

**РЕАКЦИЯ ТИРЕОИДНОЙ СИСТЕМЫ НА КРАТКОВРЕМЕННЫЙ СТРЕСС  
У КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР С ВИСЦЕРАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ  
И ОГРАНИЧЕННОЙ СОЦИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

© 2022 г. Т. А. Митюкова<sup>1</sup>, \*, Е. Н. Чудиловская<sup>1</sup>, \*\*, А. А. Басалай<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

\*E-mail: mityukovat@gmail.com

\*\*E-mail: e.chudilovskaya@gmail.com

Поступила в редакцию 16.12.2021 г.

После доработки 21.01.2022 г.

Принята к публикации 22.01.2022 г.

Проблема ожирения требует изучения патофизиологических последствий, затрагивающих гормональную регуляцию и реактивность организма на экстремальные воздействия. Цель исследования — изучение влияния высококалорийной диеты и социальной изоляции на развитие ожирения, его метаболических и поведенческих последствий, особенностей тиреоидного статуса, и на втором этапе — оценка реакции гормональных показателей тиреоидного статуса на кратковременный стресс у крыс. Эксперименты проводились на крысах-самцах линии Вистар и включали: высококалорийную диету и социальную изоляцию, а также их сочетания в течение 4 мес. В конце эксперимента оценивали поведенческие реакции, показатели метаболического синдрома, тиреоидного статуса и уровень кортизола. На втором этапе эксперимента животные подвергались кратковременному острому стрессу, через 1 ч после которого регистрировали сдвиги гормональных показателей по сравнению с исходным фоном. Высококалорийная диета приводила к развитию метаболического синдрома, признаков депрессивности, повышению уровня тиреотропного гормона, тироксина и трийодтиронина в сыворотке крови, а также активности дейодиназы 1-го типа в печени крыс, при этом отмечалось снижение активности тиреопероксидазы и повышение уровня триглицеридов и малонового диальдегида в шитовидной железе крыс. Физиологическая реакция на стресс у крыс группы контроля включала повышение уровня кортизола и ТТГ в сыворотке крови, однако, на фоне высококалорийной диеты не был зарегистрирован выброс кортизола в кровь. Социальная изоляция не изменяла нормальную реактивность коры надпочечников, но снижала выброс тиреотропного гормона в ответ на острое стрессорное воздействие, поскольку содержание этого гормона было исходно несколько повышенным на фоне хронического стресса социальной изоляции. Таким образом, избыточное питание и дефицит социальной активности у крыс-самцов линии Вистар приводят к существенным изменениям в реакции организма на острый стресс.

*Ключевые слова:* крысы, высококалорийная диета, социальная изоляция, стресс, тиреоидная система, кортизол

**DOI:** 10.31857/S0869813922030062

Данные социологических исследований свидетельствуют о том, что во всем мире нарастает количество людей с избыточной массой тела и ожирением, причем, по-

следнее повышает риск развития метаболического синдрома, сердечно-сосудистой патологии, нарушений функции щитовидной железы (ЩЖ), когнитивных и психоэмоциональных расстройств, включая депрессию [1–3]. Основными причинами ожирения, чаще всего, являются избыточное питание и нездоровый образ жизни, который включает в себя недостаточную физическую и социальную активность [1–3]. Состояние тиреоидного статуса имеет свои особенности при ожирении и привлекает внимание исследователей, поскольку тиреоидные гормоны участвуют в регуляции основного обмена, термогенеза и обмена липидов в организме [2]. В большинстве клинических и эпидемиологических исследований отмечается, что тиреоидная дисфункция связана с избыточной массой тела и ожирением. У эутиреоидных пациентов наблюдается положительная корреляция между индексом массы тела и тиреотропного гормона (ТТГ), однако данные об уровнях периферических гормонов при ожирении являются неоднозначными. Следует признать, что тиреоидный статус играет важную роль не только в патогенезе ожирения, но также и в системе регуляторных процессов, обеспечивающих адаптацию организма к физическим нагрузкам и к стрессу [2, 4, 5]. Тем не менее, вопрос о возможном модулирующем влиянии ожирения, а также ограниченной физической и социальной активности и их совместного воздействия на реактивность регуляторных систем, включая тиреоидный статус, остается малоизученным и требует соответствующих экспериментальных исследований.

Экспериментальные модели ожирения и метаболического синдрома у крыс подробно описаны в литературе, их выбор и проведение не вызывает затруднений [6]. Однако понятие нездорового образа жизни является более сложным и неоднозначным. В настоящее время привлекает внимание такой фактор, как снижение социальной активности, связанный с развитием дистанционных методов обучения и работы, расширением сферы виртуальных развлечений и изменениями образа жизни на фоне пандемии COVID-19. Данная модель может осуществляться в эксперименте путем содержания животных в индивидуальных клетках. По мнению Mumtaz и соавт. фактор социальной изоляции может действовать как хронический стрессор, приводящий к изменению социального поведения, функций нейрохимической и нейроэндокринной системы, а также реактивности на острый стресс [7]. Исходя из этого, индивидуальное содержание было принято нами как вариант ограничения социальной активности у крыс (социальная изоляция).

Цель исследования – изучение влияния высококалорийной диеты и социальной изоляции на развитие ожирения, его метаболических и поведенческих последствий, особенностей тиреоидного статуса, и на втором этапе – оценка реакции гормональных показателей тиреоидного статуса на кратковременный стресс у крыс.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все работы с экспериментальными животными проводили с соблюдением законодательства, в соответствии с положениями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123) и принципов, утвержденных комиссией по биоэтике Института физиологии Национальной академии наук Беларуси. Опыты проводились на половозрелых крысах-самцах линии Вистар. Животные вводились в эксперимент в возрасте двух месяцев, масса тела составляла 180–200 г. Были изучены следующие виды экспериментальных воздействий: высококалорийная диета (ВКД) и социальная изоляция (СИ), а также их сочетания. Крысы были разделены на 4 группы: 1) Контроль ( $n = 20$ ) – стандартный рацион вивария и оптимальные условия содержания (по 6–7 крыс в общей клетке); 2) Контроль-СИ ( $n = 20$ ) – стандартный ра-

цион вивария и содержание в индивидуальных клетках; 3) ВКД ( $n = 36$ ) – рацион включал дополнительное количество жиров животного происхождения в виде свиного сала (45% от суточной калорийности пищи) и углеводов (питьевая вода замещалась на 10%-ный раствор фруктозы со свободным доступом к поилкам), крысы содержались в стандартных условиях (6–7 крыс в общей клетке); 4) ВКД-СИ ( $n = 36$ ) – высококалорийная диета и содержание в индивидуальных клетках. В состав ВКД входило свиное сало, которое вводили в рацион в соответствии с массой тела животного, соблюдая 45% добавочного вклада к стандартному рациону вивария по мере нарастания массы тела и соответственно калорийности основной диеты. Проводили учет поедания сала в расчете на одно животное при групповом и индивидуальном содержании. Для группового содержания использовали клетки Techniplast с площадью пола  $1500 \text{ см}^2$  (габариты  $48 \times 38 \times 21 \text{ см}$ ), а для индивидуального – клетки Zoonlab GmbH с площадью пола  $360 \text{ см}^2$  (габариты  $26 \times 20 \times 14 \text{ см}$ ). Оба варианта соответствовали требованиям ETS № 123, площадь пола – не менее  $200\text{--}250 \text{ см}^2$  на крысу.

Продолжительность эксперимента составляла 4 мес. На последней неделе проводили тест Порсолта на депрессивное поведение грызунов [8]. Каждую крысу помещали на 6 мин в сосуд, заполненный водой до отметки на высоте 30 см, температура воды составляла  $24\text{--}25^\circ\text{C}$ . Фиксировали длительность первого акта активного плавания, количество и длительность “замираний” (отсутствие плавательных движений). Отказ от активного плавания характеризует состояние “отчаяния”, т.е. является признаком депрессивности [8].

Массу тела крыс оценивали на весах Scout Pro (Китай), а также проводили измерение систолического артериального давления крови (САД) на установке PanLab (Испания). На заключительном этапе эксперимента половина животных каждой из четырех групп подвергалась острому кратковременному стрессу – принудительному плаванию в холодной воде,  $T = 13^\circ\text{C}$  в течение 5 мин. Животных выводили из эксперимента через 1 ч после стресса, под тиопенталовым наркозом. Всех остальных животных также подвергали декапитации с использованием тиопентала натрия. У крыс забирали висцеральную жировую ткань, печень, ШЖ и кровь (для отделения сыворотки и последующего анализа биохимических и гормональных показателей).

Биохимические показатели сыворотки крови: общий холестерин, триглицериды, глюкоза, общий белок определяли ферментативными методами с использованием коммерческих наборов фирмы “Диасенс” (Республика Беларусь) на автоматическом биохимическом анализаторе BS-200 (Китай) с программным обеспечением BS-330. Определение гормонов в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа: трийодтиронин (Т3), тироксин (Т4) и свободный Т4 (св. Т4) – на наборах “Хема” (Россия), свободный Т3 (св. Т3) и кортизол – на наборах “Диагностические системы” (Россия), тиреотропный гормон (ТТГ) – на наборах FineTest (Китай).

Определение активности тиреопероксидазы (ТПО) в ткани щитовидной железы (ЩЖ) проводили по методу [9]. Ткань ЩЖ измельчали с использованием гомогенизатора IKA T10 basic Ultra-Turrax (Германия) и  $0.05 \text{ M Na/фосфатного}$  буфера (рН 7.4). Гомогенат (в разведении 1 : 80) центрифугировали с охлаждением при  $4^\circ\text{C}$  и  $5000 \text{ об/мин}$  ( $10700 \text{ g}$ ) на центрифуге Allegra 64R Centrifuge Beckman Coulter (США). Супернатанты отбирали и определяли содержание белка биуретовым методом на автоматическом биохимическом анализаторе BS 200 (Китай) с использованием наборов “Диасенс” (Беларусь). Супернатанты для определения активности тиреопероксидазы (ТПО) находились на ледяной бане (температура тающего льда) и использовались в течение 3–4 ч. Спектрофотометрические исследования проводили на спектрофлуориметре SOLAR CM 2203. В термостатируемую кювету (1 см)

вносили буфер и другие компоненты. Состав инкубационной смеси: 0.05 М Na/фосфатный буфер pH 7.4–2.7 мл, раствор KI (0.6 М) – 75 мкл, супернатант – 200 мкл. Содержимое кюветы выдерживали в течение 3 мин при температуре 25°C. Реакцию инициировали путем внесения H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10 мкл 40 мМ раствора), пробу перемешивали и регистрировали оптическую плотность при длине волны 353 нм в течение 3 мин. Активность фермента выражали в международных единицах на мг белка за минуту инкубации (МЕ/мг мин).

Активность дейодиназы 1-го типа (D1) в печени определяли по методу [10] с некоторыми модификациями, малоновый диальдегид (МДА) – по реакции с тиобарбитуровой кислотой [11]. Метод определения D1 [10] основан на оценке дейодиназной активности печени по превращению T4 в T3 в присутствии кофактора дитиотрейтола (ДТТ). В работе использовали следующие реагенты: Tris-HCl буфер 0.05 М, pH 7.8; Na/фосфатный буфер 0.01 М, pH 7.6, содержащий бычий сывороточный альбумин (БСА) 0.25%; ДТТ 320 мМ на дистиллированной воде; стандарт T4 (I) на метаноле – 1000 мкМ с добавлением 0.5 N NaOH (100 мкл на 5 мл раствора); стандарт T4 (II) получали путем разбавления T4-I в 20 раз на БСА-фосфатном буфере с добавлением 0.5 N NaOH до pH 8 – конечная концентрация 50 мкМ. Печеночный гомогенат готовили на трис-буфере (1 : 5) в условиях охлаждения при температуре тающего льда, затем центрифугировали 15 мин на центрифуге BioSan LMC-3000 при 3000 об/мин (1700 g).

Состав инкубационной смеси: супернатант – 700 мкл, ДТТ – 40 мкл, стандарт T4 (II.) – 40 мкл. Инкубация при 37°C в течение 1 ч проводилась в дублях – 2 опытных и 2 контрольных пробы (контрольные пробы без ДТТ и T4). Остановка реакции достигалась путем добавления этилового спирта 96% – 700 мкл, при этом в контрольные пробы добавляли ДТТ и T4. После перемешивания пробы оставляли в холодильнике на 2 ч или на ночь для осаждения белка. Надосадочную жидкость отделяли путем центрифугирования и использовали для определения T3 ИФА-методом (возможно хранение при –20°C до проведения анализа). Полученный супернатант содержал около 48% этанола. Установлено, что при определении T3 ИФА-методом в спиртосодержащем супернатанте необходимо смешивать таковой с “нулевой сывороткой” (пуловая человеческая сыворотка, обработанная активированным углем), не допуская превышения концентрации этанола более 5% в пробе. Изучение влияния концентрации этанола на определение T3 ИФА-методом было проверено на пуловой сыворотке людей. При внесении в эту сыворотку этанола с конечной концентрацией не более 5% содержание T3 определялось как исходное, полученное на нативной сыворотке. В процессе выполнения методики супернатант вносили в “нулевую сыворотку” в соотношении 10/100 мкл таким образом, чтобы содержание этанола в пробе составляло около 4.8%, что являлось предельно допустимым.

Статистический анализ проводился в программе Statistica 6.0. Нормальность распределения данных проверяли с использованием критерия Шапиро–Уилка. При нормальном распределении применяли дисперсионный анализ ANOVA с использованием критерия Фишера (данные представляли как  $M \pm SEM$ ). При ненормальном распределении использовались непараметрические методы – критерий Краскера–Уоллеса (данные представляли как Me (25; 75)). Отличия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе эксперимента было изучено влияние высококалорийной диеты и социальной изоляции. Показатели массы тела у крыс групп “Контроль” и “Контроль-СИ” по окончании эксперимента были практически одинаковыми (табл. 1).

**Таблица 1.** Влияние высококалорийной диеты и социальной изоляции на массу тела, массу висцерального жира и систолическое артериальное давление (САД) у крыс экспериментальных групп ( $M \pm SEM$ )

Показатели	1) Контроль	2) Контроль-СИ	3) ВКД	4) ВКД-СИ
Масса тела, г	373.9 ± 7.7	370.6 ± 8.6	411.1 ± 9.0*#	416.2 ± 9.3*#
Масса висцерального жира, г	5.5 ± 0.5	5.2 ± 0.5	21.8 ± 1.2*#	10.7 ± 0.8*#^
САД, мм рт. ст.	131.1 ± 2.2	134.0 ± 1.4	145.3 ± 2.1*#	153.6 ± 2.5*#^

Достоверность различий при  $p < 0.05$ : \* – сравнение с группой “Контроль”; # – сравнение с группой “Контроль-СИ”; ^ – сравнение с группой “ВКД”.

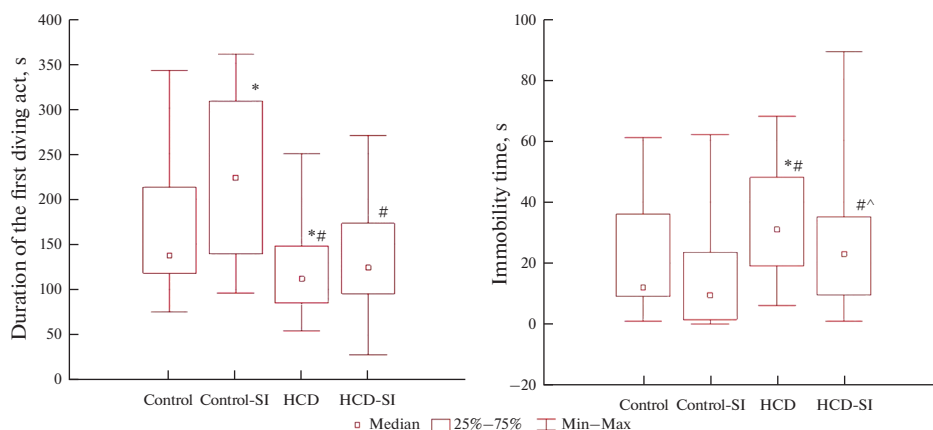
Высококалорийная диета приводила к достоверному нарастанию массы тела крыс в среднем на 10% по отношению к группе “Контроль”, а сочетанное влияние “ВКД-СИ” – на 12% по сравнению с группой “Контроль-СИ”. Эти группы крыс (“ВКД” и “ВКД-СИ”) практически не отличались между собой по средним значениям массы тела. Масса висцерального жира не давала достоверных отличий у крыс групп “Контроль” и “Контроль-СИ”. У крыс группы “ВКД” отмечалось 4-кратное нарастание массы висцерального жира по сравнению с контролем, а у крыс группы “ВКД-СИ” это нарастание носило менее выраженный характер – примерно в 2 раза по сравнению с “Контроль-СИ”. При этом масса висцерального жира в группе “ВКД” двукратно превышала таковую в группе “ВКД-СИ”. Очевидно, что при социальной изоляции нарастание висцерального жира у крыс было менее выраженным, чем при групповом, хотя потребление сала в этих группах крыс было практически одинаковым (6.7 и 6.8 г в день соответственно). Средние показатели САД в обеих группах, получавших стандартный рацион (группы 1, 2), были практически одинаковыми, а у крыс, получавших избыточное питание (группы 3, 4), достоверно нарастали на 11 и 15% соответственно, достигая сопоставимых величин (табл. 1).

Как видно из данных, представленных в табл. 2, значения биохимических показателей крови были практически идентичными в группах “Контроль” и “Контроль-СИ”. Потребление высококалорийного рациона приводило к повышению уровня общего холестерина в сыворотке крови у крыс группы “ВКД-СИ”. Содержание триглицеридов достоверно нарастало только в группе “ВКД”, но не “ВКД-СИ”. Уровень глюкозы достоверно увеличивался в обеих группах по сравнению с контролем.

Определение уровня триглицеридов в ткани ЩЖ показало сопоставимые величины в первых двух группах крыс, получавших стандартную диету, и выявило достоверное повышение показателя при высококалорийной диете независимо от условий содержания по сравнению с контролем. Однако накопление триглицеридов в ткани ЩЖ было наиболее выраженным в группе “ВКД” и достоверно превышало (в 1.5 раза) этот показатель у крыс, получавших сочетанное воздействие – “ВКД-СИ”. Содержание МДА в ткани ЩЖ достоверно нарастало при высококалорийном питании в 3-й группе в 1.4 раза по сравнению с контролем, а в 4-й группе отмечалась только тенденция к его повышению (табл. 2).

Учитывая нарастание массы висцерального жира, повышение САД и метаболические сдвиги, можно констатировать, что у животных, получавших высококалорийное питание, развился экспериментальный метаболический синдром. Потребление практически одинаковых количеств свиного сала в условиях социальной изоляции и при групповом содержании приводило к более выраженному накоплению висцерального жира и к большим метаболическим отклонениям в условиях группового содержания животных (табл. 1, 2).

Оценка психо-эмоционального статуса крыс проводилась с использованием теста Порсолта, который предназначен для выявления депрессивного поведения у



**Рис. 1.** Результаты теста Порсолта у экспериментальных животных (Ме (25; 75)). Достоверность различий при  $p < 0.05$ : \* – сравнение с группой “Контроль”; # – сравнение с группой “Контроль-СИ”; ^ – сравнение с группой “ВКД”.

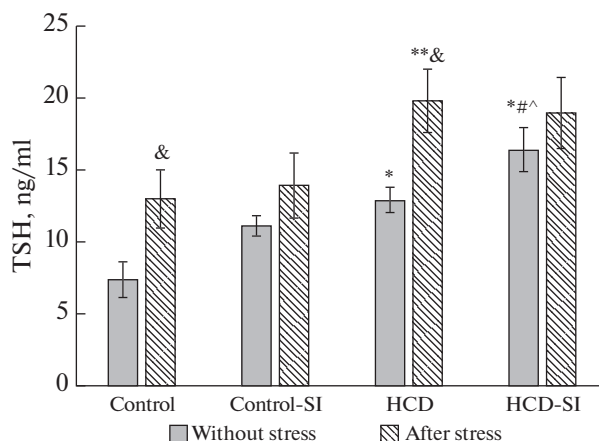
грызунов [8]. Как видно из рис. 1, крысы группы “Контроль-СИ” отличались достоверным, почти 2-кратным увеличением времени первого акта активного плавания по сравнению с группой контроля. У крыс, получавших высококалорийную диету, были выявлены сдвиги противоположной направленности – достоверное уменьшение длительности акта активного плавания и увеличение длительности замираний без движения, что свидетельствует о нарастании депрессивности.

На первом этапе эксперимента, наряду с гормональными показателями, были также изучены характеристики активности некоторых ферментов тиреоидного статуса (табл. 3). Активность ТПО в ткани ЩЖ была практически одинаковой в первых двух группах. На фоне высококалорийного питания было выявлено достоверное снижение активности фермента, почти наполовину от контрольного уровня, независимо от условий содержания животных (табл. 3). В противоположность этому активность D1 печени достоверно повышалась при избыточном питании.

**Таблица 2.** Биохимические показатели сыворотки крови и ткани щитовидной железы у крыс экспериментальных групп ( $M \pm SEM$ )

Показатели	1) Контроль	2) Контроль-СИ	3) ВКД	4) ВКД-СИ
Сыворотка крови				
Общий холестерин, ммоль/л	1.43 ± 0.09	1.50 ± 0.08	1.58 ± 0.07	1.65 ± 0.08*
Триглицериды, ммоль/л	0.55 ± 0.05	0.57 ± 0.09	0.97 ± 0.09*#	0.65 ± 0.07^
Глюкоза, ммоль/л	5.41 ± 0.30	5.86 ± 0.38	6.89 ± 0.27*#	6.39 ± 0.28*
Ткань щитовидной железы				
Триглицериды, ммоль/г ткани	4.52 ± 0.57	3.30 ± 0.63	9.63 ± 0.88*#	6.23 ± 0.51#^
МДА, ммоль/г ткани	59.71 ± 5.13	60.85 ± 8.44	86.49 ± 5.22*#	74.07 ± 5.15

Достоверность различий при  $p < 0.05$ : \* – сравнение с группой “Контроль”; # – сравнение с группой “Контроль-СИ”; ^ – сравнение с группой “ВКД”.



**Рис. 2.** Экспериментальные воздействия на уровень ТТГ в сыворотке крови крыс. Достоверность различий при  $p < 0.05$ : \* – сравнение с группой “Контроль”; # – сравнение с группой “Контроль-СИ”; ^ – сравнение с группой “ВКД”, & – сравнение с животными, которые не подвергались острому стрессу, \*\* – сравнение с группой “Контроль после стресса”; ## – сравнение с группой “Контроль-СИ после стресса”; ^^ – сравнение с группой “ВКД после стресса”.

Гормональные показатели тиреоидного статуса в сыворотке крови представлены на рисунках в виде светлых столбиков – крысы без стресса и в виде заштрихованных столбиков – крысы после стресса. В первую очередь необходимо рассмотреть влияние высококалорийной диеты и социальной изоляции на изучаемые показатели.

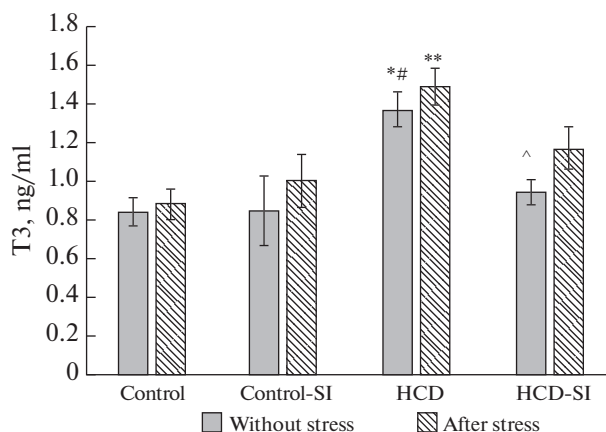
Как видно из рис. 2, значения ТТГ достоверно не отличались у животных первых двух групп (“Контроль” и “Контроль-СИ”) без стресса, хотя во 2-й группе наблюдалась тенденция к нарастанию уровня ТТГ ( $p > 0.05$ ). Высококалорийное питание приводило к достоверному повышению уровня ТТГ по сравнению с контролем в 1.8 раза, а у крыс группы “ВКД-СИ” было отмечено нарастание показателя в 2 раза по сравнению с контролем и в 1.5 раза по сравнению с “Контроль-СИ”. Под влиянием кратковременного стресса в группе контроля наблюдалось достоверное (в 1.8 раза) повышение уровня ТТГ, выраженное повышение гормона было отмечено и в группе ВКД (в 1.5 раза). Однако у крыс, содержащихся в условиях изоляции (“Контроль-СИ” и “ВКД-СИ”) сдвиги ТТГ не достигали статистической значимости (рис. 2).

На фоне избыточного питания было отмечено достоверное повышение уровня общего Т3 в 1.6 раза, общего Т4 – в 1.4 раза, что сочеталось с повышением активности печеночной D1 в 1.7 раза по сравнению с контролем (рис. 3–4, табл. 3). При

**Таблица 3.** Активность ТПО в ткани щитовидной железы и D1 в ткани печени у крыс экспериментальных групп

Показатели	1) Контроль	2) Контроль-СИ	3) ВКД	4) ВКД-СИ
Щитовидная железа				
ТПО, МЕ/мг белка мин	0.69 ± 0.12	0.70 ± 0.13	0.37 ± 0.04 <sup>*#</sup>	0.40 ± 0.08 <sup>*#</sup>
Печень				
D1, нмоль/г ткани ч	90.00 ± 8.27	71.33 ± 7.97	152.56 ± 20.29 <sup>*#</sup>	136.88 ± 14.33

Достоверность различий при  $p < 0.05$ : \* – сравнение с группой “Контроль”; # – сравнение с группой “Контроль-СИ”; ^ – сравнение с группой “ВКД”.



**Рис. 3.** Экспериментальные воздействия на уровень Т3 у крыс экспериментальных групп. Достоверность различий при  $p < 0.05$ : \* – сравнение с группой “Контроль”; # – сравнение с группой “Контроль-СИ”; ^ – сравнение с группой “ВКД”, & – сравнение с животными, которые не подвергались острому стрессу, \*\* – сравнение с группой “Контроль после стресса”; ## – сравнение с группой “Контроль-СИ после стресса”; ^^ – сравнение с группой “ВКД после стресса”.

ВКД в сочетании с социальной изоляцией содержание Т3 и Т4 оставалось в пределах контрольных величин, несмотря на достоверное повышение уровня ТТГ по сравнению с контролем. Содержание Т3 и Т4 в сыворотке крови при ВКД достоверно превосходило таковые при ВКД в сочетании с социальной изоляцией.

После стресса уровень Т3 (рис. 3) оставался относительно стабильным практически во всех экспериментальных группах, тогда как содержание Т4 в сыворотке крыс на фоне стресса достоверно повышалось в группе “Контроль-СИ” (рис. 4).

Как видно из рис. 5 и 6, характер питания и условия содержания животных не повлияли на уровни свободных фракций тиреоидных гормонов. Постстрессорное повышение св. Т3 отмечалось только в группе контроля (рис. 5), а св. Т4 — только у крыс группы “ВКД-СИ” (рис. 6).

Высококалорийная диета и социальная изоляция не вызывали достоверных сдвигов содержания кортизола в сыворотке крови крыс (рис. 7), однако отмечалась тенденция к снижению показателя в группе “Контроль-СИ”.

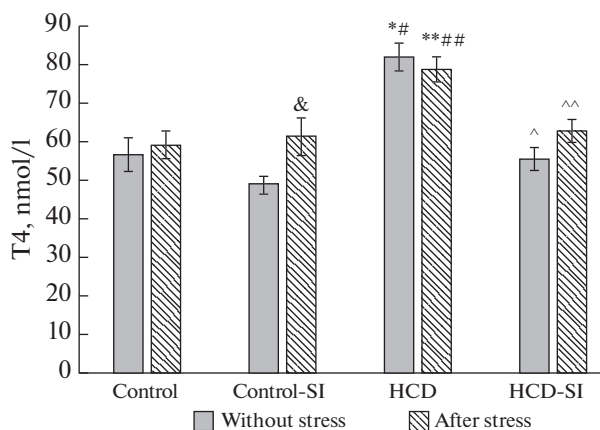
Кратковременное стрессорное воздействие вызывало резкое (в 1.8 раза) повышение уровня кортизола в сыворотке крови крыс контрольной группы по сравнению с таковым у животных, не подвергавшихся плаванию в холодной воде (рис. 7).

Следует охарактеризовать стресс-индуцированные изменения показателей в группе “Контроль” — повышение содержания ТТГ (в 1.8 раза), кортизола (в 1.8 раза) и незначительное нарастание концентрации св. Т3 в сыворотке крови, что, по-видимому, является адекватной физиологической реакцией на кратковременный острый стресс.

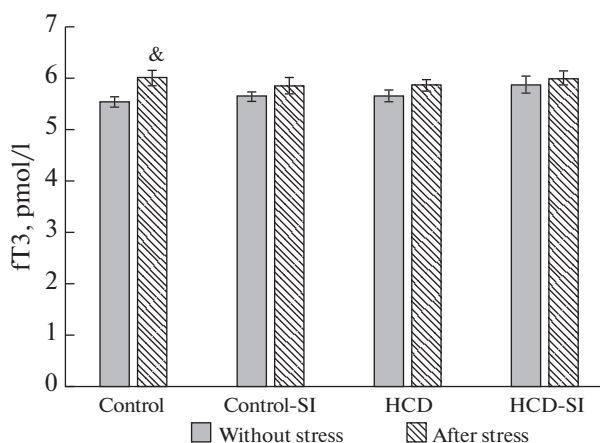
В группе “Контроль-СИ” также отмечалось достоверное повышение уровня кортизола в крови (в 1.8 раза), но отсутствовали изменения таких показателей, как ТТГ и св. Т3, характерные для группы “Контроль”. Среднее значение ТТГ в сыворотке крови крыс “Контроль-СИ” после плавания соответствовало таковому в группе “Контроль” после плавания. Но при этом размер ответа на острое стрессорное воздействие был снижен.

В группе “ВКД” при стрессе было отмечено только нарастание уровня ТТГ в сыворотке крови в 1.5 раза по отношению к животным, которые не плавали. Выброс кортизола в кровь через 1 ч после стресса не был зарегистрирован.





**Рис. 4.** Экспериментальные воздействия на уровень Т4 у крыс экспериментальных групп. Достоверность различий при  $p < 0.05$ : \* – сравнение с группой “Контроль”; # – сравнение с группой “Контроль-СИ”; & – сравнение с группой “ВКД”, & – сравнение с животными, которые не подвергались острому стрессу, ^ – сравнение с группой “Контроль после стресса”; \*\* – сравнение с группой “Контроль-СИ после стресса”; ## – сравнение с группой “ВКД после стресса”.

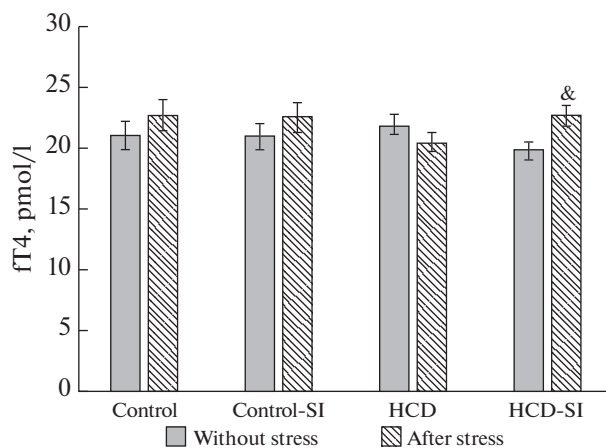


**Рис. 5.** Экспериментальные воздействия на уровень св. Т3 у крыс экспериментальных групп. Достоверность различий при  $p < 0.05$ : \* – сравнение с группой “Контроль”; # – сравнение с группой “Контроль-СИ”; & – сравнение с группой “ВКД”, & – сравнение с животными, которые не подвергались острому стрессу, ^ – сравнение с группой “Контроль после стресса”; \*\* – сравнение с группой “Контроль-СИ после стресса”; ## – сравнение с группой “ВКД после стресса”.

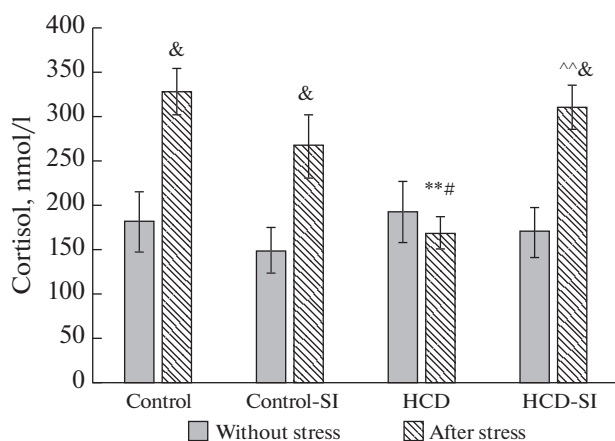
В группе “ВКД-СИ” отмечалось повышение уровня кортизола после стресса по аналогии с группой контроля (в 1.8 раза), но реакция со стороны ТТГ отсутствовала. Последнее может быть связано с исходно повышенным уровнем показателя, который более чем в 2 раза превышал значение контроля.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Из литературы известно, что изоляция грызунов в раннем детском возрасте вызывает у них впоследствии выраженную тревожность и депрессивность, сопровож-



**Рис. 6.** Экспериментальные воздействия на уровень св. Т4 у крыс экспериментальных групп. Достоверность различий при  $p < 0.05$ : \* – сравнение с группой “Контроль”; # – сравнение с группой “Контроль-SI”; ^ – сравнение с группой “ВКД”, & – сравнение с животными, которые не подвергались острому стрессу, \*\* – сравнение с группой “Контроль после стресса”; ## – сравнение с группой “Контроль-SI после стресса”; ^^ – сравнение с группой “ВКД после стресса”.



**Рис. 7.** Экспериментальные воздействия на уровень кортизола у крыс экспериментальных групп. Достоверность различий при  $p < 0.05$ : \* – сравнение с группой “Контроль”; # – сравнение с группой “Контроль-SI”; ^ – сравнение с группой “ВКД”, & – сравнение с животными, которые не подвергались острому стрессу, \*\* – сравнение с группой “Контроль после стресса”; ## – сравнение с группой “Контроль-SI после стресса”; ^^ – сравнение с группой “ВКД после стресса”.

даемую снижением уровня кортикостерона в крови (хронический стресс изоляции) и изменениями показателей нейропластичности [12, 13]. При изоляции взрослых животных такие характерные сдвиги могут отсутствовать, но чаще всего отмечается гиперактивный фенотип [12, 13]. В наших экспериментах при испытании в тесте Порсолта у животных группы “Контроль-SI” было выявлено достоверное увеличение времени первого акта активного плавания по отношению к группе контроля. У животных группы “ВКД” отмечались противоположные сдвиги – уменьшение времени первого акта активного плавания и нарастание длитель-

ности замираний. Эти характеристики, по-видимому, свидетельствуют о развитии активного фенотипа на фоне стресса изоляции и признаков депрессивности при высококалорийном питании в условиях группового содержания животных.

В литературе существуют неоднозначные сведения о влиянии социальной изоляции на массу тела животных. Одни авторы указывают на то, что при избыточном питании социальная изоляция у взрослых грызунов способствует нарастанию ожирения и соответствующему изменению метаболических функций [14], а другие — сообщают противоположные результаты [15, 16]. Используемая нами модель социальной изоляции ограничивала нарастание висцерального ожирения и характерных метаболических и гормональных сдвигов, сопутствующих ожирению, а также повышала активность животных в тесте Порсолта. Крысы группы “ВКД” имели наиболее выраженное висцеральное ожирение и проявляли склонность к развитию депрессивности в тесте Порсолта.

Что касается особенностей тиреоидного статуса при ВКД, то в нашей экспериментальной работе подтвердились клинические наблюдения, констатирующие повышение уровня ТТГ при ожирении [2]. Этот факт можно было бы интерпретировать, как показатель гипотиреоза у пациентов с ожирением, однако в наших экспериментах нарастание уровня ТТГ регистрировалось на фоне повышенных концентраций Т3 и Т4 в крови у крыс. Современные исследования свидетельствуют о том, что лептин, вырабатываемый адипоцитами, оказывает регулирующее влияние на секрецию ТТГ — активирует ось гипоталамус-гипофиз-ЩЖ путем влияния на нейроны паравентрикулярного ядра, ответственного за выработку тиреотропин-рилизинг гормона [17]. Высказывается мнение, что повышение уровня ТТГ при ожирении не является следствием гипотиреоза, а служит механизмом, направленным на активацию основного обмена [17]. В нашей работе были выявлены и другие адаптивные компоненты реакции, направленной на активацию метаболизма при избыточном высококалорийном питании и висцеральном ожирении — активация печеночной D1 и повышение уровней Т3 и Т4 в крови. Известно, что Т3 повышает интенсивность липолиза в жировой ткани посредством цАМФ-зависимых механизмов, и, таким образом, влияет на липолиз синергично с адренергической системой [17]. Однако в условиях социальной изоляции характерные для ВКД сдвиги Т3 и Т4 в сыворотке крови отсутствовали, несмотря на повышенный уровень ТТГ.

Заслуживает внимания факт снижения активности ТПО в ткани ЩЖ в группах “ВКД” и “ВКД-СИ”. Возможно, это объясняется накоплением триглицеридов в ткани ЩЖ при ожирении и их токсическим влиянием на функцию органа, что было отмечено и в других работах [18], либо связано с нарастанием свободно-радикальных процессов, это подтверждается повышением уровня МДА (табл. 2). Угнетение активности ТПО при длительном избыточном питании и висцеральном ожирении может свидетельствовать о тенденции к снижению функции ЩЖ, что в перспективе может привести к развитию гипотиреоза.

В литературе очень мало публикаций, рассматривающих проблему ожирения в плане влияния на реактивность регуляторных систем организма в условиях стресса, хотя известно, что при ожирении изменяется целый ряд нейроэндокринных процессов. Изучение реакции на кратковременный стресс в наших экспериментах показало, что у крыс с наиболее выраженным висцеральным ожирением (группа “ВКД”) отсутствует стресс-индуцированное повышение уровня кортизола в крови через 1 ч после воздействия. Можно предположить, что это связано с нейробиологическими механизмами депрессивности у животных с ожирением. По данным литературы пациенты с депрессией отличаются существенными изменениями в системе гипоталамус-гипофиз-кора надпочечников, причем, для пациентов с депрессией характерно притупление реакции гипоталамус-гипофиз-надпочечники и симпатической реакции на острый стресс [19–21]. Существуют сведения о биоло-

гической связи между диабетом 2-го типа, характерным для ожирения, депрессивностью и дисрегуляцией в системе гипоталамус-гипофиз-надпочечники, включая реакцию на стресс [22].

Что касается модели социальной изоляции, то у крыс группы “Контроль-СИ” отмечалось повышение активности в тесте Порсолта и тенденция к нарастанию уровня ТТГ, предположительно, в результате хронического стресса изоляции. На фоне длительной социальной изоляции (группы “Контроль-СИ” и “ВКД-СИ”) не проявлялся выброс ТТГ в ответ на кратковременный стресс, который был характерен для крыс группы контроля.

Таким образом, характер питания, а также дефицит социальной активности являются факторами, которые модулируют состояние регуляторных систем и изменяют их реактивность в ответ на острое стрессорное воздействие.

#### Выводы:

1. Высококалорийная четырехмесячная диета вызывает достоверное нарастание массы тела и массы висцерального жира, систолического артериального давления, уровня глюкозы и триглицеридов в сыворотке крови крыс-самцов линии Вистар. Висцеральное ожирение и повышение уровня триглицеридов наиболее выражено при групповом содержании животных по сравнению с их индивидуальным содержанием в условиях социальной изоляции.

2. Результаты теста Порсолта свидетельствуют о нарастании депрессивности у крыс, получавших высококалорийную диету и о проявлениях активного фенотипа у животных, содержащихся в условиях социальной изоляции.

3. Высококалорийная диета приводит к достоверному нарастанию уровня ТТГ, общих фракций тироксина и трийодтиронина в сыворотке крови крыс, а также к повышению активности печеночной D1, что, по-видимому, носит адаптивный характер, направленный на активацию метаболизма. В условиях сочетанного воздействия высококалорийной диеты и социальной изоляции повышение уровней тироксина и трийодтиронина в крови не наблюдается.

4. На фоне высококалорийной диеты в ткани щитовидной железы регистрируется уменьшение активности ТПО, а также повышение уровней триглицеридов и малонового диальдегида, что в перспективе может привести к снижению функции щитовидной железы.

5. Реакция на кратковременный острый стресс у животных контрольной группы включает резкое повышение содержания кортизола и ТТГ, а также и некоторое нарастание уровня свободного трийодтиронина в сыворотке крови.

6. У крыс, получавших высококалорийную диету, через 1 ч после стресса также отмечается повышенный выброс ТТГ в кровь, но при этом содержание кортизола остается практически без изменений.

7. При индивидуальном содержании животных (социальная изоляция), независимо от характера диеты, наблюдается типичная реакция на стресс в виде выброса кортизола в кровь через 1 ч после воздействия. Однако у этих животных реакция ТТГ на острый стресс не проявляется, поскольку уровень этого показателя является уже несколько повышенным на фоне хронического стресса социальной изоляции.

Таким образом, социальная изоляция и высококалорийная диета, вызывают у крыс-самцов линии Вистар противоположно направленные изменения поведенческих реакций. Эти воздействия, а также их сочетания приводят к специфическим сдвигам функциональной активности оси гипофиз-щитовидная железа и надпочечники, что, в свою очередь, вносит коррективы в физиологическую реакцию на кратковременное стрессорное воздействие.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена на средства государственного бюджета Института физиологии НАН Беларуси в рамках ГПНИ “Фундаментальные и прикладные науки – медицине”, тема НИР “Изучить нейроэндокринные механизмы склонности крыс к ожирению”, № регистрации 20200320 от 16.03.20 г.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

## ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы (Т.А.М.), планирование эксперимента и сбор данных (Т.А.М., Е.Н.Ч., А.А.Б.), обработка данных (Е.Н.Ч.), написание и редактирование манускрипта (Т.А.М., Е.Н.Ч., А.А.Б.).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Engin A* (2017) The definition and prevalence of obesity and metabolic syndrome. *Adv Exp Med Biol* 960: 1–17. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5_1)
2. *Biondi B* (2010) Thyroid and Obesity: An Intriguing Relationship. *J Clin Endocrinol Metab* 95(8): 3614–3617. <https://doi.org/10.1210/jc.2010-1245>
3. *Blasco BV, García-Jiménez J, Bodoano I, Gutiérrez-Rojas L* (2020) Obesity and Depression: Its Prevalence and Influence as a Prognostic Factor: A Systematic Review. *Psychiatry Invest* 17(8): 715–724. <https://doi.org/10.30773/pi.2020.0099>
4. *Fortunato RS, Ignácio DL, Padron AS, Peçanha R, Marassi MP, Rosenthal D, Werneck-de-Castro JPS, Carvalho DP* (2008) The effect of acute exercise session on thyroid hormone economy in rats. *J Endocrinol* 198(2): 347–353. <https://doi.org/10.1677/JOE-08-0174>
5. *Helmreich DL, Tylee D* (2011) Thyroid hormone regulation by stress and behavioral differences in adult male rats. *Horm Behav* 60(3): 284–291. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2011.06.003>
6. *Wong I S K, Chin K-Y, Suhaimi FH, Fairus A, Ima-Nirwana S* (2016) Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutrition and metabolism* 13: 65–76. <https://doi.org/10.1186/s12986-016-0123-9>
7. *Mumtaz F, Khan MI, Zubair M, Dehpour AR* (2018) Neurobiology and consequences of social isolation stress in animal model-A comprehensive review. *Biomed Pharmacother* 105: 1205–1222. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.05.086>
8. *Porsolt RD, Berlin A, Jalfre M* (1977) Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Intern Pharmacodyn* 229: 327–336.
9. *Митюкова ТА, Чудиловская ЕН, Мигалевич АС* (2020) Определение активности тиреопероксидазы в ткани щитовидной железы (экспериментальное исследование). *Лаб диагност. Восточн Европа* 9(3): 285–293. [*Mityukova TA, Chudilovskaya EN, Migalevitch AS* (2020) Determination of thyroid peroxidase activity in thyroid tissue (experimental study). *Lab Diagnost. Eastern Europe* 9(3): 285–293. (In Russ)].
10. *Kaplan MM, Utiger RD* (1978) Iodothyronine metabolism in rat liver homogenates. *J Clin Invest* 61:459–471. <https://doi.org/10.1172/JCI108957>
11. *Müller GA, Mathias B* (1986) Thiobarbituric acid positive substances as indicators of lipid peroxidation. *Z Gesamte Inn Med* 41(24): 673–676.
12. *Ieraci A, Mallei A, Popoli M* (2016) Social isolation stress induces anxious-depressive-like behavior and alterations of neuroplasticity-related genes in adult male mice. *Neural Plast* 2016: 6212983. <https://doi.org/10.1155/2016/6212983>
13. *Begni V, Sanson A, Pfeiffer N, Brandwein C, Inta D, Talbot SR, Riva MA, Gass P, Mallien AS* (2020) Social isolation in rats: Effects on animal welfare and molecular markers for neuroplasticity. *PLoS One* 15(10): e0240439. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240439>
14. *Sun M, Choi EY, Magee DJ, Stets CW, During MJ, Lin ED* (2014) Metabolic effects of social isolation in adult C57BL/6 mice. *Int Sch Res Notices* 2014: 690950. <https://doi.org/10.1155/2014/690950>

15. Balsevich G, Uribe A, Wagner KV, Hartman J, Santarelli S, Labermaier C, Schmidt MV (2014) Interplay between diet-induced obesity and chronic stress in mice: potential role of FKBP51. *J Endocrinol* 222(1): 15–26.  
<https://doi.org/10.1530/JOE-14-0129>
16. Patterson ZR, Abizaid A (2013) Stress induced obesity: lessons from rodent models of stress. *Front Neurosci* 7: 130.  
<https://doi.org/10.3389/fnins.2013.00130>
17. Santini F, Marrullo P, Rotondi M, Ceccarini G, Pagano L, Ippolito S, Chiovato L, Biondi B (2014) The crosstalk between thyroid gland and adipose tissue: signal integration in health and disease. *Eur J Endocrinol* 171(4): R137–R152.  
<https://doi.org/10.1530/EJE-14-0067>
18. Shao S, Zhao Y, Song Y, Xu C, Yang J, Xuan S, Yan H, Yu C, Zhao M, Xu J, Zhao J (2014) Dietary high-fat lard intake induces thyroid dysfunction and abnormal morphology in rats. *Acta Pharmacol Sin* 35(11): 1411–1420.  
<https://doi.org/10.1038/aps.2014.82>
19. Yoon KL, Joormann J (2012) Stress reactivity in social anxiety disorder with and without comorbid depression. *J Abnorm Psychol* 121(1): 250–255.  
<https://doi.org/10.1037/a0025079>
20. Steudte-Schmiedgen S, Wichmann S, Stalder T, Hilbert K, Muehlhan M, Lueken U, Beesdo-Baum K (2017) Hair cortisol concentrations and cortisol stress reactivity in generalized anxiety disorder, major depression and their comorbidity. *J Psychiatr Res* 84: 184–190.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2016.09.024>
21. Funke R, Eichler A, Distler J, Golub Y, Kratz O, Moll GH (2017) Stress system dysregulation in pediatric generalized anxiety disorder associated with comorbid depression. *Stress Health* 33(5): 518–529.  
<https://doi.org/10.1002/smi.273622>
22. Joseph JJ, Golden SH (2017) Cortisol dysregulation: the bidirectional link between stress, depression, and type 2 diabetes mellitus. *Ann NY Acad Sci* 1391(1): 20–34.  
<https://doi.org/10.1111/nyas.13217>

### The Reaction of the Thyroid System to Short-Term Stress in Wistar Rats with Visceral Obesity and Limited Social Activity

T. A. Mityukov<sup>a, \*</sup>, E. N. Chudilovskaya<sup>a, \*\*</sup>, and A. A. Basalai<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

<sup>\*</sup>*e-mail: mityukovai@gmail.com*

<sup>\*\*</sup>*e-mail: e.chudilovskaya@gmail.com*

The problem of obesity requires the study of pathophysiological consequences affecting hormonal regulation and reactivity of the body to extreme effects. The aim of the study was to study the effect of a high-calorie diet and social isolation on the development of obesity, its metabolic and behavioral consequences, features of thyroid status, and at the second stage – to assess the reaction of hormonal indicators of thyroid status to short-term stress in rats. The experiments were carried out on male Wistar rats and included: a high-calorie diet and social isolation, as well as their combinations for 4 months. At the end of the experiment, behavioral reactions, indicators of metabolic syndrome, thyroid status and cortisol levels were evaluated. At the second stage of the experiment, the animals were subjected to short-term acute stress, 1 hour after which shifts in hormonal parameters were recorded compared to the initial background. A high-calorie diet led to the development of metabolic syndrome, signs of depression, increased levels of TSH, thyroxine and triiodothyronine in the blood serum, as well as D1 activity in the liver of rats, while there was a decrease in the activity of thyroperoxidase and an increase in the level of triglycerides and malondialdehyde in the thyroid of rats. The physiological response to stress in the control group rats included an increase in the level of cortisol and TSH in the blood serum, however, against the background of a high-calorie diet, no release of cortisol into the blood was recorded. Social isolation did not change the normal reactivity of the adrenal cortex, but it reduced the release of TSH in response to acute stress, since the content of this hormone was initially slightly elevated against the background of chronic stress of social isolation. Thus, excessive nutrition and lack of social activity in male Wistar rats lead to significant changes in the organism's response to acute stress.

*Keywords:* rat, high-calorie diet, social isolation, stress, thyroid system, cortisol