

УДК 616.619-092.616-092.11

МИНУСЫ И НЕОЖИДАННЫЕ ПРЕИМУЩЕСТВА РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА СТАРЫХ КРЫС ВИСТАР ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА

© 2023 г. М. В. Кондашевская^{1,*}, К. А. Артемьева¹, М. А. Козлова¹,
Д. А. Арешидзе¹, член-корреспондент РАН Л. В. Кактурский¹

Поступило 15.05.2023 г.
После доработки 02.06.2023 г.
Принято к публикации 05.06.2023 г.

При моделировании посттравматического стрессового расстройства (ПТСР), у старых крыс Вистар проявляются те же общие признаки ПТСР-подобного состояния, что и у молодых животных. Впервые примененный в работе индекс отношения уровня тестостерона к кортикостерону может служить ориентиром для разделения популяции крыс на низко- и высокотревожных особей при моделировании ПТСР. У старых крыс выявлен ряд особенностей поведения, психоэмоциональных и гормональных проявлений, а также состояния миокарда. Впервые установлено, что при стрессе у старых крыс, в отличие от молодых, наблюдается резкий подъем уровня циркулирующего тестостерона, который способствует более быстрому принятию решения о направлении движения в лабиринтном пространстве. Приоритетными являются данные о дисфункциональном накоплении митохондрий в миокарде интактных и стрессированных старых крыс. Полученные сведения могут быть полезны при разработке лекарственных средств от разрушительных последствий ПТСР, а также старческих изменений миокарда.

Ключевые слова: старые крысы Вистар, посттравматическое стрессовое расстройство, ориентация в пространстве, тестостерон, дисфункциональное накопление митохондрий в миокарде

DOI: 10.31857/S268673892360036X, **EDN:** SYPXCS

ВВЕДЕНИЕ

Старение — это процесс, характеризующийся функциональными и морфологическими изменениями, которые приводят к истощению или полному прекращению функционирования клеток, тканей и органов. В частности, в головном мозге происходит ряд инволютивных изменений, которые в процессе физиологического старения могут predispose к формированию когнитивной недостаточности, ухудшению памяти, способности к ориентации в пространстве и др. [1]. В качестве рекомендаций для пожилых людей большинство клиницистов и исследователей советуют избегать стрессовых ситуаций, чтобы не подвергать сердечно-сосудистую систему избыточным нагрузкам. Однако в последнее время эта уверенность во вреде стресса для пожилых людей,

у которых в базовом состоянии нет клинической деменции, инсульта и сердечной недостаточности, подвергается сомнению [2].

На текущий момент во всех странах мира отмечается значительный рост такой психопатологии, как посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР). ПТСР — это тяжелое психическое заболевание, возникающее в результате чрезвычайных стрессорных событий, оказывающих сверхмощное негативное воздействие на психику индивида. Наиболее часто ПТСР рассматривается как психотравмирующее последствие пребывания в боевой обстановке, что в наши дни очень актуально [3]. Поскольку в такие ситуации попадают люди преимущественно молодого и среднего возраста, изучение реакции их организма на стресс в приоритете. В связи с этим чрезвычайно мало работ по изучению подверженности старых людей и лабораторных животных развитию ПТСР. Для молодых индивидов и особей достаточно давно установлено, что для этого заболевания более характерно снижение уровня основного гормона стресса — кортикостерона [4]. В то же время до сих пор среди исследователей нет единого мнения о характере изменений уров-

¹Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского”, Москва, Россия

*e-mail: marivladiko@mail.ru

ня тестостерона — основного анаболического гормона, участвующего в перераспределении энергии для обеспечения адаптации молодых людей и животных в ответ на стрессорные воздействия. Информация о характере изменений уровня кортикостерона и тестостерона в крови старых людей и лабораторных животных при ПТСР еще более неопределенна.

Цель данного исследования — изучение особенностей поведения, психоэмоциональных проявлений, изменений уровня кортикостерона и тестостерона в крови, а также морфофункционального состояния миокарда у старых крыс Вистар при моделировании ПТСР.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на аутбредных крысах-самцах Wistar в возрасте 4–5 мес ($n = 30$, масса тела 210–230 г) и 23–24 мес ($n = 30$, масса тела 760–850 г). Крыс содержали в стандартных условиях со свободным доступом к воде и полноценному гранулированному корму. Первоначально животные были разделены на 4 группы: 1 — интактные молодые животные ($n = 10$); 2 — молодые крысы, подвергавшиеся предаторному стрессу ($n = 20$); 3 — интактные старые крысы ($n = 10$); 4 — старые животные, подвергавшиеся предаторному стрессу ($n = 20$).

Все экспериментальные процедуры проводились в соответствии с Директивой Европейского парламента 2010/63/ЕС “О защите животных, используемых в экспериментальных целях” (от 22.09.2010). Исследование одобрено Комитетом по биоэтике Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского” (протокол № 34, 2022 г.).

В работе использовали модель ПТСР, описанную Н. Cohen и соавт. (2013), модифицированную в наших исследованиях [5, 6]. Предаторный стресс (страх жертвы перед хищником) индуцировали, подвергая крыс воздействию запаха кошачьей мочи в течение 10 мин ежедневно в течение 10 сут. Затем животных помещали в обычные условия вивария на 14 сут. Контрольная группа крыс в течение всех этих 24 сут находилась в состоянии покоя.

Тестирование поведения

Перед выведением животных из эксперимента, их тестировали в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ) — метод, регулярно использующийся в наших предыдущих исследованиях [6], имеющий большую популярность также и у других исследователей [7]. Тестирование в

ПКЛ позволяет разделить популяцию стрессированных крыс на устойчивых — низкотрещовных и неустойчивых к стрессу — высокотрещовных особей. Всех животных тестировали слепым методом. Общая продолжительность теста в нашей модификации составляет 600 с (10 мин). Поведение крыс регистрировали и отслеживали с помощью видеосистемы SMART (Китай), анализировали с помощью программного обеспечения SMART 3.0. Фиксировали количество заходов и время нахождения в открытых и закрытых рукавах ПКЛ. На основании этих измерений рассчитывали индекс трещовности (ИТ) [5]:

$$\text{ИТ} = 1 - \left[\left(\frac{\text{ВОР}}{\text{ВТ}} + \frac{\text{ЧЗОР}}{\text{СЗ}} \right) / 2 \right]$$

ВОР — время в открытых рукавах, ВТ — время тестирования (600 с), ЧЗОР — число заходов в открытые рукава, СЗ — сумма всех заходов.

Кроме того, регистрировали: локомоторную активность (ЛА — число зон, пересекаемых за 600 с), число и виды психоэмоциональных проявлений, разделенных на классы: контекстные (остановки, стойки, колебания в развилках), пассивно оборонительные (груминг, сидение, замирание), активно оборонительные (грызение стенок и пола, чихание, отряхивание, стучание зубами, испуг, выпрыгивание) [8]. Для регистрации поведенческих и психоэмоциональных проявлений использовали компьютерную программу Labyrinth (авторы К.А. Никольская и А.И. Осипов).

Иммуноферментный анализ (ИФА)

В конце эксперимента у крыс брали кровь из хвостовой вены. В плазме крови определяли уровень кортикостерона (“IBL”, Германия) и тестостерона (“DVC”, Канада), используя иммуноферментные наборы, с помощью микропланшетного иммуноферментного анализатора (“ANTHOS 2010”, Австрия).

Гистохимические методы исследования

Животных под наркозом подвергали декаптации, извлекали сердце. Объектом исследования служил миокард левого желудочка молодых и старых крыс в норме и после стрессирования. Предметом исследования явились: 1) структурные изменения в миокарде на светооптическом уровне при окраске ГОФП по J.T. Lie; 2) ультраструктурные изменения в миокарде.

По стандартным методикам кусочки миокарда фиксировали в 10% нейтральном формалине, заливали в парафин, изготавливали срезы толщиной 5–7 мкм, которые окрашивали гистохимическим методом ГОФП по J.T. Lie. Окраска была разработана J.T. Lie и соавт. в 1971 г. для выявления ишемических—гипоксических изменений

Таблица 1. Показатели поведения при тестировании в приподнятом крестообразном лабиринте и индекс отношения уровня тестостерона к кортикостерону крыс Вистар Ме (25%; 75%)

Возраст	Молодые крысы			Старые крысы		
Показатели	Контроль (<i>n</i> = 10)	Низкотре- вожные (<i>n</i> = 11)	Высокотре- вожные (<i>n</i> = 9)	Контроль (<i>n</i> = 10)	Низкотре- вожные (<i>n</i> = 11)	Высокотре- вожные (<i>n</i> = 9)
Число заходов в открытые рукава ПКЛ	6.4 (4.4; 8.8)	5.3 (3.1; 7.3)	3.4*# (2.3; 4.5)	3.2^ (1.5; 4.5)	2.4& (1.5; 3.5)	1.6*#& (1.0; 2.3)
Время в открытых рукавах ПКЛ	217.1 (176.6; 257.5)	162.1 (90.1; 237.5)	128.1*# (50.1; 225.3)	93.1^ (40.1; 150.2)	63.1^& (35.1; 90.2)	42.1*#& (30.0; 57.5)
Локомоторная активность, число зон за 600 с	98.9 (73.8; 132.8)	63.3* (43.8; 85.1)	47.3*# (32.8; 61.5)	70.1^ (53.8; 83.8)	50.2* (28.2; 69.1)	15.9*#& (11.5; 19.8)
Индекс тревожности	0.63 (0.53; 0.70)	0.64 (0.55; 0.73)	0.78*# (0.73; 0.85)	0.75^ (0.69; 0.81)	0.78& (0.72; 0.84)	0.82*# (0.78; 0.86)
Индекс Т/К	0.046 (0.038; 0.053)	0.049 (0.035; 0.063)	0.030*# (0.022; 0.037)	0.021^ (0.015; 0.027)	0.040* (0.033; 0.049)	0.029*# (0.025; 0.034)

Индекс Т/К — отношение уровня тестостерона к уровню кортикостерона в крови. ^ $p < 0.05$ — достоверность отличий между группами контроля, * $p < 0.05$ — между контролем и стрессированными крысами, # $p < 0.05$ — между группами низкотревожных и высокотревожных крыс, & $p < 0.05$ — между соответствующими группами стрессированных молодых и старых крыс по U-критерию Манна—Уитни.

миокарда [9]. Окрашенные гистологические срезы исследовали, получая микрофотографии при помощи светового микроскопа “Axioplan 2 imaging” с системой обработки изображений (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия) и морфометрической программы “AxioVision”. Для измерения оптической плотности окраски использовали программу ImageJ (NIH, США). Количество полей зрения для каждой группы составляло не менее 10 при увеличении 400.

Ультраструктурные изменения в миокарде левого желудочка изучали, используя стандартные для электронной микроскопии методики обработки образцов [10, 11], фотофиксацию препаратов осуществляли с помощью камеры Gatan ES-500W Erlangshen (Model 782, Gatan Inc., США) и последующее исследование в просвечивающем электронном микроскопе JEM-100CX (JEOL, Япония). На электронограммах определяли площадь, занимаемую митохондриями в $\mu\text{м}^2$ в данном поле зрения. Количество полей зрения для каждой экспериментальной группы составляло не менее 10.

Производили статистический анализ: тестовые группы сравнивали с использованием ANOVA, критерия Краскела—Уоллиса для множественных сравнений и U-критерия Манна—Уитни для попарных сравнений. Результаты представлены в виде медианы (нижний квартиль; верхний квартиль, Me (Q1; Qu)). Различия считали достоверными при $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Тестирование молодых и старых крыс в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ) весьма ожидаемо выявило снижение показателей поведения, характеризующих подвижность у всех групп старых животных (табл. 1). По сравнению с молодыми, даже особи контрольной возрастной группы проявляли более низкую локомоторную активность и более высокую тревожность, выявляемую по значительно меньшему числу заходов и времени, проводимому в открытых рукавах ПКЛ ($p < 0.05$, табл. 1). Снижение локомоторной активности и повышение тревожности с возрастом достаточно характерны не только для животных, но и для людей [12, 13]. Комплексный показатель поведения — индекс тревожности (ИТ) — оказался достоверно значимо выше на 24% у контрольных старых крыс ($p < 0.005$), на 21% у низкотревожных ($p < 0.005$), значения высокотревожных старых животных не отличались от показателей высокотревожных молодых особей ($p > 0.05$). Следует добавить, что группы высокотревожных молодых и старых крыс характеризовались наибольшими значениями ИТ, тогда как показатели ИТ низкотревожных групп обоих возрастов не отличались от своих контролей (табл. 1).

На основании сходства этих показателей ИТ и резкого отличия — значительного увеличения ИТ у высокотревожных крыс, было произведено разделение популяций молодых и старых животных на низко- и высокотревожных, как это принято у

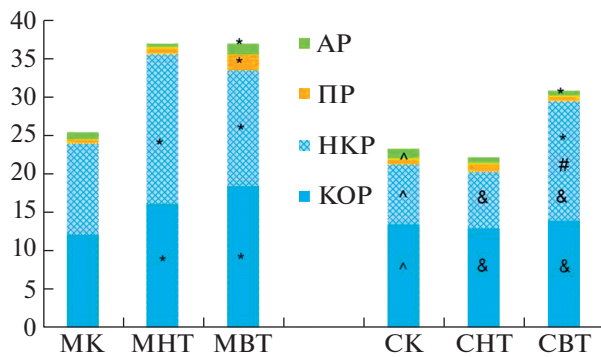


Рис. 1. Соотношение четырех категорий психоэмоциональных реакций молодых и старых крыс Вистар при моделировании ПТСР. АР — активные психоэмоциональные реакции (невротические, стрессовые, смещенные), ПР — пассивные реакции (груминг, сидение), НКР — контекстные реакции неуверенности (колебания в развилках), КОР — контекстные ориентировочные реакции (стойки, остановки). МК — молодые крысы контроль, МНТ — молодые низкотрещовные крысы, МВТ — молодые высокотрещовные крысы, СК — старые крысы контроль, СНТ — старые низкотрещовные крысы, СВТ — старые высокотрещовные крысы. ^ $p < 0.05$ — достоверность отличий между группами контроля, * $p < 0.05$ — между контролем и стрессированными крысами, # $p < 0.05$ — между группами низкотрещовных и высокотрещовных крыс, & $p < 0.05$ — между соответствующими группами стрессированных молодых и старых крыс по U-критерию Манна—Уитни.

других авторов и в наших предыдущих работах [6, 14].

Изучая показатели психоэмоциональных проявлений (ПЭП), как и в других наших работах, было отмечено снижение числа ПЭП всех изучаемых категорий во всех группах старых крыс по сравнению с молодыми [15]. Впервые нами установлено, что число ПЭП класса ориентировочных реакций (КОР — контекстных ориентировочных реакций и НКР — контекстных реакций неуверенности, колебаний) у группы старых низкотрещовных крыс не отличалось от контрольных значений и было гораздо ниже, чем у молодых особей соответствующих групп ($p < 0.01$). Особо следует отметить, что значения ПЭП старых крыс из разряда колебаний (неуверенности) при выборе направления движения в ПКЛ, были ниже у контрольных и низкотрещовных животных на 35 и 63% соответственно, чем у молодых ($p < 0.001$). Тем не менее число ПЭП класса ориентировочных реакций у группы высокотрещовных старых крыс оказалось на 38% выше, чем в контроле ($p < 0.001$) и не имело статистически значимых отличий от показателей соответствующей группы молодых особей ($p > 0.05$). Стрессирование молодых крыс, в противоположность старым, индуцировало у группы низкотрещовных особей возрастание числа ПЭП класса ориентировочных реак-

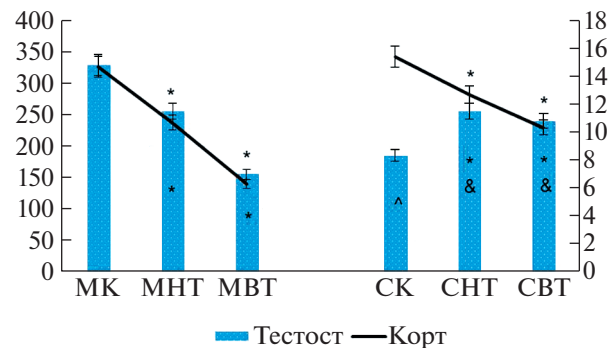


Рис. 2. Тестостерон и кортикетерон в плазме крови молодых и старых крыс Вистар при моделировании ПТСР (ммоль/л). Обозначения те же, что и на рис. 1.

ций, КОР и НКР на 33 и 63% ($p < 0.025$ и $p < 0.0001$ соответственно) и на 53 и 26% ($p < 0.0001$ и $p < 0.027$ соответственно) у группы высокотрещовных животных по сравнению с контролем.

Следовательно, возрастание ИТ не мешало старым животным благополучно осваивать пространство приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) и даже проявлять повышенную способность к поведенческой саморегуляции — быстрее, чем молодые особи принимать решение о направлении движения. Соответственно, механизмы ЦНС, участвующие в процессах ориентации в пространстве и принятии решения о выборе направления движения у старых крыс, в ситуации стресса, работали эффективнее, чем у молодых.

Значения уровня кортикетерона, представленные на рис. 2, свидетельствуют о том, что базовый уровень этого гормона у старых и молодых крыс был практически равнозначным ($p > 0.05$). После стрессирования у обеих возрастных групп наблюдалось одинаково выраженное снижение уровня кортикетерона в сыворотке крови (рис. 2). По нашим предыдущим работам и сведениям других авторов, снижение уровня кортикетерона является дополнительным доказательством развития ПТСР-подобного состояния [6, 16]. Стоит отметить, что очень мало работ, в которых показано, что ПТСР-подобное состояние формируется не только у молодых, но и у старых крыс Вистар, при этом популяция стрессированных животных разделяется на низкотрещовных — устойчивых к стрессу и высокотрещовных — неустойчивых к стрессу особей.

Содержание циркулирующего тестостерона у старых интактных крыс было на 44% ниже, чем у молодых особей. Уровень этого гормона характеризовался весьма дифференцированным откликом на стресс. Необходимо подчеркнуть, что при развитии ПТСР-подобного состояния, содержание тестостерона у молодых крыс снижалось: у низкотрещовных — на 23% ($p < 0.025$), а у высоко-

тревожных — на 53% ($p < 0.005$), тогда как у старых животных наблюдался противоположный процесс — процесс повышения на 38 и 30% соответственно ($p < 0.005$) по сравнению с их контрольными уровнями (рис. 2).

Снижение уровня тестостерона с возрастом — факт достаточно известный как у людей, так и у лабораторных животных, тогда как разнонаправленный ответ этого гормона при моделировании ПТСР: падение содержания гормона в крови у молодых и скачок его уровня у старых крыс, зарегистрирован нами впервые и это представляет немалый интерес. Аналогичное явление отмечали M. Slimani и соавт. (2018) при обследовании после соревнований молодых и старых бойцов спортивных единоборств. [17]. Возможно такое различие реакции тестостерона связано с большей опыtnостью старого поколения, у которого закрепились стратегии преодоления стресса.

В связи с тем, что в научной литературе разных лет повышение уровня тестостерона авторы связывают с интенсификацией познавательной деятельности и улучшением способности к ориентации в пространстве. Возможно, в нашем эксперименте рост уровня тестостерона у старых животных обусловил через вторичные мессенджеры хорошую ориентацию в ПКЛ и повышение эффективности работы механизмов принятия решения о выборе направления движения у старых крыс [18].

Очень интересными оказались показатели индекса отношения уровня тестостерона к уровню кортикостерона (табл. 1). У старых интактных крыс этот индекс был значительно ниже (на 55%, $p < 0.0001$), чем у молодых особей, тогда как показатели обеих групп стрессированных старых животных не имели достоверных отличий от значений соответствующих групп молодых крыс (табл. 1). Примечательно, что показатели низкотренируемых животных обеих возрастных групп оказались на 38% выше высокотренируемых особей ($p < 0.005$). Следовательно, анаболические процессы в организме низкотренируемых крыс преобладали над катаболическими и механизмы системы адаптации позволяли сохранять баланс гомеостаза в пределах нормы.

Старческий возраст, особенно при стрессе, обычно связывают с развитием, или обострением сердечно-сосудистых заболеваний. В связи с этим мы провели морфофункциональное изучение состояния миокарда у всех групп крыс. Применяя гистохимическую окраску ГОФП по Ли, нам удалось выявить наличие зон гипоксии в миокарде молодых высокотренируемых крыс (рис. 3в), небольшие зоны гипоксии у низкотренируемых старых животных (3д) и, гораздо большие зоны, в миокарде высокотренируемых старых особей (3е). В то же время у контрольных крыс обеих возрастных групп зоны гипоксии не выявлялись (3а, г).

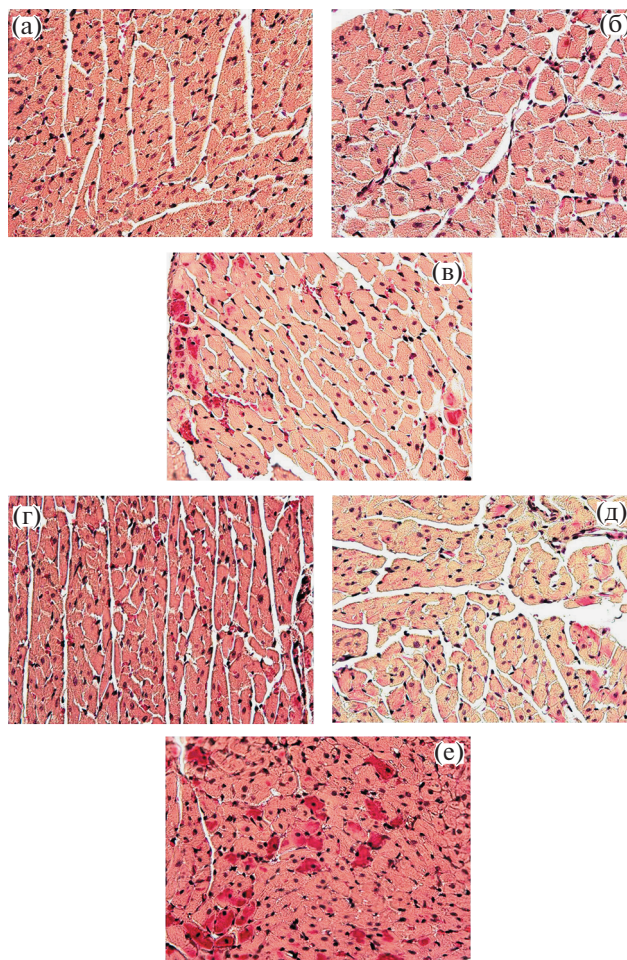


Рис. 3. Поперечные срезы миокарда молодых (а, б, в) и старых (г, д, е) крыс Вистар. Окраска ГОФП по Ли, $\times 400$. а — контрольные молодые крысы, б — низкотренируемые молодые крысы, в — высокотренируемые молодые крысы, г — контрольные старые крысы, д — низкотренируемые старые крысы, е — высокотренируемые старые крысы. Ярко-красный цвет мышечных волокон свидетельствует о развитии гипоксии.

Описательные характеристики срезов миокарда подтвердились количественным методом определения оптической плотности (ОП) ярко-красной окраски ГОФП, идентифицирующей зоны гипоксии. Оказалось, что значения ОП не имели статистически значимых отличий у контрольных групп, а также между низкотренируемыми молодыми особями и их контролем (рис. 4). Тогда как показатели ОП высокотренируемых молодых животных отличались от своего контроля на 37% ($p < 0.001$), а значения ОП низкотренируемых старых крыс оказались совсем незначительно выше контрольных — на 7.4% ($p < 0.042$), в то время как высокотренируемых — на 56% ($p < 0.0001$). Следовательно, существенные повреждения миокарда наблюдались у высокотренируемых

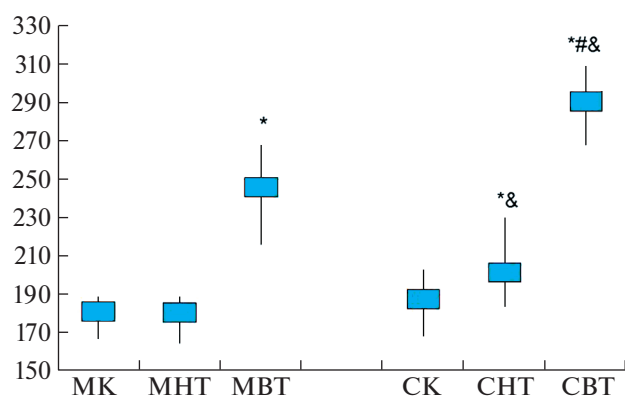


Рис. 4. Оптическая плотность срезов миокарда молодых и старых крыс Вистар, окрашенных ГОФП по Ли (усл. ед.). Обозначения те же, что и на рис. 1.

ных молодых и, особо значительные, у высокотревожных старых животных (рис. 4).

Поскольку миокард является тканью с высокой окислительной метаболической активностью, центральную роль в стабилизации оптимальной работы сердца играют митохондрии, а поддержание гомеостаза митохондрий имеет решающее значение для клеточных и органных функций. В связи с этим мы оценивали состояние митохондрий с помощью электронного микроскопа. Анализируя ультраструктуру миокарда, можно отметить, что на продольных срезах всех групп животных видна поперечная исчерченность, характерная для мышечных волокон. У молодых и старых крыс групп контроля миофибриллы равномерной толщины, митохондрии располагаются цепочками между миофибриллами, они имеют хорошо различимые кристы и равномерно окрашенный матрикс (рис. 5а, г). сходное строение наблюдалось у низкотревожных молодых и старых крыс (рис. 5б, д). В то время, как у высокотревожных особей обеих возрастных групп миофибриллы различались по толщине, имели извитую форму, между ними наблюдались просветы, вероятнее всего свидетельствующие о наличии отеков. Митохондрии этих животных имели матрикс более темной окраски (рис. 5в, е, ж). Кроме того, на продольных и, особенно, поперечных срезах старых крыс хорошо заметно, что эти группы крыс характеризуются наибольшим среди всех экспериментальных групп числом митохондрий, которые часто образуют большие скопления, раздвигающие миофибриллы (рис. 5е, ж). Размеры митохондрий у всех групп животных были приблизительно одинаковы.

Измерение площади, занимаемой митохондриями (рис. 6), отражающее их число, позволило определить, что у высокотревожных молодых крыс митохондрий было на 22% больше, чем в контроле ($p < 0.0001$) и на 13%, чем у низкотре-

вожных животных ($p < 0.001$). Показатели численности митохондрий у всех групп старых крыс были статистически значимо выше, чем у молодых особей (рис. 6). Площадь митохондрий низкотревожных старых животных оказалась немного больше — на 8%, чем в контроле ($p < 0.01$), а высокотревожных — на 18%, чем в контроле ($p < 0.0001$) и на 9%, чем у низкотревожных крыс ($p < 0.001$, рис. 6).

Следовательно, в нашем исследовании при моделировании ПТСР впервые отмечены дисфункциональное накопление митохондрий в миокарде с возрастом и чрезмерное накопление этих органелл у высокотревожных крыс обеих возрастных групп. В норме процесс митохондриальной динамики определяется сбалансированной системой двух противоположных процессов, регулирующих гомеостаз митохондрий — митохондриальным биогенезом и митофагией. Некоторые авторы считают, что митофагия, направленная на деградацию поврежденных митохондрий, играет более важную роль [19]. В нашем эксперименте нам удалось продемонстрировать, что старческий возраст связан с нарушением функционирования механизма митофагии и выявленное дисфункциональное состояние прогрессирует после воздействия стресса. Необходимо подчеркнуть, что это же явление наблюдалось и у молодых высокотревожных крыс. Вероятнее всего, чрезвычайный стресс, аналогичный применяемому нами при моделировании ПТСР, способен нарушить у людей механизмы регуляции митохондриального оборота и это может индуцировать развитие таких сердечно-сосудистых заболеваний, как инфаркт миокарда, кардиомиопатия и сердечная недостаточность. Особенно предрасположенными к таким заболеваниям являются пожилые люди.

Несмотря на выявленные нами небольшие отличия состояния миокарда у старых низкотревожных крыс от контроля, важно указать на существенную разницу морфофункционального состояния миокарда низкотревожных и высокотревожных животных. Судя по всему, полученные данные свидетельствуют о преобладании анаболических процессов в организме низкотревожных крыс над катаболическими, а впервые примененный нами индекс отношения уровня тестостерона к кортикостерону может служить надежным ориентиром для разделения популяции крыс на низко- и высокотревожных особей при моделировании ПТСР.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в данном исследовании у старых крыс Вистар выявлены следующие особенности: более высокие значения индекса тревожности, уплощение психоэмоциональных прояв-

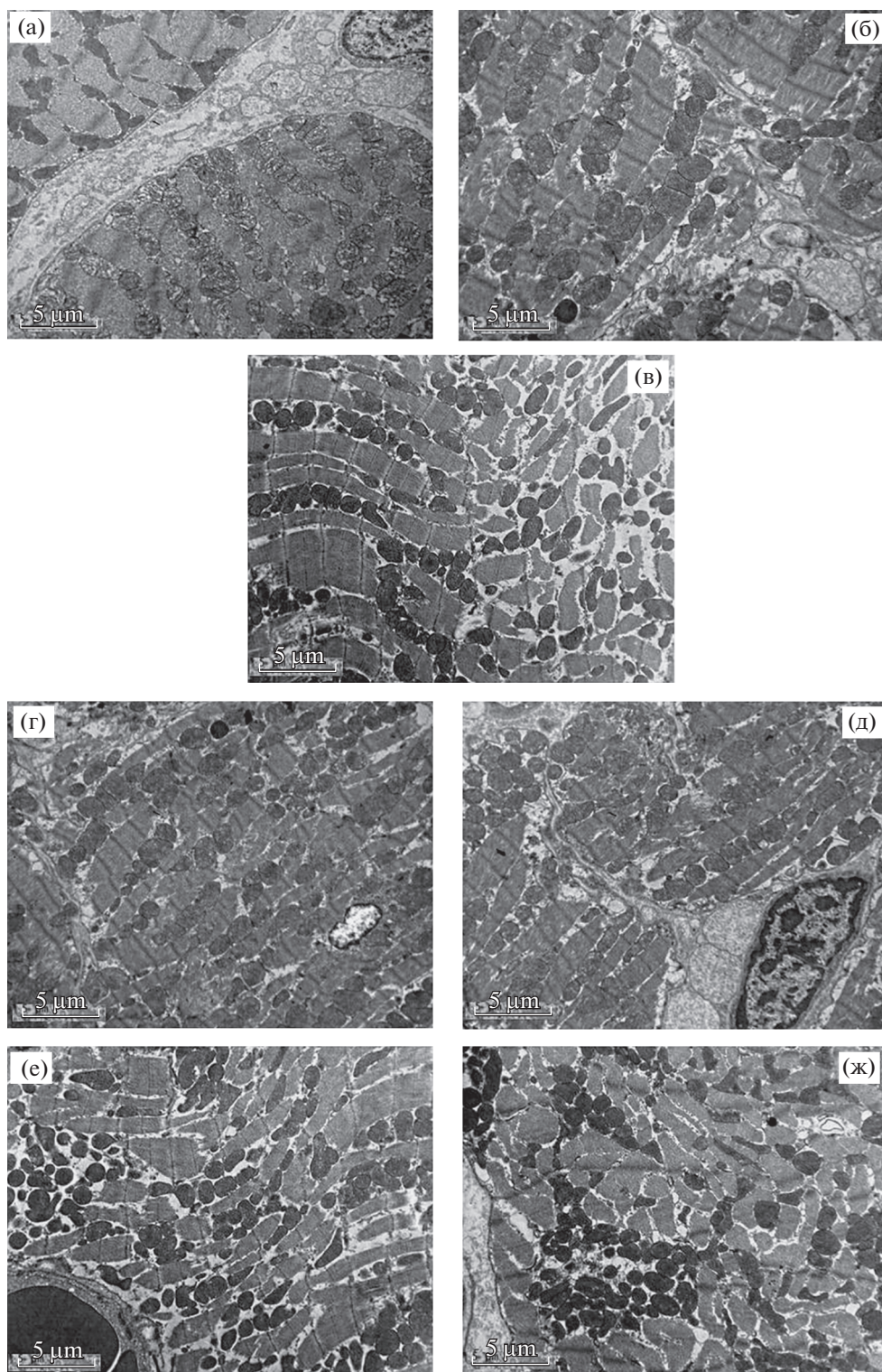


Рис. 5. Ультраструктура миокарда молодых (а, б, в) и старых (г, д, е, ж) крыс Вистар. а — контрольные молодые крысы, б — низкотревожные молодые крысы, в — высокотревожные молодые крысы, г — контрольные старые крысы, д — низкотревожные старые крысы, е, ж — высокотревожные старые крысы. Продольные срезы (а, б, в, г, д, е), поперечный срез (ж).

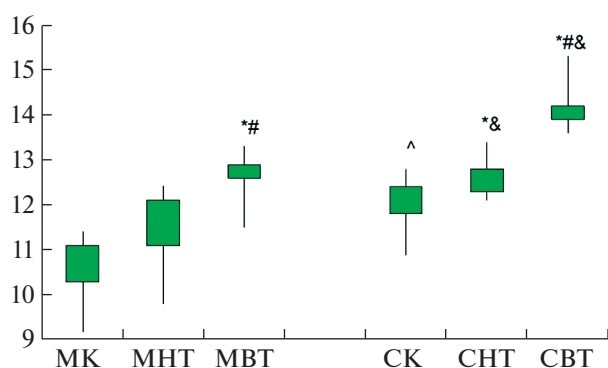


Рис. 6. Площадь митохондрий в миокарде молодых и старых крыс Вистар (мм²). Обозначения те же, что и на рис. 1.

лений (даже у высокотревожных крыс); более низкие показатели контекстных реакций неуверенности, колебаний, свидетельствующие о хорошей ориентации в пространстве и более быстром принятии решения о направлении движения; повышение уровня циркулирующего тестостерона после стресса. Впервые примененный нами индекс отношения уровня тестостерона к кортистерону может служить надежным ориентиром для разделения популяции крыс на низко- и высокотревожных особей при моделировании ПТСР. Нами установлено, что старческий возраст сказался на состоянии миокарда, в котором были выявлены самые большие зоны гипоксии у всех стрессируемых крыс. Впервые нами зарегистрировано дисфункциональное накопление митохондрий в миокарде всех групп старых крыс, с большой долей вероятности являющееся нарушением функционирования механизма митофагии. После дополнительных исследований дисфункция механизмов регуляции численности митохондрий может стать терапевтической мишенью для поиска лекарственных средств борьбы с сердечно-сосудистыми заболеваниями, в частности после стрессорных воздействий.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания лаборатории патологии клетки Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ “Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского”, Москва, Россия” № 122030200535-1.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

СОБЛЮЖДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Eshkooor S.A., Hamid T.A., Mun C.Y., et al. Mild cognitive impairment and its management in older people // Clin Interv Aging. 2015. V. 10. P. 687–693.
2. Kresge H.A., Khan O.A., Wagener M.A., et al. Subclinical Compromise in Cardiac Strain Relates to Lower Cognitive Performances in Older Adults // J Am Heart Assoc. 2018. V. 7. № 4. P. e007562.
3. Musisi S., Kinyanda E. Long-Term Impact of War, Civil War, and Persecution in Civilian Populations–Conflict and Post-Traumatic Stress in African Communities // Front Psychiatry. 2020. V. 11. P. 20.
4. Yehuda R., Bierer L. M. Transgenerational transmission of cortisol and PTSD risk // Prog Brain Res. 2008. V. 167. P. 121–35.
5. Cohen H., Matar M.A., Joseph Z. Animal models of post-traumatic stress disorder // Curr Protoc Neurosci. 2013. Ch. 9. Unit 9.45.
6. Кондашевская М.В., Комелькова М.В., Цейликман В.Э., и др. Новые нейробиологические критерии профиля устойчивости при моделировании посттравматического стрессового расстройства // Доклады РАН. Науки о жизни. 2021. Т. 501. № 1. С. 522–527.
7. Nahum K., Todder D., Zohar J., et al. The Role of Microglia in the (Mal) adaptive Response to Traumatic Experience in an Animal Model of PTSD // Int J Mol Sci. 2022. V. 23. № 13. P. 7185.
8. Никольская К.А., Кондашевская М.В., Серкова В.В., Диатроптов М.Е. Системные эффекты тестостерона: гормонально-поведенческий аспект // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. Т. 160. № 11. С. 565–568.
9. Янин В.Л., Бондаренко О.М., Сазонова Н.А. Методы исследования в цитологии и гистологии: учебно-методическое пособие для аспирантов заочной формы обучения к практическим занятиям по дисциплине. Ханты-Мансийск: БУ “Ханты-Мансийская государственная медицинская академия”, 2015.
10. Balkanov A.S., Rozanov I.D., Galanov A.V., et al. Endothelium changes of peritumoral zone capillaries after brain glioblastoma adjuvant radiation therapy // Clin. exp. morphology. 2021. V. 10. № 1. P. 33–40.
11. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy // J Cell Biol. 1963. V. 17. № 1. P. 208–212.
12. Degens H., Attias J., Evans D., et al. The mobility limitation in healthy older people is due to weakness and not slower muscle contractile properties // PLoS One. 2021. V. 16. № 6. P. e0253531.
13. Balsamo M., Cataldi F., Carlucci L., et al. Assessment of anxiety in older adults: a review of self-report measures // Clin Interv Aging. 2018. V. 13. P. 573–593.
14. Tanelian A., Nankova B., Miari M., Nahvi R.J., Sabban E.L. Resilience or susceptibility to traumatic

- stress: Potential influence of the microbiome // *Neurobiol Stress*. 2022. V. 19. P. 100461.
15. Кондашевская М.В., Алексанкина В.В., Артемьева К.А., Болтовская М.Н. Сопоставление адаптивной способности старых и молодых крыс Вистар к стрессорному воздействию и острой гипоксической гипоксии // *Бюлл. exper. биол. и мед.* 2021. Т. 171. № 6. С. 783–787.
 16. Sree A.B., Hanifa M., Bali A. Investigations on Rho/ROCK signaling in post-traumatic stress disorder-like behavior in mice // *Behav Brain Res*. 2023. V. 443. P. 114347.
 17. Slimani M., Paravlic A.H., Chaabene H., Davis P., Chamari K., Cheour F. Hormonal responses to striking combat sports competition: a systematic review and meta-analysis // *Biol Sport*. 2018. V. 35. № 2. P. 121–136.
 18. Khorshidahmad T., Tabrizian K., Vakilzadeh G., et al. Interactive effects of a protein kinase AII inhibitor and testosterone on spatial learning in the Morris water maze // *Behav Brain Res*. 2012. V. 228. № 2. P. 432–439.
 19. Li A., Gao M., Liu B., et al. Mitochondrial autophagy: molecular mechanisms and implications for cardiovascular disease // *Cell Death Dis*. 2022. V. 13. № 5. P. 444.

MINUSES AND UNEXPECTED ADVANTAGES OF THE OLD WISTAR RATS' BODY REACTION AT MODELING POST-TRAUMATIC STRESS DISORDER

M. V. Kondashevskaya^{a,#}, K. A. Artem'eva^a, M. A. Kozlova^a,
D. A. Areshidze^a, and Corresponding Member of the RAS L. V. Kaktursky^a

^a“A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology” of Federal State Budgetary Research Institution “B.V. Petrovsky Russian research center of surgery”, Moscow, Russian Federation

[#]e-mail: marivladiko@mail.ru

Old Wistar rats exhibit the same general signs of a PTSD-like condition as young animals, when modeling post-traumatic stress disorder (PTSD). At the same time, a number of behavioral features, psycho-emotional manifestations and myocardial state were revealed in old rats. For the first time, it was found a sharp rise in the level of circulating testosterone, which contributes to a more rapid decision on the direction of movement in the labyrinth space under stress in old rats, in contrast to young ones. The index of the ratio of testosterone to corticosterone levels can serve as a guideline for dividing the rat population into low- and high-anxiety individuals when modeling PTSD. The data on dysfunctional accumulation of mitochondria in the myocardium of intact and stressed old rats are priority. The information obtained may be useful in the development of drugs for the devastating consequences of PTSD, as well as senile changes in the myocardium.

Keywords: old Wistar rats, post-traumatic stress disorder, spatial orientation, testosterone, dysfunctional accumulation of mitochondria in myocardium