

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

ІНТЕГРАТИВНА АКТИВНІСТЬ ЦЕНТРАЛЬНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ В ГЕРОНТОГЕНЕЗІ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ*

Басиста К. І., Родинський О. Г., Гузь Л. В.

*Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна
katerinkaabas@gmail.com*

Цукровий діабет (ЦД) — одне з найбільш розповсюджених хронічних захворювань [1]. Одна із основних мішеней ураження ЦД — нервова система [2]. Порушення в головному мозку (ГМ) при ЦД мають складний та комплексний патогенез, який і зараз залишається не до кінця вивченим [3]. Дослідники вказують, що в патогенезі ЦД є такі складові, як оксидативний стрес, нейрозапалення, судинні порушення, активація ацетилхолінестерази, зміни в системі нейротрансмітерів та інші [4]. Але найбільш значущу ланку патогенезу порушень в нервовій системі займає зниження рівня інсуліну. Інсулін надає пластичність нейронам, які укріплюють старі зв'язки та утворюють нові. Також він бере участь у функціонуванні та рості кровоносних судин, що забезпечують мозок глюкозою та киснем [5]. За умов ЦД найбільше стражда-

ють когнітивні функції. Під когнітивними функціями розуміють складні функції головного мозку, завдяки яким здійснюється процес раціонального пізнання світу та забезпечується взаємодія з ним. Більшість авторів виділяють п'ять основних когнітивних функцій людини: пам'ять (здатність відображати, зберігати та багаторазово відтворювати отриману протягом життя інформацію), гнозис (розпізнавання інформації, що надходить від органів чуття), праксис (здатність набувати, зберігати і використовувати різні рухові навички), мова (здатність до вербальної комунікації) та керуючі функції (здатність керувати своєю пізнавальною діяльністю і поведінкою, в тому числі ставити перед собою ту чи іншу задачу та контролювати її виконання) [6].

За умов ЦД спостерігається зниження IQ, розуміння, мислення, швидкості розу-

* Роботу виконано в межах дисертаційної роботи відповідно до плану Дніпровського державного медичного університету і є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри фізіології «Механізми компенсаторно-адаптивних реакцій центральної і периферичної нервової системи в нормальних і змінених умовах» (державний реєстраційний № 0119U100957).

Установою, що фінансує дослідження, є МОЗ України.

Автори гарантують повну відповідальність за все, що опубліковано в статті.

Автори гарантують відсутність конфлікту інтересів і власної фінансової зацікавленості при виконанні роботи та написанні статті.

Рукопис надійшов до редакції 25.03.2021.

мової та моторної обробки, зорово-моторної координації, порушення соціальної та трудової адаптації, а також зниження якості життя [7]. Когнітивні порушення знижують здатність хворих на ЦД до адекватного контролю гіперглікемії та збільшують ризик ускладнень, що призводять до ранньої інвалідизації та, навіть, смерті [8].

Метою роботи є аналіз впливу експериментальної гіперглікемії (фундаментальне

дослідження) при зміненій дозі алоксана (120 мг/кг маси тіла) на когнітивні функції мозку в орієнтовно-дослідницькій та умовно-рефлекторній діяльності щурів в геронтогенезі для подальшого розкриття механізмів дії цукру на організм і подальшого цілеспрямованого знаходження методів корекції цього стану.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експеримент було проведено на щурах лінії Вістар в кількості 90 тварин. Щури утримувалися в стандартних умовах віварію та були представлені двома віковими групами (за класифікацією Западнюка І. П., 1983 р.): 7–8 місяців (далі «щури середнього віку») з вагою 150–160 г; 20–22 місяці (далі «старі щури») з вагою 270–300 г. Кожна вікова група тварин була розділена на інтактних («контроль») та дослідних (з експериментальною гіперглікемією або модельованим цукровим діабетом — «ЦД»).

Експериментальну гіперглікемію моделювали шляхом одноразового інтраперитонеального введення розчину алоксану моногідрату (120 мг/кг маси тіла, «Sigma»). Визначали вміст глюкози в крові за допомогою портативного глюкометра «Bionime». На 10-ту добу тварини мали високу гіперглікемію з показником глюкози в периферичній крові вище ніж 28 ммоль/л в перші 48 годин після введення алоксану і в наступні дні показник 15–20 ммоль/л (єуглікемія у щурів обох вікових груп становить 5–6,5 ммоль/л).

Для аналізу дослідження емоційної та орієнтовно-дослідницької активності за умов експериментальної гіперглікемії використали найбільш інформативну методику — «Відкрите поле» [9]. За даною методикою був задіяний майданчик 60 см × 60 см з стінками висотою 20 см. Підлога була розкреслена на 25 квадратів та мала 16 «нірок» в центрі кожного квадрата. Зовнішніми вважалися 16 квадратів, які прилягали до стінок поля. Внутрішні — 9 квадратів, які не прилягали до стінок. Спостереження за однією твариною тривало 3 хвилини. Впродовж цього часу фіксували кількість

перетнутих квадратів та кількість підйомів на задні лапки (рухова горизонтальна та вертикальна активність), число заглядань у «нірки» (дослідницька активність), грумінг та число болюсів дефекації (емоційна активність) [10].

Для вивчення лабільної і стабільної фаз пам'яті у щурів використовували методику умовної реакції пасивного уникання (УРПУ). Використовували камеру з двома відсіками: темний (з електричною підлогою) та освітлений, що сполучалися за допомогою отвору [11]. Експеримент проводили протягом 3 хвилин. Щура розташовували у центрі освітленого відсіку хвостом до отвору. Тварина досліджувала освітлений відсік, знаходила отвір і проникала до нього. Через 1 секунду після того, як щур проникав у темний відсік, до підлоги темної камери подавався змінний струм (частота 50 Гц, тривалість стимулів становила 10 мс), інтенсивність якого дорівнювала 1,5 болювим порогам. Це визначали індивідуально для кожної тварини за реакцією вокалізації. Струм подавався на підлогу електричним подразненням на кінцівки, поки тварина не покидала темний відсік. У щурів, які перебігали у світлий відсік та не намагались повернутися у темний протягом 3 хвилин, вважалось, що УРПУ вироблено з одного пред'явлення. Тварин, що повторно заходили в темний відсік, виключали з досліді. «Неамнезованими» (не зберегли слід пам'яті) вважалися ті щури, що протягом 180 с знаходились у світлому відсіку [11].

УРПУ проводили на 10 добу після моделювання експериментальної гіперглікемії. Дослідження пам'яті за тестом відтворення УРПУ проводили через 1 добу.

Отримані результати опрацьовували статистично з визначенням середнього (М), помилки середнього (m), середньоквадратичного відхилення (σ) для подальшого аналізу за критерієм Стьюдента з визначенням рівня достовірності (p) [12]. Дотри-

мувалися «Загально-етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001) та «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, використовуваних для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На основі аналізу орієнтовно-дослідницької діяльності щурів в геронтогенезі, нами була виявлена низка змін поведінкової активності. За умов експериментальної гіперглікемії у щурів середнього віку спостерігалось значне та достовірне зменшення горизонтальної активності. Кількість пройдених квадратів в середньому становила $11,96 \pm 0,799$. По відношенню до контрольної групи менше ніж на 30,47% ($p < 0,001$) (рис 1).

У групі старих тварин ці дані не були достовірними ($p > 0,05$). Показники горизонтальної активності за умов експериментальної гіперглікемії склали $9,36 \pm 0,8$ та в контролі $8,25 \pm 0,79$ (рис. 2). Вертикальна рухова активність обох вікових груп щурів суттєво змінювалась та мала достовірний характер ($p < 0,001$). Кількість стійок в дослідній групі середнього віку становила $1,72 \pm 0,18$. Це по відношенню до групи контролю було менше на 38,57% ($p < 0,001$). В групі старих щурів із гіпер-

глікемією цей показник склав $2,56 \pm 0,22$, а в контрольній групі менше на 26,68% ($p < 0,05$).

Емоційна активність щурів в обох групах змінювалась недостовірно ($p > 0,05$).

У щурів середнього віку дослідної групи кількість актів грумінгу складала $1,96 \pm 0,17$, а в контрольній групі — $2,6 \pm 0,3$. В групі старих щурів $2,72 \pm 0,27$ та $2,8 \pm 0,34$ із експериментальною гіперглікемією та група контролю відповідно (див. рис 1, 2). У тварин середнього віку показники кількості болюсів в дослідній групі склали $1,12 \pm 0,17$ та $1,25 \pm 0,24$ в контрольній групі. Старі щури дослідної та інтактної групи мали результати: $1,6 \pm 0,18$ та $1,35 \pm 0,27$ відповідно (див. рис 1, 2). У тварин середнього віку орієнтовно-дослідницька активність показувала зменшення кількості обстежуваних нірок. У інтактної групи тварин цей показник становив $3,4 \pm 0,35$, в дослідної — $1,760,24$, що менше на 48,24% ($p < 0,001$). У групі старих щурів цей показ-

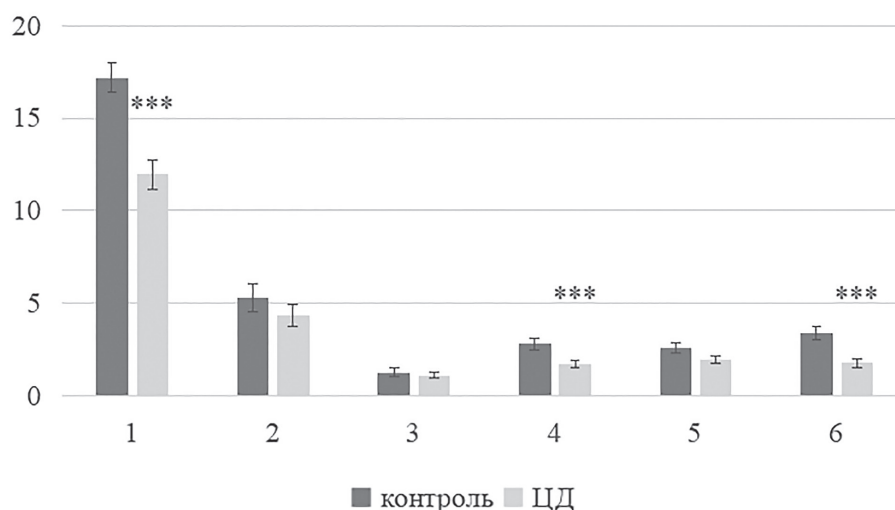


Рис. 1. Показники орієнтовно-дослідницької активності щурів середнього віку в тесті «Відкрите поле» за умов експериментальної гіперглікемії.

Примітка: середнє значення та похибка середнього $M \pm m$;

*** — вірогідність результату у порівнянні з контролем при рівні достовірності $p < 0,001$;

1 — периферичні квадрати; 2 — внутрішні квадрати; 3 — болюси;

4 — стійки; 5 — грумінг; 6 — нірки.

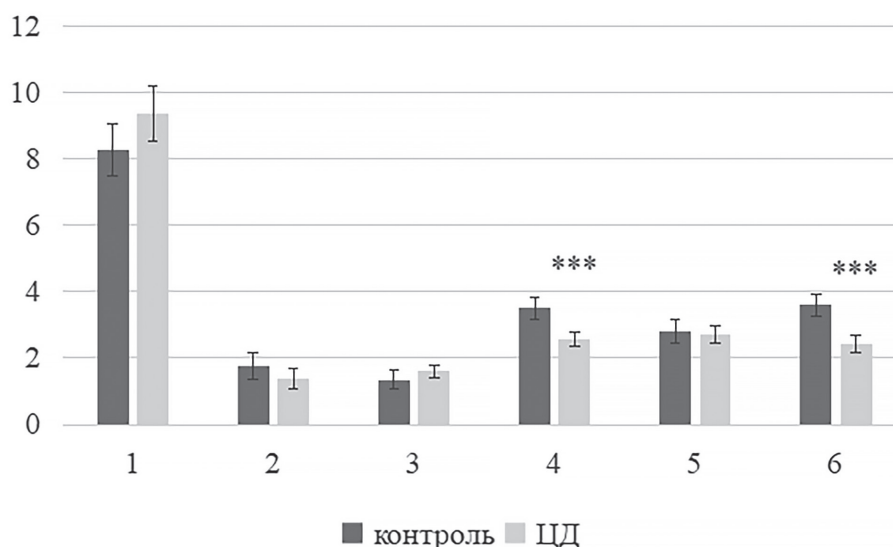


Рис. 2. Показники орієнтовно-дослідницької активності щурів старшого віку в тесті «Відкрите поле» за умов експериментальної гіперглікемії.

Примітка: середнє значення та похибка середнього $M \pm m$;

*** — вірогідність результату у порівнянні з контролем при рівні достовірності $p < 0,001$;

1 — периферичні квадрати; 2 — внутрішні квадрати; 3 — болюси;

4 — стійки; 5 — грумінг; 6 — нірки.

Таблиця 1

Показники УРПУ у щурів різного віку за умов експериментальної гіперглікемії

Група тварин, (кількість)	Кількість амнезованих тварин, %		Латентний період заходу в темний відсік, с	
	Щури середнього віку	Старі щури	Щури середнього віку	Старі щури
Контроль, (n = 20)	70%	85%	154,55±5,29	96,28±10,96
Цукровий діабет, (n = 25)	88%	92%	124,1±8,99	83,64±10,43

ник також достовірно змінився: контрольна група — $3,6 \pm 0,33$ та дослідна група — $2,42 \pm 0,26$; зменшення на 32,78% ($p < 0,001$) (див. рис. 1, 2).

Показники орієнтовно-дослідницької активності, що були встановлені в тесті «Відкрите поле», у щурів з експериментальною гіпреглікемією вказує на те, що зміни в поведінці можуть бути пов'язані з розвитком діабетичної нейропатії [3].

В короткотривалій пам'яті в щурів різного віку за УРПУ були засвідчені достовірні зміни показників. Дані дослідження УРПУ наведені в таблиці (табл. 1).

Зниження ЛП в обох вікових групах мало достовірний характер та вказує на погіршення процесів запам'ятовування.

При УРПУ спостерігається зниження закріплення умовного рефлексу, що насамперед, може вважатися наслідком діабетичної енцефалопатії. Оскільки основний патогенетичний чинник в розвитку мнестичних порушень за умов гіперглікемії — це порушення процесів обміну, що відбуваються в структурах мозку [7].

ВИСНОВКИ

За умов експериментальної гіперглікемії в обох вікових групах щурів показники

орієнтовно-дослідницької та локомоторної діяльності достовірно змінювалися: зафік-

совано зменшення кількості перетнутих квадратів, особливо у щурів середнього віку. Кількість стійок та обстеження нірок мали результат в обох групах, але найбільш значимий описано у щурів середнього віку. Підвищення кількості амнезованих тварин відбувалося в обох вікових групах, а особливо у тварин середнього віку.

1. При змінній дозі алоксана (120 мг/кг маси тіла) спостерігалася стійка гіперглікемія 15–20 ммоль/л.

2. В методиках «Відкрите поле» і УРПУ спостерігалися зміни когнітивних функцій мозку, що відбувалися під впливом алоксанового діабету, а саме зменшення орієнтовно-дослідної активності особливо у щурів середнього віку порівняно з контрольною групою та погіршення процесів запам'ятовування в обох вікових групах, але найбільш у щурів середнього віку.

ЛІТЕРАТУРА (REFERENCES)

- Shchegol IM. *Diabetes Mellitus* 2019; 12(1): 52-54.
- Levin O, Chimagomedova A. *Psikhiatriya* 2018; 1(77): 51-59.
- Fitsner OA, Khaitovych MV, Rizhko IM, Holopicho LI. *Klinichna Farmatsiya* 2018; 22(3).
- Hamed SA. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2017; 10(4): 409-428.
- Moreira RO, Campos SC, Soldera AL. *Diabetes Metab Res Rev* 2013; 10: 1002.
- Gatckikh IV, Petrova MM, Veselova OF, et al. *Diabetes Mellitus* 2017; 20(6): 434-440.
- Alvarez EO, Beauquis J, Revsin Y, et al. *Behavioural Brain Res* 2009; 198(1): 224-230.
- Hamed Sherifa. *Int J Diabetol Vascular Dis Res* 2013; 37-42. <https://doi.org/10.19070/2328-353X-130007>.
- Lutsenko RV. *Zdobutki klInIchnoyi I eksperimentalnoyi meditsini* 2008; 2: 70-72.
- Antipova R, Komisova T, Sak A. *BiorInomanittya, ekologiya ta eksperimentalna biologiya* 2020; 22(1): 8-20.
- Shvyrkova NA, Zarayskaya IYu, Lukashev AO. *Vestnik RAMN* 1994; 10: 35-40.
- Lakin GV. *Biometriya, Moskva*, 1990: 352 p.

ІНТЕГРАТИВНА АКТИВНІСТЬ ЦЕНТРАЛЬНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ В GERONTOGENEZI ZA UMОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ

Басиста К. І., Родинський О. Г., Гузь Л. В.

Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна
katerinkaabas@gmail.com

Цукровий діабет має великий вплив на головний мозок та його когнітивні функції. Патогенез цих порушень ще недостатньо вивчений. Тому необхідно знаходити шляхи вирішення цих проявів при гіперглікемії, щоб попередити ризик ускладнень, які призведуть до погіршення умов життя.

В дослідженні визначили стан умовно-рефлекторної та орієнтовно-дослідницької діяльності щурів різного віку (щурів середнього віку та старі щури) в умовах експериментальної гіперглікемії. Тварини утримувалися в стандартних умовах віварію. Експериментальна гіперглікемія була змодельована шляхом інтраперитонеального введення розчину алоксану моногідрату (120 мг/кг маси тіла, «Sigma»). Протягом 10 діб визначали глюкозу крові за допомогою портативного глюкометра «Bionime». На 10 добу відібрали тих тварин, які мали показник глюкози в крові вище ніж 28 ммоль/л в перші 48 годин після введення інтраперитонеально алоксану та подальший стійкий показник гіперглікемії на рівні 15–20 ммоль/л. Аналіз орієнтовно-дослідницької та емоційної активності проводили за допомогою методики «Відкрите поле». Фіксували кількість перетнутих квадратів, підйомів на задні лапки, заглядань у «нірки», грумінгу та болюсів дефекації. Методику умовної реакції пасивного виникання використовували для вивчення стабільної та лабільної фаз пам'яті. В обох вікових групах показники орієнтовно-дослідної активності різнилися достовірно ($p < 0,05$). Зменшення кількості перетнутих квадратів, кількість стійок та проникнення у нірки було більш виражено у тварин середнього віку з цукровим діабетом. Збільшення кількості амнезованих тварин була також більш виразна у щурів середнього віку дослідної групи. Зниження латентного періоду було відмічено в обох вікових групах. Таким чином, встановлено, експериментальна гіперглікемія мала виразні наслідки для когнітивної функції тварин, відповідно, цукровий діабет несе негативний вплив на головний мозок.

Ключові слова: гіперглікемія, алоксаніндукований цукровий діабет, «відкрите поле», «умовна реакція пасивного уникання», когнітивні розлади.

**INTEGRATIVE CENTRAL NERVOUS SYSTEM ACTIVITY OF RATS
IN GERONTOGENESIS UNDER EXPERIMENTAL HYPERGLYCEMIA**

Basysta K. I., Rodinskiy A. G., Guz L. V.

*Dnipro state medical university, Dnipro, Ukraine
katerinkaabas@gmail.com*

Diabetes mellitus has a major impact on the brain and its cognitive function. The pathogenesis of these disorders is still not well understood. Therefore, it is necessary to find ways of solving these manifestations in hyperglycemia in order to prevent the risk of complications that will lead to a worsening of living conditions.

In the experiment, the state of conditioned-reflex and orientation-research activity of rats of different ages (middle-aged rats and old rats) in conditions of experimental hyperglycemia was found. The animals were kept under standard vivarium conditions. Experimental hyperglycemia was modeled by intraperitoneal solution injection of alloxan monohydrate (120 mg/kg body weight, Sigma). For 10 days, blood glucose was determined using a portable glucometer «Bionime». On day 10, those animals were selected that had a blood glucose value above 28 mmol/L. The analysis of orientation-research and emotional activity was carried out using the «Open Field» technique. The number of squares crossed, the number of lifts on the hind legs, the number of peeking into the burrows, grooming, and the number of bowel movements were recorded. The conditioned passive avoidance technique was used to study the stable and labile phases of memory. In both age groups, the indicators of orientation-research activity differed significantly ($p < 0.05$). The decrease in the number of squares crossed, the number of racks up and the study of minks was more pronounced in middle-aged animals with diabetes mellitus. The increase in the number of amnesiac animals was also more pronounced in the middle-aged rats of the research group. A decrease in the latency period was noted in both age groups. Thus, it was found that experimental hyperglycemia had pronounced consequences for the cognitive function of animals, respectively, diabetes mellitus has a negative effect on the brain.

Key words: hyperglycemia, alloxan-induced diabetes mellitus, «open field», «conditioned passive avoidance reaction», cognitive disorders.

Басиста К. І.

<https://orcid.org/0000-0002-2343-8975>

Родинський О. Г.

<https://orcid.org/0000-0002-8011-6104>

Гузь Л. В.

<https://orcid.org/0000-0003-1597-4118>