

УДК 616.831:616.127-008.6-092

Родинський О. Г., Козлова Ю. В.

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).

Україна, м. Дніпропетровськ, вул. Дзержинського, 9. 49044,

juiftuna@ukr.net

**Ключові слова:** поведінкові розлади, міокардіальна дисфункція, доксорубіцин, емоційність, тривожність.

**Родинский А. Г., Козлова Ю. В.** Поведенческие расстройства у крыс на фоне хронической миокардиальной дисфункции.

**Ключевые слова:** поведенческие расстройства, миокардиальная дисфункция, доксорубицин, эмоциональность, тревожность.

**Реферат.** 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 внутрибрюшинного 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 тревого- и депрессивноподобных состояний.

**Rodinskiy A. G., Kozlova Yu. V.** Behavioral disorders in rats with chronic myocardial dysfunction.

**Key words:** behavioral disorders, myocardial dysfunction, doxorubicin, emotion, anxiety.

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

Хвороби серця залишаються головною причиною смертності та інвалідизації серед людей зрілого віку. Встановлено, що більш ніж у 75% пацієнтів з органічними ураженнями серцевого м'яза реєструються розлади зі сторони 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 в 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 в патогенезі порушень інтегративної функції ЦНС відіграють зміни гемодинаміки головного мозку [4].

Клінічні спостереження вказують на те, що при різних механізмах ураження серця та на різних термінах хвороби спостерігається широкий симптомокомплекс уражень ЦНС [9]. Так, у пацієнтів з ішемічною хворобою серця депресію діагностували в 20 % випадків, частота тривоги коливалася в межах 10-34%. Показано, що перенесений гострий інфаркт міокарду призводив до розвитку симптомів депресії в 27% випадків, а тривога реєструвалася в майже половині госпіталізованих. Констатовано, що частота психічних розладів корелювала з тяжкістю серцевої недостатності, обумовленої систолічною дисфункцією лівого шлуночка [11].

Таким чином, поглиблене дослідження інтегративної функції ЦНС за умов патології серця може розкрити важливі ланки патогенезу змін, що виникають. Це, в свою чергу, відкріє можливості 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.** В дослідженні було використано 60 статевозрілих щурів-самців лінії Вістар, вагою 200-220г.

Тварини були розділені 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 із розрахунком, щоб в 1 мл розчину містилося 2 міліграми Д [7].

Доксорубіцин добре відомий препарат, який використовують для хіміотерапії із встановленим кардіотоксичним ефектом [7]. Кардіотоксичність обумовлена утворенням вільних радикалів, активацією перикисного окислення ліпідів (ПОЛ), що, як відомо, призводить до змін в лізосомах, сарколемі, мітохондріях та саркоплазматичному ретикулумі. Ці зміни ініціюють порушення обміну кальцію, активації гідролітичних ферментів та редукції утворення енергетичних продуктів [10].

Для верифікації моделі міокардіальної дисфункції у щурів на 1-шу добу після відтворення доксорубіцинового стану проводили електрокардіографічне дослідження [6]. 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 в порівнянні із контрольною групою щурів. У всіх дослідних щурів були зареєстровані: брадикардія, депресія сегменту ST, а також збільшення інтервалів ST та QT у порівнянні із ЕКГ щурів інтактної групи.

Для морфологічної верифікації доксорубіцинового ушкодження міокарду 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 і за Малорі-Слінченко [8].

Патогістологічне дослідження міокарду щурів з доксорубіциновою кардіоміопатією показало структурні зміни практично всіх тканинних компонентів стінки серця у порівнянні із інтактними тваринами. Як наслідок введення кардіотоксичних доз доксорубіцина, основними гістопатологічними ознаками, які були присутні в усіх шарах стінок серця, було втрата кардіоміоцитами попереково-смуغастої структури за рахунок лізису міофіламентів. Також встановлено, що разом із прогресуючим міоцитолізом м'язові волокна стоншувалися, спостерігалось 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 міокарду [10].

Оцінку реакцій вищих відділів ЦНС, а саме, зміни поведінки експериментальних щурів після формування міокардіальної дисфункції, проводили за допомогою метода «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 норок, кількість актів дефекації та болюсів, грумінгів [5].

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, так як відомо, що збільшення кількості болюсів за один акт дефекації відображує підвищення тривожності тварини [5] Дослідницька активність щурів досліджувалася за кількістю обстежених нірок. Рівень «тривоги» - за кількістю актів грумінгу в тесті «відкрите поле» [2].

Під час дослідження тварини знаходились в стандартних умовах віварію. 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 із тим, що за таких умов в 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 [5].

Дослідження поведінки щурів в 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 менша у порівнянні з контрольною групою, причому найбільші зміни відбувалися починаючи з 14-ої доби спостереження, які нагадували сходиноподібний характер.

Динаміка змін вертикальної рухової активності мала аналогічні тенденції. В першу добу мало місце максимальне зменшення вертикальної рухової активності – на 71,4% (у 3,5 раз) у порівнянні з контрольною групою. Зменшення вертикальної рухової активності в опитній групі мало хвилюподібний характер з піками зменшення на 1-шу, 7-му (68,8%) та 21-шу (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. 1. ГРА, ВРА) можна говорити про тормозні процеси в ЦНС на тлі міокардіальної дисфункції в експерименті [6].

Динаміка змін кількості актів дефекації та болюсів дефекації упродовж термінів спостереження в опитній групі щурів мала поступове зменшення починаючи з 7-мої доби та зі стрімким стабільним зменшенням (на 85-88%) з 14-ої доби експерименту (при  $p < 0,05$ ). Зменшення цих показників свідчить про поступове зниження емоційності піддослідних тварин (таб. 1, акти дефекацій та кількість болюсів).

Орієнтовно-дослідницька діяльність (за кількістю обстежених норок) 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 (таб. 1, кількість норок).

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-тю та 14-ту добу експерименту (табл. 1, 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].

Таблиця 1. Результати дослідження поведінки щурів в 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 болюсів	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 норок	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*

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

### Висновки:

1. Аналіз функціональних змін ЦНС за умов експериментальної міокардіальної дисфункції показав поведінкові розлади, характерні для тривогого- та депресивноподібних станів, причому тривогоподібний стан мав піковий характер на 3-тю та 14-ту добу, а



депресивноподібний – з 7-ої доби після формування міокардіальної дисфункції. Підвищення рівня тривоги в щурів з міокардальною дисфункцією в порівнянні з інтактною групою щурів відбувалося на 3-тю та 14-ту 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 болюсів у експериментальних щурів поступово зменшувалися починаючи з 7-мої доби та зі стрімким стабільним його зменшенням (на 85-88%) з 14-ої 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. Дроздов А. Л. Расстройства памяти в психоневрологической практике. Методическое пособие / А. Л. Дроздов, Л. А. Дзяк, А. Н. Кушнир, Н. Г. Вишневская. – Днепропетровск, 2005. — 38 с.

5. 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.
6. Западнюк И. П. 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. Головное изд-во, 1983. — 383 с.
7. Регионарные особенности развития и строения сердца в онтогенезе / Л. В. Абдул-Оглы, С. В. Козлов, В. В. Кошарный и др. — Дн-ск, 2014. — 248 с.
8. Ромейс Б. Микроскопическая техника / Б. Ромейс; пер. с нем. — М.: Изд-во иностр. Литературы. — 1953. — 718 с.
9. Freedland K. E. 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, № 4. — P. 387—396.
10. LaManna J. C. Structural and functional adaptation to hypoxia in the rat brain / J. C. LaManna, J. C. Chavez, P. Pichiulec // The Journal of experimental biology. — 2007. — P. 3163—3169.
11. Van Melle J. P. 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.

#### **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. [Diagnosis and treatment of depression in patients with coronary heart disease who underwent coronary artery stenuvannya]. L. N. Yur'eva, L. I. Vasil'eva, O. I. Mamchur. 2009;87. Ukrainian.
4. Drozdov AL. [Memory disorders in mental practice. Toolkit]. 2005;38. Ukrainian.
5. 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.
6. Zapadnyuk IP. [Laboratory animals. Breeding, maintenance, use in the experiment]. 1983:383. Ukrainian.
7. [Regional features of the development and structure of the heart in the ontogeny]. Abdul-Ogly L. V., Kozlov S. V., Kosharnyy V. V. 2014; 248. Ukrainian.
8. Romeys B. [Microscopic technique]. 1953:718. Russian.
9. Freedland KE. Treatment of depression after coronary artery bypass surgery: a randomized controlled trial. Arch. Gen. Psychiatry. 2009;66:387–96.
10. LaManna JC, Chavez JC, Pichiulec P. Structural and functional adaptation to hypoxia in the rat brain. J. of exper. Boil. 2007;3163–9.
11. 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.