

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

СРАВНЕНИЕ УРОВНЯ КОРТИКОСТЕРОНА В МОЧЕ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ, СОДЕРЖАВШИХСЯ В РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ

К. П. Авимова

Белорусский государственный университет;

avimova@gmail.com;

науч. рук. – Д. Б. Сандаков, канд. биол. наук, доц.

Условия содержания могут влиять на физиологические показатели лабораторных животных. Некоторые факторы среды способны вызывать стресс, его маркером у грызунов является свободный кортикостерон в моче. Мы сравнили этот показатель для двух групп мышей, содержащихся в различных условиях. У мышей, содержащихся попарно в небольших клетках, уровень кортикостерона был достоверно ниже, чем у мышей, содержащихся вместе с десятками разнополых сородичей в больших ящиках.

Ключевые слова: лабораторные животные, условия содержания, кортикостерон.

ВВЕДЕНИЕ

На поведение и физиологические показатели лабораторных животных влияют различные факторы среды, в частности, содержание в малых и больших группах, размеры и структура жизненного пространства.

Так, ближайшие родственники лабораторных мышей *Mus musculus* в природе живут семьями (колониями). В естественной среде животные могут расселяться, дистанцироваться друг от друга и таким образом избегать слишком частых взаимодействий. При слишком тесном содержании в неволе между животными чаще возникают конфликты [1, 2], что может приводить к хроническому стрессу и сказываться на физиологическом и эмоциональном состоянии животных и влиять на их поведение. К примеру, формирование деспотических иерархий в группах лабораторных мышей сопряжено с проявлениями агрессии повышенной продукцией кортикостерона у субординантов [3].

С одной стороны, хронический стресс изменяет физиологические показатели (активность гипофизарно–надпочечниковой системы, размеры вилочковой железы и надпочечников); с другой – вызывает долговременные поведенческие эффекты [4]. Всё это может исказить результаты экспериментов, так как не даёт объективно оценить реакцию животных на экспериментальные воздействия.

Маркером хронического стресса у грызунов является уровень свободного кортикостерона, содержащегося в моче. Этот показатель позволяет оценить «базовый» уровень продукции кортикостерона (а не моментный, как при анализе крови) и сравнить животных из разных групп по этому параметру: чем выше этот показатель, тем активнее вырабатывается кортикостерон, что может свидетельствовать о хроническом стрессе.

В нашем эксперименте мы проверили, различается ли содержание кортикостерона в моче мышей, содержащихся в разных условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Мы взяли две группы лабораторных мышей. Животные из первой группы в течение 4 месяцев содержались попарно в клетках 30х20 см. Вторую группу составили мыши, содержащиеся в стандартных ящиках размерами 95х40 либо 65х40 см в компании десятков сородичей.

Для эксперимента мы случайным образом отобрали по 8 самцов из каждой группы.

Сбор мочи осуществлялся по методике [5]. Мыши были одновременно помещены в пластиковые клетки по одному до мочеиспускания, но не более чем на 50 минут. За отведённое время помочилось 5 мышей из первой группы и 4 мыши из второй группы. Моча собиралась пластиковой пипеткой, переносилась в пробирки типа «Эппендорф» и была заморожена при сверхнизкой температуре.

Биохимический анализ был проведён спустя три недели. Сначала мы выделили из образцов кортикостерон по модифицированной методике Балашова [6], а затем определили его количественное содержание с помощью спектрофлуориметрии [6, 7]. Суть модификации метода Балашова: так как в моче кортикостероидов значительно меньше, чем в плазме, мы увеличили объём мочи в два раза, не изменив количества остальных реактивов. Это соответствует описанным в литературе приёмам работы с мочой (см., например, [8]).

Этапы работы с образцами:

1. К 0,2 мл мочи добавили 1,5 мл метиленхлорида, пробирки встряхивали на лабораторной качалке в течение 3 мин и заморозили на 20 мин. После этого слой метиленхлорида перенесли в чистую пробирку и добавили 0,5 мл свежеприготовленного флуоресцентного реактива (абсолютный этиловый спирт и концентрированная серная кислота, 3:7, приготовлен при охлаждении). После встряхивания на лабораторной качалке в течение 3 мин удалили органическую фазу, образцы оставили на 1,5 часа.

2. В подготовленных образцах измерили флуоресценцию ($\lambda_{\text{погл.}}$ 470 нм, $\lambda_{\text{эмис.}}$ 530 нм).

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рисунке указаны средние уровни интенсивности образцов в каждой из групп. Так, для мышей, содержащихся попарно, этот показатель (СО) составил 0,94 (0,221), а для мышей, содержащихся массово, – 1,62 (0,219). Разница является статистически значимой (критерий Манна–Уитни, $\alpha=0,016$).

Интенсивность флуоресценции указывает на содержание вещества в образцах: в нашем случае чем она сильнее, тем больше кортикостерона в моче.

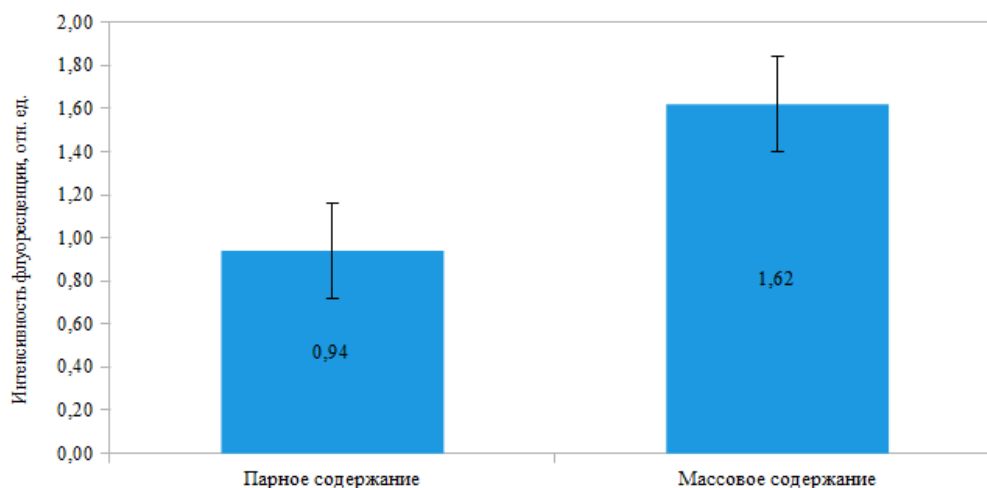


Рис. Уровень кортикостерона в моче мышей

Наш эксперимент показал, что у лабораторных мышей, содержащихся в разных условиях, есть разница в продукции кортикостерона. Так, у мышей, содержащихся попарно уровень кортикостерона ниже, чем у мышей, содержащихся вместе с десятками сородичей. Это может говорить о том, что при массовом содержании животные испытывают более сильный стресс чем при парном содержании.

Библиографические ссылки

1. Bayne, K. The impact of environmental enrichment on the outcome variability and scientific validity of laboratory animal studies. / K. Bayne, H. Würbel // *Rev. Sci. Tech.* – 2014. – Vol. 33, № 1. – P. 273–80.
2. Girbovan, C. Environmental enrichment in female rodents: Considerations in the effects on behavior and biochemical markers / C. Girbovan, H. Plamondon // *Behav. Brain Res.* – 2013. – Vol. 253 – P. 178–190.
3. Social context-dependent relationships between mouse dominance rank and plasma hormone levels / C.M. Williamson [et al.] // *Physiol. Behav.* – 2017. – Vol. 171 – P. 110–119.
4. Long-term behavioral and neuroendocrine alterations following chronic social stress in mice: Implications for stress-related disorders / V. Sterlemann [et al.] // *Horm. Behav.* – 2008. – Vol. 53, № 2. – P. 386–394.
5. Nesting material as environmental enrichment has no adverse effects on behavior and physiology of laboratory mice / H.A. Van De Weerd [et al.] // *Physiol. Behav.* – 1997. – Vol. 62, № 5. – P. 1019–1028.
6. Балашов, Ю.Г. Способ определения кортикостероидов в плазме крови экспериментальных животных. / Ю.Г. Балашов. – 1991.
7. SILBER, R.H. Practical procedure for estimation of corticosterone or hydrocortisone. / R.H. SILBER, R.D. BUSCH, R. OSLAPAS // *Clin. Chem.* – 1958. – Vol. 4, № 4. – P. 278–285.
8. Martin, M.M. Simultaneous determination of cortisol and corticosterone in urine / M.M. Martin, A.L.A. Martin, M.E. McManus // *Clin. Chim. Acta.* – 1970. – Vol. 27, № 3. – P. 379–383.