ). У животных группы «ТС+Изоляция» значения уровня 11-ОКС в крови и содержание 11-ОКС в надпочечнике не отличались от контроля. При этом отмечено меньшее, чем в группе «ТС» (-34,2%,  $p=0,003$ ), содержание 11-ОКС в надпочечнике. Содержание 11-ОКС в печени у крыс групп «ТС» и «ТС+Изоляция» не отличалось от контроля и между группами (табл. 2).

Содержание норадреналина в головном мозге животных группы «ТС+Изоляция» и «ТС» не отличалось от контроля, хотя у животных группы «ТС+Изоляция» содержание норадреналина в головном мозге было больше (+38,9%,  $p=0,043$ ), чем у крыс группы «ТС». Содержание адреналина в над-

почечнике у животных групп «ТС» (-29,6%,  $p=0,001$ ) и «ТС+Изоляция» (-24,7%,  $p=0,005$ ) было меньше контрольных значений показателя, но не отличалось между группами (табл. 2).

Содержание гликогена в печени крыс группы «ТС» было меньше, чем у контрольных животных (-28,2%,  $p=0,044$ ). У крыс группы «ТС+Изоляция» содер-

жание гликогена в печени не отличалось от контроля и животных группы «ТС».

Ежедневное термическое воздействие в течение 7-ми сут приводило к активации перекисного окисления мембран печени у крыс в виде большего (+42,3%,  $p=0,010$ ) содержания МДА в печени крыс группы «ТС» по сравнению с контролем. У крыс группы

Таблица 2

**Показатели функциональной активности систем, обеспечивающих адаптацию, и морфофункционального состояния костной ткани крыс, содержащихся в группе или в условиях социальной изоляции и подвергавшихся термическому воздействию**

Показатель	«Контроль», n=10	«ТС», n=10	«ТС+Изоляция», n=12
<i>Относительная масса стресс-чувствительных органов</i>			
Левый надпочечник, %	0,018±0,001	0,021±0,001 <sup>a</sup>	0,021±0,001 <sup>a</sup>
Тимус, %	0,208±0,005	0,176±0,008 <sup>a</sup>	0,178±0,008 <sup>a</sup>
<i>Показатели функциональной активности ГГНС</i>			
11-ОКС в надпочечнике, мкг/г	47,04±3,21	64,11±4,68 <sup>a</sup>	42,19±4,64 <sup>b</sup>
11-ОКС в плазме, мкг/мл	0,628±0,083	1,034±0,119 <sup>a</sup>	0,769±0,099
11-ОКС в печени, мкг/г	3,46±0,45	4,03±0,37	4,00±0,41
<i>Показатели функциональной активности САС</i>			
Норадреналин в мозге, мкмоль/г	0,573±0,037	0,478±0,049	0,664±0,060 <sup>b</sup>
Адреналин в надпочечнике, мкг/г	0,807±0,042	0,568±0,047 <sup>a</sup>	0,608±0,035 <sup>a</sup>
Гликоген в печени, мг/г	49,86±3,87	35,78±2,59 <sup>a</sup>	44,00±4,17
МДА в печени, нмоль/г	247,8±16,4	352,6±21,4 <sup>a</sup>	258,7±26,1 <sup>b</sup>
<i>Биометрические показатели правой бедренной кости</i>			
Относительная масса, %	0,259±0,009	0,248±0,009	0,252±0,008
Длина кости, мм	30,21±0,35	29,96±0,41	29,28±0,52
Диаметр диафиза, мм	2,64±0,04	2,59±0,05	2,57±0,06
Плотность, г/см <sup>3</sup>	1,60±0,06	1,24±0,05 <sup>a</sup>	1,36±0,08 <sup>a</sup>
<i>Показатели обмена органического компонента костного матрикса</i>			
Свободный оксипролин, мг/мл	2,16±0,09	2,79±0,11 <sup>a</sup>	2,29±0,10 <sup>b</sup>
Белковосвязанный оксипролин, мг/мл	40,10±1,62	41,72±1,99	37,20±1,16
<i>Показатели обмена минерального компонента костного матрикса</i>			
Кальций, ммоль/мл	2,17±0,10	1,75±0,14 <sup>a</sup>	1,96±0,06
Фосфор, мг/мл	16,76±1,01	21,92±1,85 <sup>a</sup>	18,11±1,20
Магний, ммоль/мл	1,18±0,04	1,29±0,04	1,22±0,03
Щелочная фосфатаза, Ед/л	230,6±27,4	131,3±20,4 <sup>a</sup>	197,8±26,1
Кислая фосфатаза, Ед/л	9,15±0,96	14,25±1,45 <sup>a</sup>	12,23±5,11

Примечания: <sup>a</sup> – отличие от группы «Контроль» статистически значимо; <sup>b</sup> – отличие от группы «ТС» статистически значимо,  $p<0,050$ .

«ТС+Изоляция» содержание МДА в печени не отличалось от контроля и было меньше (-26,6%,  $p=0,017$ ), чем у животных группы «ТС».

У животных группы «ТС» содержание серотонина в мозге ( $3,77 \pm 0,30$  мкг/г) было меньше ( $p=0,001$ ), чем в контроле ( $2,13 \pm 0,26$  мкг/г) и у крыс группы «ТС+Изоляция» ( $2,60 \pm 0,27$  мкг/г,  $p=0,016$ ). Содержание серотонина в мозге крыс групп «ТС+Изоляция» и «Контроль» не отличалось.

Относительная масса, абсолютные значения длины и диаметра правой бедренной кости у крыс групп «Контроль», «ТС» и «ТС+Изоляция» не отличались. Плотность правой бедренной кости у крыс групп «ТС» (-22,2%,  $p=0,002$ ) и «ТС+Изоляция» была (-15,0%,  $p=0,038$ ) меньше, чем у контрольных животных. Отличий по плотности правой бедренной кости у животных групп «ТС» и «ТС+Изоляция» обнаружено не было.

Уровень свободного оксипролина в плазме крыс группы «ТС» был выше, чем в контроле (+29,2%,  $p=0,001$ ) и в группе «ТС+Изоляция» (+21,8%,  $p=0,004$ ), что указывало на активное протекание процессов костной резорбции (табл. 2). У животных группы «ТС+Изоляция» уровень свободного оксипролина в плазме не отличался от контрольных значений. Уровень белковосвязанного оксипролина в плазме крыс групп «Контроль», «ТС» и «ТС+Изоляция» не отличался.

У крыс группы «ТС» зарегистрированы меньшие, чем в контроле, уровень кальция (-19,4%,  $p=0,022$ ) и активность ЩФ (-43,1%,  $p=0,023$ ) в сыворотке, и большие относительно контроля уровень фосфора (+30,8%,  $p=0,049$ ) и активность КФ (+55,7%,  $p=0,044$ ) в сыворотке. У крыс группы «ТС+Изоляция»

уровень кальция и фосфора в сыворотке, а также активности ЩФ и КФ в сыворотке не отличались от контроля и значений показателей в группе «ТС». Уровень магния в крови крыс групп «Контроль» «ТС» и «ТС+Изоляция» не отличался.

### Обсуждение результатов

В проведённом исследовании 30-суточная социальная изоляция не оказывала стрессующего эффекта, определяющегося по относительным массам левого надпочечника и тимуса, уровню 11-ОКС в плазме и содержанию адреналина в надпочечнике. Это обусловлено тем, что эффект социальной изоляции у крыс зависит от возраста, в котором животное подвергается воздействию. Так, социальная изоляция животных в возрасте 21-го дня после рождения приводит к нарушению поведения и может рассматриваться в качестве экспериментальной модели повышенной агрессивности с признаками когнитивного дефицита [12]. Начиная с 30-го дня после рождения, социальная изоляция снижает тревожность и ослабляет реакцию животных в условиях стресса [32].

В настоящем эксперименте социальная изоляция снижала тревожность животных в виде уменьшения латентного периода выхода из центра «открытого поля» и уменьшения длительности груминга. Длительность груминга рассматривается как показатель смещённой активности у грызунов [27], поэтому снижение этого показателя может свидетельствовать об уменьшении дезадаптации животных в условиях эмоционального стресса, вызванного помещением в «открытое поле».

На уровне регуляторных систем социальная изоляция снижала активность



ГГНС в виде уменьшения уровня 11-ОКС в крови и содержания гормонов в надпочечнике. Изменение обоих показателей свидетельствует о снижении синтеза и секреции гормонов, т.к. глюкокортикоиды синтезируются и секретуются клетками пучковой зоны коры надпочечников, но не депонируются в них [29]. Вместе с этим социальная изоляция снижала активность САС, о чем свидетельствовало увеличение содержания адреналина в надпочечниках и гликогена в печени, снижение содержания МДА в печени. Уменьшение тревожности, а также снижение функциональной активности ГГНС и САС животных, содержащихся в социальной изоляции, было ассоциировано со снижением содержания норадреналина в головном мозге. По-видимому, социальная изоляция снижала активность клеток голубого пятна и др. групп норадренергических нейронов мозга, регулирующих активность ГГНС и САС [28] и влияющих на тревожность [22].

Снижение функциональной активности ГГНС и САС у крыс, подвергавшихся социальной изоляции, усиливало пластический обмен животных, что проявлялось в увеличении содержания гликогена в печени, а также в увеличении прироста массы тела животных опытной группы по сравнению с контролем. Вероятно, усилением пластического обмена объясняется увеличение плотности бедренной кости крыс, подвергавшихся изоляции. В совокупности изменения, обусловленные социальной изоляцией у животных, можно рассматривать как увеличение резерва адаптации [5].

Многokратное термическое воздействие вызывало стрессовую реакцию, обнаруживающуюся по увеличению от-

носительной массы левого надпочечника и снижению относительной массы тимуса у животных. Вместе с этим у крыс наблюдались увеличение содержания 11-ОКС в крови и надпочечнике, снижение уровня адреналина в надпочечнике, содержания гликогена в печени, увеличение содержания МДА в печени, свидетельствующие об активации ГГНС и САС. На фоне термического стресса у животных обнаруживалась повышенная резорбция костной ткани, о чём свидетельствовало увеличение уровня свободного оксипролина в плазме – маркера деградации коллагена первого типа [3]; повышение активности КФ, увеличение уровня фосфора и снижение уровня кальция в сыворотке. При этом активность процессов синтеза костного матрикса, по-видимому, не повышалась, т.к. у крыс, подвергавшихся термическому стрессу, уровень белковосвязанного оксипролина в плазме – маркера синтеза коллагена первого типа [3] – не отличался от контроля, а активность ЩФ в сыворотке была даже меньше, чем в контроле. На органном уровне описанные процессы снижали плотность бедренной кости. Эти результаты согласуются с данными, полученными нами ранее [8, 15], а также данными др. авторов [31] и, вероятно, объясняются влиянием глюкокортикоидов [26] и катехоламинов [30] на клетки костной ткани.

У крыс, содержащихся в изоляции, термическое воздействие вызывало стрессовую реакцию в виде увеличения относительной массы левого надпочечника и уменьшения тимуса. В то же время содержание в изоляции снижало реактивность ГГНС при термическом воздействии, а также периферические эффекты катехоламинов, оцениваемые

по содержанию гликогена и МДА в печени, хотя содержание животных в социальной изоляции не влияло на активацию САС в виде снижения адреналина в надпочечнике при термическом стрессе. У животных, содержащихся в изоляции, при термическом стрессе не было обнаружено изменения биохимических маркеров метаболизма костной ткани, тем не менее, термическое воздействие снижало плотность бедренной кости. Отсутствие сдвигов биохимических маркеров метаболизма костной ткани, по-видимому, указывает на более быстрое торможение костной резорбции после прекращения действия стрессора и вместе со снижением тревожности может рассматриваться в качестве благоприятного эффекта социальной изоляции.

### Выводы

По результатам проведённого исследования можно заключить, что социальная изоляция крыс в возрасте 2-2,5 мес. приводила к снижению тревожности, активировала пластический обмен и увеличивала резерв адаптации. Многократное термическое воздействие вызывало стрессовую реакцию у крыс и усиливало резорбцию костной ткани. У животных, содержащихся в изоляции, наблюдались меньшая по сравнению с животными группового содержания активация систем, обеспечивающих адаптацию, и отсутствие сдвигов показателей метаболизма костной ткани в крови при термическом стрессе. Хотя социальная изоляция не влияла на увеличение относительной массы левого надпочечника, снижение относительной массы тимуса и уменьшение плотности бедренной кости при стрессе.

### Список литературы

1. *Автандилов Г.Г.* Основы количественной патологической анатомии. – М.: Медицина, 2002. – 238 с.
2. *Воробьева О.В.* Стресс-индуцированные психовегетативные реакции // Русский медицинский журнал. – 2005. – Т. 13. – № 12. – С. 798-801.
3. *Герасимов А.М., Фурцева Л.Н.* Биохимическая диагностика в травматологии и ортопедии. – М.: Медицина, 1986. – 240 с.
4. *Гриневич В.В., Акиев И.Г., Волкова О.В.* Основы взаимодействия нервной эндокринной и иммунной систем. – СПб: Symposium, 2004. – 159 с.
5. *Давиденко Д.Н.* Проблема резервов адаптации организма спортсмена // Ученые записки университета им. П.Ф. Лесгафта. – 2005. – № 18. – С. 15-24.
6. *Еникеев Д.А., Порядин Г.В.* Патофизиология экстремальных и терминальных состояний // В кн.: Патофизиология. Т. 3. – М.: Издательский центр «Академия», 2006. – 302 с.
7. *Жуков Д.А.* Биологические основы поведения. Гуморальные механизмы. – СПб: Издательство Р.Асланова «Юридический центр Пресс», 2004. – 457 с.
8. *Иванов Д.Г., Подковкин В.Г.* Влияние феназепема на метаболизм коллагена у крыс при тепловой нагрузке // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2009. – № 2. – С. 282-283.
9. *Иванов Д.Г., Семенов А.Н., Зайцева М.С.* Методика определения социального статуса самцов крыс в триадах // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 9. – С. 43-46.
10. *Каркищенко Н.Н., Уйба В.В., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б.* Очерки спортивной фармакологии. Т. 1. Векторы экстраполяции / Под ред. Н.Н. Каркищенко, В.В. Уйба. – М., СПб: Айсинг, 2013. – 288 с.
11. *Коплик Е.В., Салиева Р.М., Горбунова А.В.* Тест открытого поля как прогностический критерий устойчивости к эмоциональному стрессу у крыс линии Вистар // Журнал высшей нервной деятельности. – 1995. – Т. 45. – Вып. 4. – С. 775-781.
12. *Крупина Н.А., Хлебникова Н.Н., Орлова И.Н.* Ранняя социальная изоляция увеличивает агрессивность и нарушает кратковременное привыкание у крыс // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2015. – Т. 59. – № 4. – С. 4-15.

13. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник / Под ред. В.В. Миньшикова. – М., 1987. – 226 с.
14. Остеопороз / Под ред. О.М. Лесняк, Л.И. Беневоленской. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 272 с.
15. Подковкин В.Г., Иванов Д.Г. Состояние коры надпочечников и динамика содержания оксипролина у крыс при термическом воздействии // Вестник Самарского государственного университета. – 2006. – № 9. – С. 237-242.
16. Реан А.А., Кудашев А.Р., Баранов А.А. Психология адаптации личности. Анализ. Теория. Практика. – СПб: Прайм-Еврознак, 2006. – 479 с.
17. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – 392 с.
18. Соловьева Г.А., Зайцева Н.Н., Теленёва В.И. Углеводы и липиды // Практ. по биохимии. – М.: Издательство Московского университета, 1989. – С. 5-78.
19. Судаков К.В., Умрюхин П.Е. Системные механизмы эмоционального стресса. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 112 с.
20. Узлова М.В., Подковкин В.Г., Суздальцева Т.В., Лимарева Л.В., Захарова Е.М. Биохимические и иммунологические методы оценки регулирующих систем организма. – Куйбышев, 1989. – 32 с.
21. Фейнгерберг И.М. Мозг. Психика. Здоровье. – М.: Наука, 1972. – 112 с.
22. Borges G., Neto F., Mico J.A., Berrocoso E. Reversal of monoarthritis-induced affective disorders by diclofenac in rats // Anesthesiology. – 2014. – V. 120. – Pp. 1476-1490.
23. Brain P.F., Benton D. Conditions of housing, hormones and aggressive behavior // Hormones and aggressive behavior. – NY: Plenum Press, 1983. – Pp. 351-373.
24. Chrousos G.P. Stress and disorders of the stress system // Nat. Rev. Endocrinol. – 2009. – V. 5. – Pp. 374-381.
25. Everds N.E., Snyder P.W., Bailey K.L., Bolton B., Creasy D.M., Foley G.L., Rosol T.J., Sellers T. Interpreting Stress Responses during Routine Toxicity Studies: A Review of the Biology, Impact, and Assessment // Toxicologic Pathology. – 2013. – V. 41. – Pp. 560-614.
26. Frenkel B., White W., Tuckermann J. Glucocorticoid-Induced Osteoporosis // Glucocorticoid Signaling, Advances in Experimental Medicine and Biology 872. – NY: Springer Science+Business Media, 2015. – Pp. 179-215.
27. Kalueff A.V., Stewart A.M., Song C., Berridge K.C., Graybiel A.M., Fentress J.C. Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience // Nature Reviews: Neuroscience. – 2016. – V. 17. – Pp. 45-59.
28. Sawchenko P.E., Li H.Y., Ericsson A. Circuits and mechanisms governing hypothalamic responses to stress: a tale of two paradigms // Prog. Brain Res. – 2000. – V. 122. – Pp. 61-78.
29. Stocco D.M., Clark B.J. Role of the steroidogenic acute regulatory protein (StAR) in steroidogenesis // Biochem Pharmacol. – 1996. – V. 51. – No. 3. – Pp. 197-205.
30. Togari A., Arai M. Pharmacological topics of bone metabolism: the physiological function of the sympathetic nervous system in modulating bone resorption // J. Pharmacol. Sci. – 2008. – No. 106. – Pp. 542-546.
31. Valente F.L., Ferreira A.P.B.R., Costa L.D., Louzada M.J.Q., Patarroyo J.H., Vargas M.I. Effects of chronic mild stress on parameters of bone assessment in adult male and female rats // Pesquisa Veterinária Brasileira. – 2016. – V. 36. – Pp. 106-112.
32. Weintraub A., Singaravelu J., Bhatnagar S. Enduring and sex-specific effects of adolescent social isolation in rats on adult stress reactivity // Brain Research. – 2010. – V. 1343. – Pp. 83-92.

## References

1. Avtandilov G.G. Osnovy kolichestvennoi patologicheskoi anatomii [The basis of quantitative pathologic anatomy]. Moscow: Medicine. 2002. 238 p. (In Russian).
2. Vorobeva O.V. Stress-indutsirovannye psikovegetativnye reaktsii [Stress induced psychovegetative reactions]. Russkij medicinskij zhurnal [Russian Medical Journal]. 2005. V. 13. No. 12. Pp. 798-801. (In Russian).
3. Gerasimov A.M., Furtseva L.N. Biokhimicheskaya diagnostika v travmatologii i ortopedii [Biochemical diagnostic in traumatology and orthopedy]. Moscow: Medicine, 1986. 240 p. (In Russian).
4. Grinevich V.V., Akmaev I.G., Volkova O.V. Osnovy vzaimodeystviya nervnoy endokrinnoy i immunoy sistem [The basis of interaction nerve, endocrine and immune systems]. Saint-Petersburg: Symposium. 2004. 159 p. (In Russian).
5. Davidenko D.N. Problema rezervov adaptatsii organizma sportsmena [The problem of adaptation reserves of an athlete]. Uchenye zapiski universiteta im. P.F. Lesgafta [Scientific notes

- of the university of P.F. Lesgaft]. 2005. No. 18. P. 15-24. (In Russian).
6. **Yenikeev D.A., Poryadin G.V.** Patofiziologiya ekstremalnykh i terminalnykh sostoyaniy [Pathophysiology of extremal and terminal states]. V knige: Patofiziologiya. T. 3 [In the book: Pathophysiology. V. 3]. Moscow: Izdatel'skij centr «Akademija», 2006. 302 p. (In Russian).
  7. **Zhukov D.A.** Biologicheskie osnovy povedeniya. Gumoralnye mekhanizmy [Biological basis of behavior. Humoral mechanisms]. Saint-Petersburg: Izdatel'stvo R.Aslanova «Juridicheskij centr Press», 2004. 457 p. (In Russian).
  8. **Ivanov D.G., Podkovkin V.G.** Vliyanie fenazepama na metabolizm kollagena u krysov pri teplovoj nagruzke [The phenazepam effect on collagen metabolism in rat under thermal load]. Vestnik Ural'skoj medicinskoj akademicheskoy nauki [Journal of Ural Medical Academic Science]. 2009. No. 2. Pp. 282-283. (In Russian).
  9. **Ivanov D.G., Semenov A.N., Zaytseva M.S.** Metodika opredeleniya sotsialnogo statusa samtsov krysov v triadakh [The method of mail rat social status determination in triads]. Uspehi sovremennogo estestvoznaniya [Advances in current natural sciences]. 2014. No. 9. P. 43-46. (In Russian).
  10. **Karkischenko N.N., Uyba V.V., Karkischenko V.N., Shustov E.B.** Ocherki sportivnoy farmakologii. T. 1. Vektory ekstrapolyatsii [Essays of sport pharmacology. V. 1. The vectors of extrapolation]. Ed. by N.N. Karkischenko, V.V. Uyba. Moscow, Saint-Petersburg: Aysing, 2013. 288 p. (In Russian).
  11. **Koplik E.V., Salieva R.M., Gorbunova A.V.** Test otkrytogo polya kak prognosticheskiy kriteriy ustoychivosti k emotsionalnomu stressu u krysov linii Vistar [The open-field test as a prognostic criterion of resistance to emotional stress in Wistar rats]. Zhurnal vysshej nervnoj dejatel'nosti [J. of Higher Nervous Activity]. 1995. V. 45. No. 4. Pp. 775-781. (In Russian).
  12. **Krupina N.A., Khlebnikova N.N., Orlova I.N.** Rannyyaya sotsialnaya izolyatsiya uvelichivaet agressivnost i narushaet kratkovremennoe privykanie u krysov [Early social isolation increases aggression and impairs a short-term habituation in acoustic startle reflex in rats]. Patologicheskaja fiziologiya i jeksperimental'naja terapiya [J. of Pathophysiology and Experimental Therapy]. 2015. V. 59. No. 4. Pp. 4-15. (In Russian).
  13. **Laboratornye metody issledovaniya v klinike.** Spravochnik [The laboratory methods of investigation in clinic. Directory]. Ed. by V.V. Menshikov. Moscow. 1987. 226 p. (In Russian)
  14. **Osteoporoz [Osteoporosis].** Ed. by O.M. Lesnyak, L.I. Benevolenskaya. Moscow: GEOTAR-Media. 2009. 272 p. (In Russian).
  15. **Podkovkin V.G., Ivanov D.G.** Sostoyanie kory nadpochechnikov i dinamika sodержaniya oksiprolina u krysov pri termicheskom vozdeystvii [Adrenals state and oxiprolin content dynamics of rats under temperature effect]. Vestnik Samarskogo gosudarstvennogo universiteta [Bulletin of Samara State University]. 2006. No. 9. Pp. 237-242. (In Russian).
  16. **Rean A.A., Kudashev A.R., Baranov A.A.** Psihologiya adaptatsii lichnosti. Analiz. Teoriya. Praktika [The psychology of personality adaptation. Analysis. Theory. Practice]. Saint-Petersburg: Praym-Yevroznak. 2006. 479 p. (In Russian).
  17. **Sovremennyye metody v biokhimii [Current methods in biochemistry].** Ed. by V.N. Orekhovich. Moscow: Medicine, 1977. 392 p. (In Russian).
  18. **Soloveva G.A., Zaytseva N.N., Telepneva V.I.** Uglevody i lipidy [Carbohydrates and lipids]. Prakt. po biokhimii [Biochemical practicum]. Moscow: Izdatelstvo Moskovskogo universiteta. 1989. Pp. 5-78. (In Russian).
  19. **Sudakov K.V., Umryukhin P.E.** Sistemnyye mekhanizmy emotsionalnogo stressa [The systemic mechanisms of emotional stress]. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. 112 p. (In Russian).
  20. **Uglova M.V., Podkovkin V.G., Suzdaltseva T.V., Limareva L.V., Zakharova E.M.** Biokhimicheskie i immunologicheskie metody otsenki reguliruyushchikh sistem organizma [The biochemical and immunological methods of organism regulatory systems assessment]. Kuybyshev. 1989. 32 p. (In Russian).
  21. **Feynberger I.M.** Mozg. Psikhika. Zdorove [Braine. Psyche. Healph]. Moscow: Nauka. 1972. 112 p. (In Russian).
  22. **Borges G., Neto F., Mico J.A., Berrocoso E.** Reversal of monoarthritis-induced affective disorders by diclofenac in rats. Anesthesiology. 2014. V. 120. Pp. 1476-1490.
  23. **Brain P.F., Benton D.** Conditions of housing, hormons and aggressive behavior. Hormons and aggressive behavior. NY: Plenum Press, 1983. Pp. 351-373.
  24. **Chrousos G.P.** Stress and disorders of the stress system. Nat. Rev. Endocrinol. 2009. V. 5. Pp. 374-381.

25. *Everds N.E., Snyder P.W., Bailey K.L., Bolton B., Creasy D.M., Foley G.L., Rosol T.J., Sellers T.* Interpreting Stress Responses during Routine Toxicity Studies: A Review of the Biology, Impact, and Assessment. *Toxicologic Pathology*. 2013. V. 41. Pp. 560-614.
26. *Frenkel B., White W., Tuckermann J.* Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. *Glucocorticoid Signaling, Advances in Experimental Medicine and Biology* 872. NY: Springer Science+Business Media, 2015. Pp. 179-215.
27. *Kalueff A.V., Stewart A.M., Song C., Beridge K.C., Graybiel A.M., Fentress J.C.* Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. *Nature Reviews: Neuroscience*. 2016. V. 17. Pp. 45-59.
28. *Sawchenko P.E., Li H.Y., Ericsson A.* Circuits and mechanisms governing hypothalamic responses to stress: a tale of two paradigms. *Prog. Brain Res*. 2000. V. 122. Pp. 61-78.
29. *Stocco D.M., Clark B.J.* Role of the steroidogenic acute regulatory protein (StAR) in steroidogenesis. *Biochem Pharmacol*. 1996. V. 51. No. 3. Pp. 197-205.
30. *Togari A., Arai M.* Pharmacological topics of bone metabolism: the physiological function of the sympathetic nervous system in modulating bone resorption. *J. Pharmacol. Sci*. 2008. No. 106. Pp. 542-546.
31. *Valente F.L., Ferreira A.P.B.R., Costa L.D., Louzada M.J.Q., Patarroyo J.H., Vargas M.I.* Effects of chronic mild stress on parameters of bone assessment in adult male and female rats. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2016. V. 36. Pp. 106-112.
32. *Weintraub A., Singaravelu J., Bhatnagar S.* Enduring and sex-specific effects of adolescent social isolation in rats on adult stress reactivity. *Brain Research*. 2010. V. 1343. Pp. 83-92.

## **The social isolation effect on endurance to stress and bone resorption in rat under thermal stress**

**D.G. Ivanov, N.V. Alexandrovskaya**

The social isolation effect on endurance to stress and bone resorption in rat under thermal stress was investigated. The rats 2-2.5 months old were placed in social isolation for 30 days. The influence of daily thermal stress for 7 day on rats that were being in social isolation or in group was studied. The social isolation decreased of rat anxiety in open field, declined of blood and adrenal 11-oxycorticosteroids level, brain norepinephrine level and elevated adrenal epinephrine level, blood calcium level and femur density. In group being rat thermal load activated hypothalamo-pituitary-adrenal axis and sympathoadrenal system, elevated bone resorption, that were observed in increase of blood free hydroxyproline level, alkaline phosphatase activity and blood phosphorus level, reduction of blood calcium level and femur density. In rats that were underwent social isolation thermal load induced no changes of hypothalamo-pituitary-adrenal axis and bone resorption biochemical parameters, but elevated left adrenal relative mass and decreased femur density. This result suggest of positive social isolation effect on endurance to stress and bone resorption in rat under thermal stress.

**Key words:** rat, social isolation, stress, bone resorption.