

СТРЕССОРНЫЕ НАРУШЕНИЯ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ЖИВОТНЫХ ПРИ ИНТЕНСИВНОЙ СВЕТОВОЙ ДЕПРИВАЦИИ

Антипова О.Н.¹, Злобина О.В.¹, Киричук В.Ф.¹, Иванов А.Н.², Смышляева И.В.¹,
Жданова Д.Р.¹, Рубизова А.А.¹, Межидов Х.Ш.¹

¹ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, e-mail: anna.rubizova@mail.ru;

²НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Саратов

В ходе эксперимента изучали характер изменения поведенческих реакций белых крыс-самцов, подвергавшихся воздействию светового десинхроноза. В качестве модели светового десинхроноза использовали наиболее интенсивное воздействие световой депривации в течение 24 часов (LL). Были выбраны следующие временные точки: 1, 10 и 21 сутки воздействия стрессора. Для оценки показателей поведенческой активности животных использовали тестовые модели «Темно-светлая камера» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». Данные виды тестовых моделей наиболее популярны и информативны для наблюдения за поведением экспериментальных животных в состоянии стресса. На 1-е сутки эксперимента не наблюдалось ярко выраженной тенденции в изменении поведения животных, что выражалось разнонаправленными сдвигами показателей. Стрессорные повреждения организма развиваются на 10-е сутки воздействия светового десинхроноза, что доказывают максимальные значения показателей, отражающих вертикальную и горизонтальную двигательную активность и исследовательскую деятельность животных, которая проявляется в изменении количества и длительности выглядываний и выходов из темного отсека в светлый, выглядываний вниз и числа выходов в открытые рукава. На 21-е сутки воздействия стрессора наблюдается угнетение поведенческой активности животных. Это выражается угнетением исследуемых показателей, когнитивной функции, повышением уровня тревожности.

Ключевые слова: световой десинхроноз, белые крысы-самцы, темно-светлая камера, стресс.

STRESS DISORDERS OF BEHAVIORAL REACTIONS OF ANIMALS UNDER INTENSIVE LIGHT DEPRIVATION

Antipova O.N.¹, Zlobina O.V.¹, Kirichuck V.F.¹, Ivanov A.N.², Smyshliaeva I.V.¹,
Zhdanova D.R.¹, Rubizova A.A.¹, Mezhidov H.Sh.¹

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Saratov State Medical University named after V.I. Razumovskiy of the Ministry of Healthcare of Russia, Saratov, e-mail: anna.rubizova@mail.ru;

²Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Saratov

In the course of the experiment, we studied the nature of behavioral responses changes in white male rats exposed to light desynchronization. The most intensive effect of light deprivation within 24 hours (LL) was used as a model of light desynchronization. The following time points were chosen: days 1, 10 and 21 of exposure to stressor. To assess the behavioral activity indicators of animals, we used the test models "Dark-light box" and "Elevated cross-shaped labyrinth". These types of test models are the most popular and informative ones for behavior monitoring of test animals under stress. On the first day of the experiment, there was no clear tendency towards behavior change in animals, which was manifested through differently directed shifts of the indicators. Stressor damage to the body develops on the 10th day of exposure to light desynchronization, which is proved by the maximum values of the indicators reflecting the vertical and horizontal motor activity and exploratory activity of animals, which manifests itself through change in the number and duration of peeks and emergences from the dark compartment to the light one, how many times the animal looks down and the number of exits into the open sleeves. On the 21st day of the stressor's influence, the behavioral activity of animals is suppressed. It is expressed through suppression of indicators under study, cognitive function, and increased anxiety level.

Keywords: light desynchronization, white male rats, light-dark box, stress.

Образ жизни современного человека зачастую связан с продолжительным стрессом, перегрузками как физическими, так и умственными, длительными и краткосрочными командировками, отсутствием физиологического режима работы и отдыха. Нарушение

суточного цикла сон/бодрствование, работа в ночное время суток, перелеты через несколько часовых поясов, несоответствие астрономического времени поясному приводят организм человека к световому десинхронозу.

В Российской Федерации имеется 11 часовых поясов, в которых астрономическое время далеко не всегда соответствует поясному. Идеальная схема часовых поясов входит в противоречие с реальными границами стран и регионов, которые по возможности стараются ввести на все территории единое время, поскольку границы часового пояса являются определенным коммуникационным барьером [1].

Термин «десинхроноз» был предложен советским биоритмологом В.С. Алякринским. В настоящее время ученые говорят о негативных последствиях, которые влечет за собой световой десинхроноз [2].

Сбой внутренних часов и биоритмов приводит к бессоннице, хронической усталости, нарушению физической и умственной активности и, как следствие, к депрессии и стрессу [3].

Изучая световой десинхроноз, ученые сделали вывод о том, что не только человек подвержен данному патологическому состоянию, но и животные [4-6]. При нарушении нормального ритма жизни животные испытывают чувство тревоги и страха, следовательно, определяющими факторами являются эмоциональное состояние и человека, и животного [7; 8].

Ученые проводят различные опыты и исследования, чтобы до конца изучить и понять последствия светового десинхроноза и его влияние на организм животных [5; 6]. Анализ доступной российской и зарубежной литературы за последние 5-7 лет показал, что комплексного исследования поведенческих реакций животных под влиянием наиболее интенсивного воздействия световой депривации в течение 24 часов не проводилось. Это подчеркивает актуальность и своевременность нашего исследования.

Целью нашей работы является изучение поведенческих реакций и когнитивных функций животных на различных стадиях светового десинхроноза, а также сравнение нарушений при продолжительной интенсивной световой депривации.

Материалы и методы

Экспериментальное исследование было проведено на базе научной лаборатории кафедры нормальной физиологии им. И.А. Чуевского в соответствии с Женевской конвенцией и Хельсинкской декларацией о гуманном отношении к животным.

Исследование проводили на двух группах белых беспородных крыс-самцов: контрольной и опытной - на 1, 10 и 21-е сутки эксперимента. В каждой группе было по 18 животных, массой тела 200-250 г. Тестированию на 1, 10 и 21-е сутки подвергались одни и те же животные. Всего задействовано в эксперименте 36 особей. В ходе данного эксперимента

использовались только интактные животные (не использованные ранее в других экспериментах). Все животные находились в одинаковых условиях и на обычном рационе питания.

Световой десинхроноз моделировали путем изменения режима освещения в научной лаборатории. На животных опытных групп было оказано неестественное световое воздействие в течение 24 часов с помощью искусственного освещения, создаваемого лампой дневного света мощностью 60 Вт [4; 9]. Существует множество способов моделирования светового десинхроноза: 12 часов света и 12 часов темнота (LD), постоянное освещение (LL), постоянная темнота (DD). Для проведения нашего эксперимента была выбрана наиболее интенсивная модель изменения фоторежима (LL) [10].

В качестве тестовых моделей для наблюдения за поведением экспериментальных животных в состоянии стресса были выбраны тесты «Темно-светлая камера» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». Длительность тестирования в каждой установке составила 5 минут.

Тестовая модель «Темно-светлая камера» используется для регистрации изменения поведенческих реакций у экспериментальных животных, подвергающихся воздействию стрессора, и дает возможность оценить предпочтение животного находиться в темной или светлой зоне. Установка «Темно-светлая камера» включает два отсека – темный и светлый, между которыми имеется прямоугольное отверстие. При проведении эксперимента животное помещали в светлый отсек камеры, а темный отсек оставляли открытым. При анализе результатов эксперимента использовали такие показатели, как число и латентность выглядываний из темного отсека в светлый через отверстие в перегородке, а также количество выходов в светлый отсек, суммарная длительность выглядываний и выходов в освещенную часть камеры. Неспецифическим являлся показатель «Количество дефекаций» – число болюсов, обнаруженных в темном отсеке после окончания тестирования [2].

«Приподнятый крестообразный лабиринт» является стандартной методикой для изучения поведения животных в условиях переменной стрессогенности. Данная установка состоит из двух затемненных или закрытых участков (аналоги нор) и двух освещенных (открытых) участков, которые являются потенциально опасными для грызунов. Животное помещалось в центр платформы, в место пересечения «рукавов», носом в открытый рукав. Стресс от высаживания животных в незнакомое место усугублялся страхом высоты, поскольку лабиринт приподнят. В течение 5 минут фиксировались следующие показатели: количество стоек, количество выглядываний вниз, время пребывания в закрытых и открытых рукавах, время пребывания в центре, число выходов в открытые рукава, число переходов через центр, количество актов дефекации.

Полученные результаты были обработаны с помощью программы STATISTICA 10 (StatSoft, USA). Для сравнения показателей использовали U-критерий Манна-Уитни, поскольку большинство полученных в ходе эксперимента результатов не соответствовали закону нормального распределения. Значимыми считали изменения при $p < 0,05$.

Результаты

Анализ теста «Темно-светлая камера» показал, что на 1-е сутки воздействия светового десинхроноза наблюдается тенденция к уменьшению без достоверных статистических изменений специфических показателей: «Количество выглядываний из темного отсека в светлый» ($p = 0,206$, таблица 1), «Длительность выглядываний из темного отсека в светлый» ($p = 0,327$, таблица 1), «Длительность выходов из темного отсека в светлый» ($p = 0,327$, таблица 1), кроме показателя «Количества выходов из темного отсека в светлый» ($p = 0,261$, таблица 1), который имел тенденцию к увеличению по сравнению с группой контроля. Также происходит статистически достоверное ($p = 0,003$, таблица 1) увеличение количества актов дефекации, которое является неспецифическим показателем.

Таблица 1

Показатели поведенческих реакций белых крыс-самцов при использовании теста «Темно-светлая камера» на различных стадиях развития светового десинхроноза

Показатель	Контроль (n=18)	Опытная группа (1-е сутки) (n=18)	Опытная группа (10-е сутки) (n=18)	Опытная группа (21-е сутки) (n=18)
Количество выглядываний из темного отсека в светлый	2,5 (2;3)	2 (1;3) $p_1 = 0,206$	6,33 (5,75;7,25) $p_2 = 0,000006$	4,33 (1;7) $p_3 = 0,121$ $p_4 = 0,048$
Длительность выглядываний из темного отсека в светлый	8,17 (2;11)	5,67 (1;12) $p_1 = 0,327$	21,17 (13,25;24,5) $p_2 = 0,000564$	12,17 (4;18) $p_3 = 0,024$ $p_4 = 0,0062$
Количество выходов из темного отсека в светлый	1,5 (1;2)	2,17 (1;3) $p_1 = 0,261$	3,17 (3;4) $p_2 = 0,000032$	1,5 (1;2) $p_3 = 0,486$ $p_4 = 0,000072$
Длительность выходов из темного отсека в светлый	30,5 (22;36)	25,83 (18;33) $p_1 = 0,327$	80,22 (67,75;94,25) $p_2 = 0,000001$	32 (26;36) $p_3 = 0,16$ $p_4 = 0,00003$
Количество актов дефекации	0,5 (0;1)	1,5 (1;2) $p_1 = 0,003$	0,17 (0;0) $p_2 = 0,0665$	1 (0;2) $p_3 = 0,4$ $p_4 = 0,038$

Примечание: p_1 – статистически значимые различия опытной группы с воздействием светового десинхроноза на

1-е сутки по сравнению с группой контроля; p_2 – статистически значимые различия опытной группы с воздействием светового десинхроноза на 10-е сутки по сравнению с группой контроля; p_3 – статистически значимые различия опытной группы с воздействием светового десинхроноза на 21-е сутки по сравнению с группой контроля; p_4 – статистически значимые различия между опытными группами животных на 10-е и 21-е сутки эксперимента.

На 10-е сутки эксперимента наблюдалось достоверное увеличение всех специфических показателей по сравнению с группой контроля: «Количество выглядываний из темного отсека в светлый» ($p = 0,000006$, таблица 1), «Длительность выглядываний из темного отсека в светлый» ($p = 0,000564$, таблица 1), «Количество выходов из темного отсека в светлый» ($p = 0,000032$, таблица 1), «Длительность выходов из темного отсека в светлый» ($p = 0,000001$, таблица 1).

На 21-е сутки воздействия стрессора отмечается угнетение исследовательской деятельности животных по сравнению с опытной группой с воздействием светового десинхроноза на 10-е сутки эксперимента. Это выражается статистически значимыми различиями таких показателей, как «Количество выходов из темного отсека в светлый» ($p = 0,000072$, таблица 1), «Длительность выходов из темного отсека в светлый» ($p = 0,00003$, таблица 1). Также наблюдалось уменьшение значений следующих показателей: «Количество выглядываний из темного отсека в светлый» ($p = 0,048$, таблица 1), «Длительность выглядываний из темного отсека в светлый» ($p = 0,0062$, таблица 1), «Количество актов дефекации» ($p = 0,038$, таблица 1).

На 1-е сутки эксперимента при использовании теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» наблюдается статистически значимое уменьшение следующих показателей: «Количество выглядываний вниз» ($p=0,0011$, таблица 2), «Время пребывания в открытых рукавах» ($p=0,000001$, таблица 2), «Время пребывания в центре» ($p=0,0018$, таблица 2), «Число выходов в открытые рукава» ($p=0,000001$, таблица 2), «Число переходов через центр» ($p=0,000001$, таблица 2), кроме показателей «Количество стоек» ($p=0,0237$, таблица 2) и «Время пребывания в закрытых рукавах» ($p=0,00007$, таблица 2), которые статистически достоверно увеличивались. При этом не происходит изменения показателя «Количество актов дефекаций» ($p=1$, таблица 2).

Таблица 2

Показатели поведенческих реакций белых крыс-самцов при использовании теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» на различных стадиях развития светового десинхроноза

Показатель	Контроль (n=18)	Опытная группа (1-е сутки) (n=18)	Опытная группа (10-е сутки) (n=18)	Опытная группа (21-е сутки) (n=18)
------------	--------------------	--	---	---

Количество стоек	7,5 (5;10)	10,5 (9;11) $p_1 = 0,0237$	9,67 (8;11) $p_2 = 0,048$	8,17 (7;10) $p_3 = 0,58$ $p_4 = 0,09$
Количество выглядываний вниз	9,5 (6;11)	4,17 (1;9) $p_1 = 0,0011$	8 (0;13) $p_2 = 0,8992$	3,5 (2;5) $p_3 = 0,000011$ $p_4 = 0,048$
Время пребывания в закрытых рукавах	178,17 (153;219)	263,5 (249;287) $p_1 = 0,00007$	190,33 (130;300) $p_2 = 0,788$	223 (186;269) $p_3 = 0,0237$ $p_4 = 0,4018$
Время пребывания в открытых рукавах	81,33 (50;103)	12,5 (0;19) $p_1 = 0,000001$	95,17 (0;160) $p_2 = 0,58$	18,17 (0;28) $p_3 = 0,000021$ $p_4 = 0,024$
Время пребывания в центре	39,33 (21;67)	20,67 (10;31) $p_1 = 0,0018$	39,67 (0;67) $p_2 = 1$	43 (20;72) $p_3 = 0,58$ $p_4 = 0,4864$
Количество актов дефекации	0,17 (0;0)	0,17 (0;0) $p_1 = 1$	0 (0;0) $p_2 = 0,4018$	0,17 (0;0) $p_3 = 1$ $p_4 = 0,4$
Число выходов в открытые рукава	4,33 (3;4)	0,83 (0;2) $p_1 = 0,000001$	2,67 (0;5) $p_2 = 0,0237$	1,5 (0;3) $p_3 = 0,000006$ $p_4 = 0,4$
Число переходов через центр	6,5 (5;7)	2 (1;3) $p_1 = 0,000001$	4,67 (0;7) $p_2 = 0,2614$	3,58 (2;6) $p_3 = 0,0018$ $p_4 = 0,43$

Примечание: p_1 – статистически значимые различия опытной группы с воздействием светового десинхроноза на 1-е сутки по сравнению с группой контроля; p_2 – статистически значимые различия опытной группы с воздействием светового десинхроноза на 10-е сутки по сравнению с группой контроля; p_3 – статистически значимые различия опытной группы с воздействием светового десинхроноза на 21-е сутки по сравнению с группой контроля; p_4 – статистически значимые различия между опытными группами животных на 10-е и 21-е сутки эксперимента.

На 10-е сутки воздействия светового десинхроноза наблюдается тенденция к увеличению без достоверно значимых изменений показателей «Время пребывания в закрытых рукавах» ($p=0,788$, таблица 2), «Время пребывания в открытых рукавах» ($p=0,58$, таблица 2) и «Время пребывания в центре» ($p=1$, таблица 2). Показатель «Количество стоек» достоверно увеличивался ($p=0,048$, таблица 2). Прослеживается тенденция к уменьшению следующих показателей: количество выглядываний вниз ($p=0,8992$, таблица 2), количество актов дефекации ($p=0,4018$, таблица 2), число переходов через центр ($p=0,2614$, таблица 2), число выходов в открытые рукава ($p=0,0237$, таблица 2). На 21-е сутки воздействия стрессора наблюдается угнетение исследуемой активности животных по сравнению с опытной группой

при воздействии светового десинхроноза на 10-е сутки эксперимента. Об этом свидетельствует тенденция к увеличению следующих показателей: время пребывания в закрытых рукавах ($p=0,4018$, таблица 2), время пребывания в центре ($p=0,4864$, таблица 2) и количество актов дефекации ($p=0,4$, таблица 2). Также наблюдалось статистически значимое уменьшение таких показателей, как «Количество выглядываний вниз» ($p=0,048$, таблица 2) и «Время пребывания в открытых рукавах» ($p=0,024$, таблица 2). Значения остальных показателей уменьшились: «Количество стоек» ($p=0,09$, таблица 2), «Число выходов в открытые рукава» ($p=0,4$, таблица 2), «Число переходов через центр» ($p=0,43$, таблица 2).

На фоне 21-дневного круглосуточного освещения отмечалось максимальное развитие стресса, что выражается в угнетении исследовательской деятельности; так, уменьшается количество стоек и количество выглядываний вниз. Также наблюдается увеличение уровня тревожности, о чем свидетельствуют увеличение времени пребывания в закрытых рукавах.

Обсуждения

Десинхроноз бывает внешним (вызванным перелетом в другой часовой пояс) и внутренним (постоянная загруженность и нарушение естественного цикла). Внешний десинхроноз проходит быстро и не вызывает опасных последствий, а вот внутренний влечет за собой постоянный стресс, проявляющийся чувством тревоги и страха [11].

Биоритмы живого организма находятся под контролем супрахиазматического ядра, расположенного в гипоталамусе [9]. В свою очередь гипоталамус влияет на синтез мелатонина, вырабатываемого особыми клетками эпифиза – пинеалоцитами [12]. Следствием светового десинхроноза как стрессорного фактора является снижение секреции так называемого гормона ночи - мелатонина, одной из функций которого является регуляция деятельности многих систем организма, в частности эндокринной. В эксперименте были смоделированы условия круглосуточного освещения, что явилось причиной возникновения стресса у животных. В связи с этим снижается уровень секреции ночного мелатонина, ведь именно в ночные часы в период наименьшей освещенности вырабатывается большая часть его суточного количества (до 70%). Недостаток мелатонина вызывает повышение уровня катехоламинов в крови, что наблюдалось на 1-е и 10-е сутки эксперимента. Известно, что нейроны гиппокампа ответственны за хранение пространственной информации. При длительном стрессе под действием катехоламинов снижается сигнализация нейронов гиппокампа, что способствует дефициту когнитивной функции, что наблюдалось на 21-е сутки [13].

Данные наших исследований согласуются с результатами изменений этологического статуса и когнитивной функции при экспериментальном десинхронозе в условиях светодиодного освещения [13], работоспособности крыс под влиянием световой или

темновой депривации [14], поведенческой активности крыс в «Открытом поле» после световой или темновой деприваций и физического переутомления [15].

Выводы

1. Световая депривация приводит к изменениям в поведении у белых крыс-самцов, которые развиваются поэтапно.

2. При анализе результатов было выявлено, что у экспериментальных животных с воздействием стрессора на 10-е сутки наблюдается максимальный уровень исследовательской и двигательной активности. На 21-е сутки эксперимента значение всех специфических показателей уменьшается.

Список литературы

1. Зырянов А.И. О применении поясного времени // Географический вестник. – 2013. - № 1 (24). – С. 13-17.
2. Современные представления о десинхронозе / А.А. Зарипов [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. - № 3.; URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=19744> (дата обращения: 15.06.2018).
3. Костенко Е.В. Десинхроноз как один из важнейших факторов возникновения и развития цереброваскулярных заболеваний / Е.В. Костенко, Т.М. Маневич, Н.А. Разумов // Лечебное дело. – 2013. – Вып. 2. – С. 104-116.
4. Антонова В.М. Структурные изменения почечных тканей при экспериментальном моделировании светового десинхроноза / В.М. Антонова, О.В. Злобина // Фундаментальная наука в современной медицине 2017: материалы сателл. дистанцион. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых (Минск, 3 марта 2017 г.) / Белорус. гос. мед. ун-т; под ред. А. В. Сикорского [и др.]. - Минск: БГМУ, 2017. – С. 16-18.
5. Влияние светового десинхроноза на регуляторные механизмы микроциркуляторного русла в условиях эксперимента / И.А. Мамонова [и др.] // Сборник научных трудов НИИТОН СГМУ. - Саратов: Амирит, 2017. – С. 272.
6. Изменения микроциркуляции и гемокоагуляции при экспериментальном световом десинхронозе / К.И. Журкин [и др.] // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2016. - № 3 (67). – С. 164-166.
7. Воздействие непрерывного режима терапевтического облучения на поведенческие реакции у белых крыс-самцов в условиях длительного гипокинетического стресса / В.Ф. Киричук [и др.] // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2017. - № 5. – С. 28-34.
8. Сравнительная эффективность различных временных режимов воздействия волн

терагерцевого диапазона частот оксида азота на поведенческие реакции белых крыс-самцов в условиях стресса / В.Ф. Киричук [и др.] // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2012. - № 6. – С. 436-441.

9. Световой десинхроноз и риск злокачественных новообразований у лабораторных животных: состояние проблемы / В.Н. Анисимов [и др.] // Вопросы онкологии. – 2014. – Т. 60, № 2. – С. 15-27.

10. Виноградова И.А. Сравнительное изучение влияния различных световых режимов на психоэмоциональные проявления и двигательную активность у крыс // Вестник НГУ. – 2006. – Т. 4, № 2. – С. 69-77.

11. Губин Г.Д. Классификация десинхронозов по причинному фактору и механизмам развития. Два принципа хронотерапии десинхроноза / Г.Д. Губин, Д.Г. Губин // Фундаментальные исследования. – 2004. – № 1. – С. 50.

12. Нестерова М.В. Мелатонин – адаптоген с мультимодальными возможностями // Медицинский совет. – 2015. - № 18. – С. 50-53.

13. Этологический статус и когнитивная функция при экспериментальном десинхронозе в условиях светодиодного освещения / М.В. Осиков [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1-7. – С. 1392-1396.

14. Влияние световой или темновой депривации на работоспособность и уровень лактата в крови крыс / А.А. Гостюхина [и др.] // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2016. – Т. 102, № 5. – С. 584-589.

15. Поведенческая активность крыс в «Открытом поле» после световой или темновой деприваций и физического переутомления / А.А. Гостюхина [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2016. - № 3. – С. 16-23.