

## ТЕПЛОВОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ СНИЖАЕТ УРОВЕНЬ ТРЕВОЖНОСТИ У КРЫС

© 2019 г. М. В. Чернышев<sup>1</sup>, \*, О. А. Сапач<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург, Россия

\*E-mail: netmisha@mail.ru

Поступила в редакцию 24.12.2018 г.

После доработки 04.03.2019 г.

Принята к публикации 06.03.2019 г.

Белок стресса, или белок теплового шока 70 кДа (Hsp70) является основным компонентом одной из наиболее консервативных систем защиты клеток и организмов от различных повреждающих факторов. Легкодоступным методом увеличения экспрессии Hsp70 в организме, в различных его органах и тканях, включая ЦНС, является тепловое прекондиционирование (ТП), то есть нагревание организма до температуры 41–42°C. Задачей настоящего исследования явилось выяснение возможностей снижения уровня тревожно-подобного поведения крыс в тесте приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) с помощью однократного применения ТП. Показано, что через сутки после процедуры ТП у крыс отмечалось снижение уровня тревожности, о котором судили по увеличению числа и времени входов в открытые рукава ПКЛ и процентному соотношению числа входов в открытые рукава к общему числу всех входов по сравнению с контролем. Вместе с тем, отмечалось увеличение числа входов в закрытые рукава и увеличение числа заглядываний в открытые рукава и свешиваний с них, что может указывать на отдельные признаки повышения уровней двигательной и исследовательской активностей. Полученные данные свидетельствуют о способности ТП оказывать отчетливое анксиолитическое действие, что могло бы найти применение при разработке неинвазивных способов коррекции тревожных состояний.

*Ключевые слова:* тепловое прекондиционирование, белки теплового шока, эмоциональное поведение, тревожность, крысы

DOI: 10.1134/S0869813919050029

За последние десятилетия резко возрос интерес к молекулярным шаперонам, особенно к белкам теплового шока семейства Heat Shock Proteins 70 kDa (HSP70), являющимися главными компонентами одной из наиболее консервативных систем защиты клеток и организмов от стресса и различных повреждающих факторов. Семейство HSP70 включает 4 члена: глюкозо-регулируемый белок GRp78, митохондриальный Mtp70, и два цитоплазматических белка – стресс-индуцибельный Hsp70 и конститутивный Hsc70. Hsp70 – это первый белок, получивший название шаперон (от франц. *chaperonner* – *покровительствовать, сопровождать*), экспрессия Hsp70 многократно возрастает в ответ на стрессорное для клетки и организма воздействие. Функция шаперона Hsp70 в клетке заключается в том, что он связывается с поврежденными при стрессе белками и исправляет нарушенную пространственную структуру белков. Включая шаперонную систему, в клетке запускается процесс,

направленный на спасение чувствительных к стрессу ферментативных и регуляторных белков. Именно с шаперонной активностью связывают защитные эффекты Hsp70 при ишемии мозга, сердца, тепловом ударе, сепсисе, эпилепсии и нейродегенеративных заболеваниях [1–4].

Повышение температуры тела на 3–4°C позволяет довольно быстро достичь мощной экспрессии Hsp70 у животных. Эта особенность легла в основу широко распространённого и легко воспроизводимого метода повышения резистентности клеток, органов и организма в целом к последующему более тяжелому стрессу – тепловому прекондиционированию (ТП). Обычно процедура сводится к подъёму температуры тела экспериментального животного (в диапазоне 40.5–42°C у грызунов) и удержания ее в течение 10–30 мин путем подачи внешнего тепла в специальной термокамере. Применение ТП приводит к повышению содержания Hsp70 в клетках через 24–48 ч [5, 6]. Увеличение уровня Hsp70 после ТП выявлено в различных органах и тканях — сердце, скелетных мышцах, почках, кишечнике, поджелудочной железе, надпочечниках, периферической крови, структурах головного мозга [5, 7, 8]. Показано, что применение ТП в режимах различной продолжительности (15, 30, 45 и 60 мин) способствовало увеличению выживаемости и устойчивости к последующему тепловому удару у мышей [9]. Указывается, что выраженность позитивного эффекта положительно коррелирует с длительностью тепловой экспозиции, однако это повышает риск гибели животных после самой процедуры ТП. Показано, что максимальное повышение уровня шаперона Hsp70 в мозге крыс отмечалось через 24 ч после ТП и наблюдалось в глии, эндотелиальных клетках хориоидных сплетений, в нейронах зубчатой извилины гиппокампа, нейросекреторных ядрах гипоталамуса, зернистом слое мозжечка и обонятельной области, в пре- и постсинаптической мембранах [5, 8–11]. При остром и хроническом иммобилизационном стрессе также заметно возрастает уровень Hsp70 в различных отделах мозга у крыс [12]. В исследованиях *in vitro* на срезах продолговатого мозга мышей ТП приводило к повышению содержания Hsp70 и предотвращало нарушения синаптической передачи ГАМК, глутамата и глицина, индуцированные тепловым стрессом [13]. Сходный защитный эффект отмечался при инкубации срезов в растворе, содержащем рекомбинантный Hsp70, что указывает на главенствующую роль Hsp70 в реализации стресс-протективных эффектов ТП. Широкая представленность повышенного уровня Hsp70 в различных структурах мозга, нервных клетках и синаптических элементах позволяет предполагать его участие в модуляции интегративных функций мозга и поведения. Об этом указывают и данные, имеющиеся в литературе. На модели умеренного психоэмоционального стресса у животных показано [14], что введение Hsp70 в 3-й желудочек мозга сразу после тотальной депривации сна способствует усилению стресс-лимитирующей функции медленного сна, более быстрому устранению последствий стресса и восстановлению соматовегетативных показателей. Кратковременное ТП (нагревание животного до ректальной температуры 41°C в течение 5 мин) у крыс с наследственной формой эпилепсии увеличивает содержание Hsp70 в эпилептогенных структурах головного мозга и повышает в 2.8 раза латентный период аудиогенных судорог [15]. Показан существенный модулирующий вклад шаперонов HSP70 в реализацию антистрессовых и анксиолитических эффектов морфина в тесте приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) [12]. Однако возможность коррекции тревожно-подобного поведения с помощью ТП в данной работе не затрагивалась. По этому вопросу имеются противоречивые сведения. Так, в одной из работ сообщается об анксиолитическом действии ТП в тесте ПКЛ при хроническом стрессе у мышей [16]. В двух других публикациях [17, 18], напротив, был показан анксиогенный эффект нагревания животных.

Задача настоящего исследования – выяснить, способно ли однократное применение ТП снизить уровень тревожно-подобного поведения крыс.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 31 самце крыс популяции Вистар, массой 210–260 г в возрасте 4.5 мес., которых содержали в виварии при постоянной температуре окружающей среды  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  и свободном доступе к воде и пище. Манипуляции с животными осуществлялись в соответствии с протоколом, утвержденным комитетом по охране животных ИЭФБ РАН, находящимся в соответствии с национальными и международными требованиями.

Животные были разбиты на 2 группы в случайном порядке – а) контрольную и б) с ТП, подвергавшуюся однократному тепловому воздействию по типу “сауны” [15]. Эксперименты начинались в 13:00. Наркотизированные животные (золетил 50 мг/кг, внутримышечно) помещались в камеру и находились в ней при температуре  $50^\circ\text{C}$  в течение 15 мин с момента достижения ректальной температуры  $41\text{--}42^\circ\text{C}$ . Контрольную группу также наркотизировали, но в камеру не помещали. Спустя сутки, проводили анализ поведения животных обеих групп в тесте ПКЛ.

Тест использовался для оценки тревожности, а также двигательной и исследовательской активностей [19, 20]. Установка ПКЛ представляла собой крестообразную пластиковую конструкцию, приподнятую на высоту 50 см от пола. Лабиринт состоял из 2 закрытых рукавов (ЗР) и 2 открытых рукавов (ОР), каждый из которых был разделен на 5 равных квадратов ( $10 \times 10$  см). Длина каждого из рукавов составляла 50 см с высотой бортов для ЗР 40 см. Тест начинался с помещения животного в центр пересечения четырех рукавов, после чего производилась видеорегистрация (5 мин) с последующей обработкой по программе RealTimer 1.21 (“НПК Открытая Наука”, Москва). Оценивались количественные и временные характеристики различных паттернов горизонтальной и вертикальной активности. Выделялись следующие домены поведения: тревожность (по значениям входов в ОР, пройденных квадратов в ОР и процентному соотношению числа входов в ОР к общему числу входов), двигательная активность (по значениям входов в ЗР и вертикальных стоек), исследовательская активность (по значениям заглядываний в ОР и свешиваний с ОР), эмоциональная реактивность (по значениям завершенных и незавершенных грумингов, фризингов, дефекаций и латентности входа в ОР). Более детальный перечень поведенческих параметров представлен в табл. 1.

Статистический анализ данных, полученных в двух независимых группах сравнения (контрольная группа и группа с ТП) проводили с помощью программы Statistica 7.1., Statsoft inc. Для выявления различий между группами использовался параметрический *t*-критерий Стьюдента, поскольку полученные данные имели нормальное распределение по тесту Колмогорова–Смирнова. Полученные результаты считались статистически значимыми при  $p \leq 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ поведения животных в тесте ПКЛ позволил выявить ряд статистически значимых различий между опытной группой, подвергавшейся ТП, и контрольной. В табл. 1 приведены данные, показывающие, что у группы крыс с ТП значительно увеличивается уровень таких показателей как число входов в ОР, число пройденных квадратов в ОР, общее время входов в ОР, число свешиваний с ОР, число заглядываний в ОР, число входов в ЗР, общее время входов в ЗР и процент числа входов в ОР к общему числу входов одновременно с уменьшением общего времени входов в ЗР по сравнению с контролем. Сравнение значений остальных перечисленных в таблице показателей не выявило статистически значимых различий ( $p > 0.05$ ) между указанными группами.

**Таблица 1.** Влияние теплового прекондиционирования (ТП) на поведение крыс в тесте поднятого крестообразного лабиринта

Поведенческие показатели/Направленность эффекта	Контрольная группа, $n = 16$ ( $M \pm SEM$ )	Группа с ТП, $n = 14$ ( $M \pm SEM$ )
1. Число входов в ОР/+	0.8 $\pm$ 0.4	3.2** $\pm$ 0.9
2. Число пройденных квадратов в ОР/+	0.8 $\pm$ 0.4	4.4*** $\pm$ 1.1
3. Общее время входов в ОР (с)/+	6.9 $\pm$ 3.6	27.3** $\pm$ 6.9
4. Число свешиваний с ОР/+	0.6 $\pm$ 0.3	3.1** $\pm$ 0.9
5. Число заглядываний в ОР/+	2.7 $\pm$ 0.8	6.9** $\pm$ 1.3
6. Общее время входов в ЗР, с/–	276 $\pm$ 8.7	143** $\pm$ 11
7. Число входов в ЗР/+	1.8 $\pm$ 0.2	3.7** $\pm$ 0.6
8. Процент числа входов в ОР/+	12.7 $\pm$ 5.8	36.3** $\pm$ 5.8
9. Число фризингов/0	3.2 $\pm$ 0.5	2.1 $\pm$ 0.4
10. Общее время фризингов, с/0	15 $\pm$ 3	13 $\pm$ 4
11. Число вертикальных стоек/0	4.5 $\pm$ 0.7	4.9 $\pm$ 0.9
12. Латентность входа в ОР/0	32.3 $\pm$ 13	46.7 $\pm$ 16
13. Число грумингов/0	29.8 $\pm$ 7.4	18.4 $\pm$ 5.6
14. Общее время грумингов, с/0	1.6 $\pm$ 0.3	1.9 $\pm$ 0.5
15. Число неполных грумингов/0	1.3 $\pm$ 0.3	1.7 $\pm$ 0.5
16. Общее время неполных грумингов, с/0	13.1 $\pm$ 4.2	12.5 $\pm$ 3.5
17. Число полных грумингов/0	0.3 $\pm$ 0.2	0.1 $\pm$ 0.1
18. Общее время полных грумингов, с/0	14.4 $\pm$ 7.3	5.9 $\pm$ 4
19. Число дефекаций/0	3 $\pm$ 0.8	2.8 $\pm$ 1

ОР – открытые рукава; ЗР – закрытые рукава. \*\* –  $p \leq 0.01$ , \*\*\* –  $p \leq 0.001$ . + увеличение, – уменьшение, 0 – отсутствие значимых изменений.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученный в работе комплекс поведенческих изменений, обнаруженных в тесте ПКЛ вследствие применения процедуры ТП, может свидетельствовать об анксиолитической направленности влияния данного фактора. Такое предположение основывается на анализе данных, полученных при рассмотрении традиционных показателей тревожности [21]. Отметим основные концепции и методические подходы к оценке тревожно-подобного поведения у животных на модели ПКЛ в контексте их сопоставления с полученными результатами. Поведение животного в ПКЛ, как известно, организовано на основе баланса двух конфликтных мотиваций – неофобии и неофилии, которые являются естественными реакциями на новизну тестовой обстановки [22, 23]. Первая базируется на врожденном страхе грызунов перед открытым пространством (тигмотаксис) и высотой, а вторая обусловлена противоположным стремлением – исследовать незнакомые условия. Согласно традиционной парадигме основными критериями усиления или ослабления уровня тревожности животного в данном тесте является уменьшение или увеличение числа и времени пребываний в незащищенной зоне, т.е. в открытых рукавах лабиринта [24].

Результаты настоящего исследования показали, что группа животных, подвергавшаяся воздействию ТП, демонстрирует как по пространственным, так и по временным характеристикам более высокую активность в открытых рукавах (табл. 1, показатели 1–5) по сравнению с контрольной группой. Важным моментом при оценке анксиолитического/анксиогенного эффекта является учет возможного

влияния фактора двигательной активности на количественные показатели поведения в открытых рукавах лабиринта. Уместен вопрос — в какой мере обнаруженная в работе перестройка поведенческого репертуара была обусловлена изменениями двигательной активности? В наших опытах отмечено увеличение числа входов в закрытые рукава ПКЛ, что указывает на более высокий уровень двигательной активности в группе с ТП [20]. В этой связи информативным показателем, отсекающим вклад локомоторного компонента поведения и свидетельствующим об изменении уровня тревожности животного, считается соотношение числа входов в открытые рукава к общему числу входов [18]. Подсчитано, что доля тревожности в этом показателе составляет примерно 95% [25]. В нашем исследовании этот показатель имел существенно более высокое значение в группе ТП (табл. 1, показатель 8), что позволяет предполагать определяющее значение анксиолитического фактора в обнаруженных поведенческих изменениях.

Наряду с общепринятыми базовыми показателями оценки уровня тревожности в ПКЛ, весьма полезным является учет дополнительных этологических характеристик поведения, формирующих целостную картину того или иного состояния животного [26–28]. Одним из наиболее чувствительных маркеров тревожности является исследовательский компонент поведения. На этот счет существует достаточно обоснованная гипотеза о том, что реализация исследовательской активности является результатом растормаживания, обусловленного фактором тревожности [29, 30]. Иначе говоря, наблюдается обратная пропорциональная зависимость — чем ниже уровень тревожности, тем выше уровень исследовательской активности, и наоборот. Стандартными показателями оценки исследовательской активности животных в ПКЛ являются заглядывания в открытые рукава и свешивания с них [31, 32]. Последний параметр, по мнению профессора И.П. Лапина [33], может даже претендовать на роль самого надежного показателя тревожно-подобного поведения в тесте ПКЛ. Полученные в нашей работе данные свидетельствуют об отчетливом увеличении числа свешиваний и заглядываний в ОР, что может являться дополнительным аргументом в пользу анксиолитического эффекта ТП.

Исследовательская активность имеет положительную корреляцию с двигательной активностью [34]. Данная связь обнаруживается и в нашем исследовании — на основании увеличения числа входов в ЗР. Хотя по другому показателю двигательной активности — числу вертикальных стоек [35], не удалось выявить значимых различий между исследуемыми группами животных. Вертикальные стойки часто связывают с эмоциональным поведением [36], изменение в котором не было обнаружено и по другим этологическим показателям: латентность входа в ОР, характеристики груминга, фризинга и число дефекаций (табл. 1).

Проведенное исследование позволяет сделать заключение, что ТП, вызывающее массивную экспрессию шаперона Hsp70, приводит к заметному изменению баланса паттернов поведения животных в тесте ПКЛ, где наиболее значимым представляется выраженное снижение уровня тревожности. При этом выявленные эффекты затрагивают все традиционные показатели и отдельные этологические параметры, указывающие на анксиолитическое действие.

Изменения тревожно-подобного поведения существенно зависят, по-видимому, от интенсивности тепловой нагрузки и условий. Так, нагревание крыс в течение 4 ч при температуре 38°C в отсутствие анестезии (фактор, усиливающий стрессорный характер тепловой нагрузки) приводило не к уменьшению, а к увеличению тревожности в тесте ПКЛ [17]. Выявленное в этой работе анксиогенное действие может быть обусловлено чрезмерным тепловым стрессом — длительность сеанса ТП во много раз превышала значение таковой, которая использовалась в нашей работе. В работе [18] отмечался эффект схожей направленности в тестах открытое поле и приподнятый 0-образный лабиринт. Продолжительность экспозиции здесь была

существенно короче (30 мин). Однако в качестве объекта были выбраны крысы линии Спрег-Доули препубертатного периода развития (30 дней), для которых вполне закономерно ожидать, что применяемое термическое воздействие при отсутствии наркоза может представлять собой довольно сильный стрессор, вызывающий негативные психо-эмоциональные реакции. Исходя из этого, используемые в этих работах воздействия следовало бы скорее отнести к тепловому стрессу, а не к ТП как средству термальной терапии, примененному в нашем исследовании.

В исследовании [16] сравнивалось тревожно-подобное поведение мышей в тестах приподнятого крестообразного лабиринта и открытого поля после хронического непредсказуемого стресса (физическое и эмоциональное воздействие). Через 2 ч после каждой стрессорной сессии применялась процедура термического воздействия (длительностью 15 мин), или ТП. Стресс усиливал уровень тревожности мышей в тестах приподнятого крестообразного лабиринта и открытого поля, тогда как вызванная гипертермией экспрессия Hsp72 существенно снижала его. Было показано, что у дополнительно используемой группы нокаутных мышей по фактору теплового шока 1 анксиолитическое действие гипертермии не проявлялось. Проведенная работа демонстрирует терапевтические возможности применения гипертермии для коррекции тревожности при сильном хроническом стрессе. При этом возникает вопрос – обладает ли тепловое воздействие подобными защитными свойствами при его однократном применении, а также при слабом или умеренном стрессе? Именно такие экспериментальные параметры были реализованы в нашем исследовании, в котором был также обнаружен позитивный эффект действия ТП, но в более “мягких” условиях.

При анализе обнаруженных эффектов ТП важным аспектом является рассмотрение возможных сфер практического применения этого простого в использовании метода, вызывающего повышение содержания главного шаперона Hsp70 в головном мозге. Системное введение индукторов белков теплового шока, приводящее к повышению уровня Hsp70 в головном мозге, лимитировало развитие патоморфологических и нейрохимических признаков болезни Паркинсона в моделях этого заболевания у крыс [3, 37–39]. При этом отмечалась коррекция моторных нарушений, а также усиление исследовательского поведения, что совпадает с эффектами ТП. Известно, что патогенез болезни Паркинсона затрагивает эмоциональную сферу. В частности, у пациентов на ранней клинической стадии отмечается повышение тревожности и развитие депрессии (40, 42). Полученные в работе данные позволяют предполагать, что анксиолитический эффект ТП можно апробировать для коррекции нарушений в эмоциональной сфере при неврологических заболеваниях.

Используемый в работе метод воздействия довольно прост при реализации его у человека – это многовековой опыт и уже сложившаяся традиция термических процедур в банях и саунах, широко распространенные в культуре русского и финского народов. Однако четкая стандартизация проведения подобной процедуры в приложении к определенным терапевтическим целям до сих пор отсутствует и остается малоизученной. Проведенное исследование указывает на перспективу использования процедуры ТП как простого неинвазивного метода возможной коррекции анксиогенных расстройств.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания, тема № АААА-А18-118012290427-7.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Пастухов Ю.Ф., Екимова И.В.* Молекулярные, клеточные и системные механизмы протективной функции белка теплового шока 70 кДа. *Нейронауки.* 2(2): 3–25. 2005. [*Pastukhov Yu.F., Ekimova I.V.* Molecular, cellular and systemic mechanisms of protective function of heat shock protein 70 kDa. *Neuroscience.* 2(2): 3–25. 2005. (in Russ.)].
2. *Пастухов Ю.Ф., Худик К.А., Екимова И.В.* Шапероны в регуляции и восстановлении физиологических функций. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 96(7): 708–725. 2010. [*Pastukhov Yu.F., Khudik K.A., Ekimova I.V.* Chaperones in regulation and restoration of physiological functions. *Russ. J. Physiol.* 96(7): 708–725. 2010. (In Russ.)].
3. *Пастухов Ю.Ф., Екимова И.В., Чеснокова А.Ю.* Молекулярные механизмы патогенеза болезни Паркинсона и перспективы превентивной терапии. *Нейродегенеративные заболевания: от генома до целостного организма.* Под ред. М.В. Угрюмова. М. “Научный мир”. 1: 316–355. 2014. [*Pastukhov Yu.F., Ekimova I.V., Chesnokova A.Yu.* Molecular mechanisms of pathogenesis Parkinson’s disease and perspective of preventive therapy. In *Neurodegenerative diseases: from genome to the whole organism.* Ed. M.V. Ugrumov. M. Scientific world. 1: 316–355. 2014. (in Russ.)].
4. *Екимова И.В., Пазу М.Б., Плаксина Д.В.* Оценка нейропротективного потенциала глюкозо-регулируемого белка теплового шока в модели болезни Паркинсона у крыс. *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова.* 104(7): 757–768. 2018. [*Ekimova I.V., Pazi M.B., Plaksina D.V.* Evaluation of the neuroprotective potential of glucosoregulated heat shock protein in the model of Parkinson’s disease in rats. *Russ. J. Physiol.* 104(7): 757–768. 2018. (In Russ.)].
5. *Bechtold D.A., Rush S.J., Brown I.R.* Localization of the heat-shock protein Hsp70 to the synapse following hyperthermic stress in the brain. *J. Neurochem.* 74(2): 641–646. 2000.
6. *Welch W.J.* How cells respond to stress. *Sci. Am.* 268: 56–64. 1993.
7. *Frossard J.L.* Heat shock protein 70 (HSP70) prolongs survival in rats exposed to hyperthermia. *Eur. J. Clin. Invest.* 29: 561–562. 1999.
8. *Ohtsuka K., Suzuki T.* Roles of molecular chaperones in the nervous system. *Brain Res. Bull.* 53(2): 141–146. 2000.
9. *King Y.T., Lin C.S., Lin J.H., Lee W.C.* Whole-body hyperthermia-induced thermotolerance is associated with the induction of Heat Shock Protein 70 in mice. *J. Exp. Biol.* 205: 273–278. 2002.
10. *Li Y., Chopp M., Yoshida Y., Levine R.* Distribution of 72-kDa heat-shock protein in rat brain after hyperthermia. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 84(1): 94–99. 1992.
11. *Campisi J., Leem T.H., Greenwood B.N.* Habitual physical activity facilitates stress-induced intracellular HSP72 induction in brain, peripheral and immune tissue in rats. *Am. J. Physiol.* 94: 43–52. 2003.
12. *Terao A., Greco M.A., Davis R.W., Heller H.C., Kilduff T.S.* Region-specific changes in immediate early gene expression in response to sleep deprivation and recovery sleep in the mouse brain. *Neuroscience.* 4(120): 1115–1124. 2003.
13. *Joshi J.C., Ray A., Gulati K.* Effects of morphine on stress induced anxiety in rats: Role of nitric oxide and Hsp70. *Physiol. Behav.* 139: 393–396. 2015.
14. *Kelty J.D., Noseworthy P.A., Feder M.E., Robertson R.M., Ramirez J.M.* Thermal preconditioning and heat-shock protein preserve synaptic transmission during thermal stress. *J. Neuroscience.* 22(1): RC193. 2002.
15. *Лапшина К.В., Екимова И.В.* Исследование защитных эффектов белка теплового шока 70 кДа в модели депривации сна у голубей *Columba livia*. *Журн. эволюц. биохимии и физиологии.* 46(5): 386–394. 2010. [*Lapshina K.V., Ekimova I.V.* Study of protective effects of exogenous heat shock protein 70 kDa in model of sleep deprivation in pigeon *Columba livia*. *Zh. Evol. Biokhim. Fiziol.* 46(5): 461–470. 2010. (In Russ.)].
16. *Худик К.А., Пастухов Ю.Ф., Гужова И.В.* Влияние теплового преко кондиционирования на судорожную активность у крыс с наследственной формой эпилепсии. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 97 (11): 1237–1246. 2011. [*Khudik K.A., Pastukhov Yu. F., Guzhova I.V.* Effects of thermal preconditioning on convulsive activity in rats with inheritable form of audiogenic epilepsy. *Russ. J. Physiol.* 11: 1237–1246. 2011. (In Russ.)].
17. *Zhu X., Peng M., Cheng M., Xiao X., Yi J., Yao S., Zhang X.* Hyperthermia protects mice against chronic unpredictable stress-induced anxiety-like behaviour and hippocampal CA3 cell apoptosis. *Int. J. Hyperthermia.* 27(6): 573–581. 2011.
18. *Kumar Sinha R., Kumar Ray A.* An assessment of changes in open-field and elevated plus-maze behavior following heat stress in rats. *Iranian Biomed. J.* 8(3): 127–133. 2004.
19. *Mete F., Kilic E., Somay A., Yilmaz B.* Effects of heat stress on endocrine functions & behaviour in the pre-pubertal rat. *Indian J. Med. Res.* 135: 233–239. 2012.

20. *Pellow S., Chopin P., File S.E., Briley M.* Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Methods.* 14: 149–167. 1985.
21. *Walf A.A., Frye C.A.* The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat. Protoc.* 2(2): 322–328. 2007.
22. *Rodgers R.J.* Animal models of “anxiety”: Where next? *Behav. Pharmacol.* 8: 477–496. 1997.
23. *Dawson G.R., Tricklebank M.D.* Use of the elevated plus maze in the search for novel anxiolytic agents. *Trends Pharmacol. Sci.* 16: 33–36. 1995.
24. *Agular R., Gil L., Flint J., Gray J.A., Dawson G.R., Driscoll P., Giménez-Llort L., Escorihuela R.M., Fernández-Teruel A., Tobeña A.* Learned fear, emotional reactivity and fear of heights: A factor analytic map from a large F2 intercross of Roman rat strains: *Brain Res. Bull.* 57(1): 17–26. 2002.
25. *Ramos A., Morme’de P.* Stress and emotionality: A multidimensional and genetic approach. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 22: 33–57. 1998.
26. *Lister R.G.* The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology.* 92: 180–185. 1987.
27. *Rodgers R.J., Cole J.C.* An ethological analysis of chlordiazepoxide and bretazenil (Ro16-6028) in the murine elevated plus-maze. *Behav. Pharmacol.* 4: 573–580. 1993.
28. *Cruz A.P., Frei F., Graeff F.G.* Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 49: 171–176. 1994.
29. *Shepherd J.K., Grewel S.S., Fletcher A., Bill D.J., Dourish C.T.* Behavioral and pharmacological characterization of the elevated “zero maze” as an animal model of anxiety. *Psychopharmacology (Berlin).* 116: 56–64. 1994.
30. *Montgomery K.C.* The relationship between fear induced by novel stimulation and exploratory behaviour. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 48: 254–260. 1955.
31. *Gray J.A.* *The Neuropsychology of Anxiety. An Enquiry into the Functions of the Septo-hippocampal System.* Oxford. UK. Clarendon Press. 1987.
32. *Holmes A., Rodgers R.J.* Influence of spatial and temporal manipulations on the anxiolytic efficacy of chlordiazepoxide in mice previously exposed to the elevated plus-maze. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 23: 971–980. 1999.
33. *Fernandes C., File S.E.* The influence of open arm ledges and maze experience in the elevated plus-maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 54: 31–40. 1996.
34. *Лалин И.П.* Модели тревоги на мышах: оценка в эксперименте и критика методики. *Эксп. и клин. фармакол.* 63(3): 58–62. 2000. *Lapin I.P.* Anxiety models on mice: Experimental evaluation and criticism of the method. *Eksp. Klin. Farmakol.* 63(3): 58–62. 2000. (In Russ.).
35. *Rodgers R.J., Johnson N.J.* Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 52: 297–303. 1995.
36. *Holmes A., Rodgers R.J.* Responses of Swiss-Webster mice to repeated plus-maze experience: Further evidence for a qualitative shift in emotional state? *Pharmacol. Biochem. Behav.* 60: 473–488. 1998.
37. *Kuniishi H., Ichisaka S., Yamamoto M., Ikubo N., Matsuda S., Futora E., Harada R., Ishihara K., Hata Y.* Early deprivation increases high-leaning behavior, a novel anxiety-like behavior, in the open field test in rats. *Neurosci. Res.* 123: 27–35. 2017.
38. *Thakur P., Nehru B.* Long-term heat shock proteins (HSPs) induction by carbenoxolone improves hallmark features of Parkinson’s disease in rotenone-based model. *Neuropharmacology.* 79: 190–200. 2014.
39. *Ekimova I.V., Plaksina D.V., Pastukhov Y.F., Lapshina K.V., Lazarev V.F., Mikhaylova E.R., Polonik S.G., Pani B., Margulis B.A., Guzhova I.V., Nudler E.* New HSF1 inducer as a therapeutic agent in a rodent model of Parkinson’s disease. *Exp. Neurol.* 306: 199–208. 2018.
40. *Plaksina D.V., Ekimova I.V.* Study of age changes in compensatory processes on the model of neurodegeneration of nigrostriatal system in rats. *Adv. Gerontol.* 31(2): 170–177. 2018.
41. *Shiba M., Bower J.H., Maraganore D.M., McDonnell S.K., Peterson B.J., Ahlskog J.E., Ahlskog J.E., Schaid D.J., Rocca W.A.* Anxiety disorders and depressive disorders preceding Parkinson’s disease: a case-control study. *Mov. Disord.* 15: 669–677. 2000.
42. *Eskow Jaunarajs K.L., Angoa-Perez M., Kuhn D.M., Bishop C.* Potential mechanisms underlying anxiety and depression in Parkinson’s disease: consequences of l-DOPA treatment. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 35(3): 556–564. 2011.
43. *Prediger R.D., Matheus F.C., Schwarzbald M.L., Lima M.M., Vital M.A.* Anxiety in Parkinson’s disease: A critical review of experimental and clinical studies. *Neuropharmacology.* 62(1): 115–124. 2012.



**Thermal Preconditioning Decreases a Level of Anxiety in Rats****M. V. Chernyshev<sup>a, \*</sup>, O. A. Sapach<sup>a</sup>***<sup>a</sup>Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194223, Pr. Thoreza, 44, Russia**\*e-mail: netmisha@mail.ru*

**Abstract**—Stress protein, or heat shock protein 70 кDa (Hsp70) is the essential component of one of the most conservative system of cells and organisms protection from various damaging factors. A simple facility to enhance Hsp70 expression in the organism, in its organs and tissues, including CNS, is thermal preconditioning (TP), i.e., heating of the organism up to a temperature of 41–42°C. The present study was aimed to elucidate a possibility to decrease the level of anxiety-like behavior in the elevated plus maze (EPL) test by a single session of TP. It has been shown that one day following the TP session, rats exhibited a decrease in the level of anxiety estimated by the number and time of open arm entries in EPL, the number of squares crossed in open arms and percentage of open arm entries to all entries compared to control. Furthermore, we have elicited an enhance in locomotor activity (estimated by an increase in the number of entries to closed arms) and exploration level (measured by the number glances in open arms and head dips). The data obtained indicate a capacity of TP to exert an anxiolytic effect together with an increase in the levels of locomotion and exploration. These results can find an application in developing non-invasive ways of anxiety correction.

*Keywords:* thermal preconditioning, heat shock proteins, emotional behavior, anxiety, rat

**ЦИТИРОВАТЬ:**

Чернышев М.В., Сапач О.А. Тепловое преко́ндициони́рование снижает уровень тревожности у крыс. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 105(5): 556–564.

DOI: 10.1134/S0869813919050029

**TO CITE THIS ARTICLE:**

Chernyshev M.V., Sapach O.A. Thermal Preconditioning Decreases a Level of Anxiety in Rats. *Russian Journal of Physiology.* 105(3): 556–564.

DOI: 10.1134/S0869813919050029