

УДК 616.831:616.127-008.6-092

**О.Г. Родинський,
Ю.В. Козлова**

ПОВЕДІНКОВІ РОЗЛАДИ У ЩУРІВ НА ФОНІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ХРОНІЧНОЇ МІОКАРДІАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
кафедра фізіології
(зав. – д.мед.н., проф. О.Г. Родинський)
вул. Дзержинського, 9, Дніпропетровськ, 49044, Україна
SE "Dnipropetrovsk medical academy of Health Ministry of Ukraine"
Department of physiology
Dzerzhins'kogo str., 9, Dnipropetrovsk, 49044, Ukraine
e-mail: jyliftuna@ukr.net

Ключові слова: поведінкові розлади, міокардіальна дисфункція, доксорубіцин, емоційність, тривожність
Key words: behavioral disorders, myocardial dysfunction, doxorubicin, emotion, anxiety

Реферат. Поведенческие расстройства у крыс на фоне хронической миокардиальной дисфункции. Родинский А.Г., Козлова Ю.В. Наблюдение кардиологов и психиатров свидетельствуют о том, что сердечно-сосудистые заболевания и депрессия являются наиболее распространенными и часто коморбидными состояниями. Поэтому целью исследования стало выявление поведенческих расстройств у крыс на фоне миокардиальной дисфункции в эксперименте. Материалом исследования стали 60 половозрелых крыс-самцов линии Вистар, весом 200-220 г, которые были разделены на 2 группы - контрольную и экспериментальную. Миокардиальную дисфункцию моделировали путем внутривентрикулярного введения доксорубицина 5 мг/кг массы животного. Для верификации модели миокардиальной дисфункции проводили ЭКГ, а также гистологическое исследование миокарда. Оценку реакций высших отделов ЦНС проводили с помощью метода «открытое поле» по таким показателям: вертикальная и горизонтальная двигательные активности (понижение на 71,4%), акты и болюсы дефекаций (понижение на 85-88%), количество норок (понижилось на 57-90%), груминг (понижение на 23%), все показатели достоверны (при $p < 0,05$). Наблюдалось постепенное снижение эмоциональности крыс, угнетение ЦНС и повышение степени тревожности. Было установлено, что расстройства поведения в эксперименте были характерны для тревожно- и депрессивноподобных состояний.

Abstract. Behavioral disorders in rats with chronic myocardial dysfunction. Rodinskiy A.G., Kozlova Yu.V. Observation of cardiologists and psychiatrists suggest that cardiovascular diseases and depression are the most common and frequent comorbid conditions. Therefore the aim of the study was to identify behavioral disorders in rats on the background of myocardial dysfunction in the experiment. Material of the research: 60 adult male rats of Wistar line, weighing 200-220 g, divided into 2 groups - control and experimental. Myocardial dysfunction was modeled by intraperitoneal injection of doxorubicin by 5 mg/kg of animal weight. To verify the model of myocardial dysfunction ECG and histological examination of the myocardium were performed. Evaluation of higher divisions of the CNS reactions was performed using the "open field" method by such indicators: vertical and horizontal motor activity (decreased by 71,4%), acts and defecation boluses (down by 85-88%), the number of burrows (decreased by 57-90%), grooming (decreased by 23%), all parameters were reliable (in $p < 0,05$). There was a gradual decline of rats' emotionality, CNS depression and increased anxiety. It was found that behavioral disorders in the experiment were typical for anxiety and depression states.

Хвороби серця залишаються головною причиною смертності та інвалідизації серед людей зрілого віку. Встановлено, що більше ніж у 75% пацієнтів з органічними ураженнями серцевого м'яза реєструються розлади з боку ЦНС, серед яких мають першість невротичні стани, психопатії, розлади особистості, що супроводжуються змінами поведінки. Спостереження кардіологів та психіатрів свідчать про те, що серцево-судинні захворювання та депресія є найбільш

поширеними та часто коморбідними станами [3]. Кореляції патогенетичних змін у центральній нервовій системі та серцево-судинній системі на теперішній час залишаються недостатньо розкритими, а результати експериментальних досліджень залишаються поодинокими, фрагментарними та розрізненими. Більшість досліджень показали, що ключову роль у патогенезі порушень інтегративної функції ЦНС відіграють зміни гемодинаміки головного мозку [6].

Клінічні спостереження вказують на те, що при різних механізмах ураження серця та на різних термінах хвороби спостерігається широкий симптомокомплекс уражень ЦНС [11]. Так, у пацієнтів з ішемічною хворобою серця депресію діагностували в 20 % випадків, частота тривоги коливалася в межах 10-34%. Показано, що перенесений гострий інфаркт міокарда призводив до розвитку симптомів депресії в 27% випадків, а тривога реєструвалася в майже половини госпіталізованих. Констатовано, що частота психічних розладів корелювала з тяжкістю серцевої недостатності, зумовленої систолічною дисфункцією лівого шлуночка [10].

Таким чином, поглиблене дослідження інтегративної функції ЦНС за умов патології серця може розкрити важливі ланки патогенезу змін, що виникають. Це, в свою чергу, відкриє можливість для своєчасної профілактики та покращення діагностування і фармакологічної корекції цих станів.

Тому, виходячи з усього переліченого, метою нашого дослідження був аналіз реакцій ЦНС в динаміці розвитку експериментальної хронічної міокардіальної дисфункції.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У дослідженні було використано 60 статевозрілих щурів-самців лінії Вістар, вагою 200-220г. Тварини були розподілені на 2 групи. Перша група – контрольна (n=30) - тварини, що отримували внутрішньоочеревинні ін'єкції 0,9% фізіологічного розчину NaCl в об'ємі 5 мл/кг маси. Щурам другої групи - експериментальної (n=30) - внутрішньоочеревинно 1 раз на тиждень впродовж 5 тижнів вводили доксорубіцин (Д) із розрахунку 5 мг/кг маси тварини. В умовах асептики вміст флакона розчиняли в 0,9% фізіологічному розчині NaCl з розрахунком, щоб в 1 мл розчину містилося 2 міліграми Д [7].

Доксорубіцин – добре відомий препарат, який використовують для хімотерапії, зі встановленим кардіотоксичним ефектом [7]. Кардіотоксичність зумовлена утворенням вільних радикалів, активацією перикисного окиснення ліпідів (ПОЛ), що, як відомо, призводить до змін у лізосомах, сарколемі, мітохондріях та саркоплазматичному ретикулумі. Ці зміни ініціюють порушення обміну кальцію, активації гідролітичних ферментів та редукції утворення енергетичних продуктів [9].

Для верифікації моделі міокардіальної дисфункції у щурів на 1-у добу після відтворення доксорубіцинового стану проводили електрокар-

діографічне дослідження [5]. Під тіопенталовим наркозом тваринам контрольної та експериментальної груп проводили реєстрацію електрокардіограми (ЕКГ) в другому стандартному відведенні. ЕКГ реєстрували на електрокардіографі за допомогою голкових електродів, що були введені в кінцівки щура. За допомогою комп'ютерної програми «Кардіолаб-2000» визначали: ЧСС (уд/хв.), амплітуду зубців ЕКГ (P, R, S, T / мВ) та часові інтервали (сегменти PQ та QT /мс). Показники ЕКГ дослідної групи тварин мали достовірні зміни у відповідні терміни спостереження порівняно з контрольною групою щурів. У всіх дослідних щурів були зареєстровані: брадикардія, депресія сегмента ST, а також збільшення інтервалів ST та QT порівняно з ЕКГ щурів інтактної групи.

Для морфологічної верифікації доксорубіцинового ушкодження міокарда лівого шлуночка тварин проводили гістологічне дослідження. Зразки фіксували в 10% розчині формаліну на фосфатному буфері (рН 7,4) та заливали в парафін. За допомогою мікротому виготовляли зрізи товщиною 5-7 мкм. Забарвлення гістологічних зрізів здійснювали гематоксиліном і еозином та за Малорі-Слінченко [8].

Патогістологічне дослідження міокарда щурів з доксорубіциновою кардіоміопатією показало структурні зміни практично всіх тканинних компонентів стінки серця порівняно з інтактними тваринами. Як наслідок введення кардіотоксичних доз доксорубіцину, основними гістопатологічними ознаками, які були присутні в усіх шарах стінок серця, була втрата кардіоміоцитами попереково-смугастої структури за рахунок лізису міофіламентів. Також встановлено, що разом з прогресуючим міоцитолізом м'язові волокна стоншувалися, спостерігалася їх розшарування, інтерстиціальні простори були різко розширені. Крім того, окрім явищ міоцитолізу в цитоплазмі кардіоміоцитів, спостерігали появу вакуолей, частина з яких була оптично порожньою, частина була заповнена дрібнодисперсною речовиною з рожевим відтінком. Наведені патоморфологічні ознаки можуть бути свідченням розвитку порушення не тільки структури, але й функції міокарда [9].

Оцінку реакцій вищих відділів ЦНС, а саме зміни поведінки експериментальних щурів після формування міокардіальної дисфункції, проводили за допомогою методу «відкрите поле» на 1, 3, 7, 14, 21 та 28 добу після відтворення модельного стану [2].

Впродовж визначеного часу спостереження у тварин підраховували кількість пересічених квадратів, вертикальних стійок, число обстежених нірок, кількість актів дефекації та болюсів, грумінгів [4].

Динаміку змін рухової активності щурів оцінювали за результатами горизонтальної та вертикальної рухової активності (ГРА та, відповідно, ВРА). Оцінка «емоційності» проводилась при розрахунку кількості актів дефекації та кількості болюсів, оскільки відомо, що збільшення кількості болюсів за один акт дефекації відображає підвищення тривожності тварини [4]. Дослідницька активність щурів досліджувалася за кількістю обстежених нірок. Рівень «тривоги» - за кількістю актів грумінгу в тесті «відкрите поле» [2].

Під час дослідження тварини знаходились у стандартних умовах виварію. Експерименти на тваринах проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001), які узгоджені з Європейською конвенцією про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986).

Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації на тлі ефірного наркозу. Такий варіант евтаназії пов'язаний з тим, що за таких умов у міокарді спостерігаються найменші морфо-функціональні пошкодження.

Всі кількісні показники, які були нами отримані, оцінювали за варіаційно-статистичними методами. Достовірність розбіжностей між середніми оцінювали за допомогою критерію Ст'юдента [1].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Поведінкова діяльність тварин за умов вільного переміщення відбувається за участю вищих нервових центрів і має інтегративний характер. З другого боку, зміни в поведінці щурів відображають можливість пристосувальних реакцій за умов дії стресорних факторів. Тому для визначення інтегративної реакції мозку за умов міокардіальної дисфункції вивчення рухливо-дослідницької активності є адекватною і достатньо інформативною методикою [4].

Дослідження поведінки щурів у тесті «відкрите поле» за умов експериментальної міокардіальної дисфункції показало відмінності між контрольною та експериментальною групами тварин.

Показниками пізнавальної активності є горизонтальна та вертикальна рухливості. Так, горизонтальна рухова активність в усі терміни спостереження була меншою порівняно з контрольною групою, причому найбільші зміни відбувалися починаючи з 14-ї доби спостереження і нагадували сходиноподібний характер.

Динаміка змін вертикальної рухової активності мала аналогічні тенденції. У першу добу мало місце максимальне зменшення вертикальної рухової активності – на 71,4% (у 3,5 разу) порівняно з контрольною групою. Зменшення вертикальної рухової активності в дослідній групі мало хвилюподібний характер з піками зменшення на 1-у, 7-у (68,8%) та 21-у (64,7%) добу в експериментальній групі (при $p < 0,05$). Враховуючи те, що ГРА та ВРА дозволяють кількісно відобразити найважливіший показник ступеня нервово-психічного збудження, за отриманими результатами (табл. ГРА, ВРА) можна говорити про тормозні процеси в ЦНС на тлі міокардіальної дисфункції в експерименті [5].

Динаміка змін кількості актів дефекації та болюсів дефекації упродовж термінів спостереження в дослідній групі щурів мала поступове зменшення починаючи з 7-ї доби та зі стрімким стабільним зменшенням (на 85-88%) з 14-ї доби експерименту (при $p < 0,05$). Зменшення цих показників свідчить про поступове зниження емоційності піддослідних тварин (табл., акти дефекацій та кількість болюсів).

Орієнтовно-дослідницька діяльність (за кількістю обстежених нірок) у щурів з міокардіальною дисфункцією на всіх термінах спостереження була зменшена в межах 57-90% (при $p < 0,05$). Зниження цього показника свідчить про значне пригнічення функції ЦНС щурів (табл., кількість нірок).

За даними науковців відомо, що грумінг – це один з найбільш інформативних показників поведінкових реакцій, що відображає ступінь тривожності тварин. У щурів з міокардіальною дисфункцією на 3-ю та 14-у добу експерименту (табл., грумінг) ми спостерігали збільшення кількості актів «некомфортного» грумінгу на 23% та 29% відповідно (при $p < 0,05$). Підвищення кількості актів грумінгу, порушення послідовності рухів свідчить про централізацію уваги на собі і відволікання від довколишнього середовища [6].

**Результати дослідження поведінки щурів у тесті «Відкрите поле»
за умов експериментальної міокардіальної дисфункції**

Показник	Доба	1	3	7	14	21	28
		M±m	M±m	M±m	M±m	M±m	M±m
ГРА	1	38,6±0,9	27,6±0,6	43,6±0,6	39,4±0,5	41,8±0,8	40,4±0,5
	2*	23,2±0,6	19,2±0,4	18,8±0,9	5±0,4	8,4±0,5	5,6±0,7
ВРА	1	9,8±0,9	3,8±0,9	6,4±0,5	7,4±0,5	6,8±0,9	7,2±0,4
	2*	2,8±0,6	2,4±0,2	2,0±0,3	6,2±0,4	2,4±0,4	3,2±0,4
Акти дефекації	1	0,6±0,2	0,6±0,2	1,2±0,4	1,4±0,2	1,6±0,2	1,4±0,2
	2	0,8±0,2	0,6±0,2	0,8±0,2*	0,2±0,2*	0,2±0,2*	0,6±0,2*
Кількість боллюсів	1	0,6±0,2	1,0±0,3	1,6±0,2	1,4±0,2	1,6±0,2	1,0±0,3
	2	1,2±0,2*	1,0±0,3	1,2±0,2	0,2±0,2*	0,2±0,2*	0,2±0,2*
Кількість нірок	1	6,0±0,7	11±0,6	8±0,4	10±0,9	8±0,3	8±0,4
	2*	2,6±0,2	2,4±0,2	2,6±0,2	1,0±0,3	1,0±0,3	1,4±0,2
грумінг	1	4,8±0,4	2,6±0,2	4,8±0,4	3,4±0,2	3,8±0,2	4,0±0,3
	2	4±0,4	3,2±0,4	3±0,3*	4,4±0,2*	1,2±0,2*	1,2±0,4*

Примітки: 1 – щури контрольної групи, 2 – щури з міокардіальною дисфункцією, * - наявність достовірних відмінностей порівняно з контрольною групою тварин при $p < 0,05$.

ВИСНОВКИ

1. Аналіз функціональних змін ЦНС за умов експериментальної міокардіальної дисфункції показав поведінкові розлади, характерні для тривого- та депресивноподібних станів, причому тривогоподібний стан мав піковий характер на 3-ю та 14-у добу, а депресивноподібний – з 7-ї доби після формування міокардіальної дисфункції. Підвищення рівня тривоги у щурів з міокардіальною дисфункцією порівняно з інтактною групою щурів відбувалося на 3-ю та 14-у добу експерименту. Показник «некомфортного» грумінгу у щурів з міокардіальною дисфункцією був збільшений на 23% та 29% відповідно ($p < 0,05$).

2. Характерним поведінковим маркером міокардіальної дисфункції після останнього введення доксорубіцину було достовірне ($p < 0,05$) зменшення просторово-рухової діяльності у щурів впродовж всього терміну спостереження. Орієнтовно-дослідницька діяльність у щурів з міокардіальною дисфункцією на всіх термінах спостереження була зменшена в межах 57-90% ($p < 0,05$).

3. Кількість дефекацій та боллюсів у експериментальних щурів поступово зменшувалися починаючи з 7-ї доби та зі стрімким стабільним його зменшенням (на 85-88%) з 14-ї доби експерименту.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антомонов М. Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных / М.Ю. Антомонов. – К., 2006. – 558 с.
2. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон — М.: Высш. шк., 1991. — 399 с.
3. Діагностика та лікування депресій у хворих на ішемічну хворобу серця, які перенесли стенозування коронарних артерій / Л.М. Юр'єва, Л.І. Васильєва,

О.Й. Мамчур [та ін.] – Дніпропетровськ: РВА «Дніпро-VAL», 2009. — 87 с.
4. Калуев А.В. Изучение тревожности у животных – вчера, сегодня, завтра // Стресс и поведение: материалы 7-й междисциплинарной конф. по биологической психиатрии. – М., 2003. – С. 145-148.
5. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк. —

8-е изд., перераб. и доп. — К.: Вища школа, 1983. — 383 с.

6. Расстройства памяти в психоневрологической практике. Методическое пособие / А.Л. Дроздов, Л.А. Дзяк, А.Н. Кушнир, Н.Г. Вишневецкая. — Днепропетровск, 2005. — 38 с.

7. Регионарные особенности развития и строения сердца в онтогенезе / Л.В. Абдул-Оглы, С.В. Козлов, В.В. Кошарный [и др.] — Днепропетровск, 2014. — 248 с.

8. Ромейс Б. Микроскопическая техника / Б. Ромейс [пер. с нем.]. — М.: Изд-во иностр. литературы, 1953. — 718 с.

9. LaManna J.C. Structural and functional adaptation to hypoxia in the rat brain / J.C. LaManna, J.C. Chavez, P. Pichiulec // J. Experim. Biology. — 2007. — P. 3163-3169.

10. Relationship between left ventricular dysfunction and depression following myocardial infarction: data from the MIND-IT / J. P. Van Melle, P. de Jonge, J. Ormel [et al.] // Eur. Heart. J. — 2005. — Vol. 26. — P. 2650-2656.

11. Treatment of depression after coronary artery bypass surgery: a randomized controlled trial / K.E. Freedland, J.A. Skala, R.M. Carney [et al.] // Arch. Gen. Psychiatry. — 2009. — Vol. 66, N 4. — P. 387-396.

REFERENCES

1. Antomonov MYu. [Mathematical processing and analysis of biomedical data]. 2006;558. Ukrainian.

2. Buresh Ya. [Techniques and basic experiments to study the brain and behavior]. 1991;399. Russian.

3. Yur'eva LN, Vasil'eva LI, Mamchur OI. [Diagnosis and treatment of depression in patients with coronary heart disease who underwent coronary artery stenuvannya]. 2009;87. Ukrainian.

4. Kaluev AV. [Study of anxiety in animals - yesterday, today and tomorrow]. Stress and Behavior: Proceedings of the 7th Interdisciplinary Conference of the biological psychiatry. 2003;145-8. Russian.

5. Zapadnyuk IP. [Laboratory animals. Breeding, maintenance, use in the experiment]. 1983;383. Ukrainian.

6. Drozdov AL. [Memory disorders in mental practice. Toolkit]. 2005;38. Ukrainian.

7. Abdul-Ogly LV, Kozlov SV, Kosharnyy VV. [Regional features of the development and structure of the heart in the ontogeny]. 2014;248. Ukrainian.

8. Romeys B. [Microscopic technique]. 1953:718. Russian.

9. LaManna JC, Chavez JC, Pichiulec P. Structural and functional adaptation to hypoxia in the rat brain. J. of exper. Boil. 2007;3163-9.

10. Van Melle JP, Jonge de P, Ormel J. Relationship between left ventricular dysfunction and depression following myocardial infarction: data from the MIND. J. Eur Heart. 2005;26:2650-6.

11. Freedland KE. Treatment of depression after coronary artery bypass surgery: a randomized controlled trial. Arch. Gen. Psychiatry. 2009;66:387-96.

