

ВЛИЯНИЕ ЦИКЛОПЕНТИЛАДЕНОЗИНА НА ОРИЕНТИРОВОЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЕ И ЭМОЦИОНАЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ПРИ ПОВРЕЖДЕНИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС

Г. З. Суфианова, А. А. Суфианов, А. Г. Шапкин, Л. А. Усов¹

Исследовали влияние локального компрессионного повреждения мозга крыс и защитное действие профилактического применения циклопентиладенозина (ЦПА) на поведение в тесте “открытое поле”. Показано, что локальное повреждение теменной коры правого полушария вызывает усиление ориентировочно-исследовательского поведения и повышение эмоциогенного напряжения у крыс. Защитное действие ЦПА выражалось в уменьшении выраженности и замедлении сроков нарушения эмоциогенного и ориентировочно-исследовательского поведения в “открытом поле”.

Ключевые слова: А1-агонист циклопентиладенозин, повреждение мозга, крысы, “открытое поле”

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время установлен и хорошо изучен защитный эффект аденозина и других А-агонистов на различных экспериментальных моделях ишемии и травмы головного мозга [6, 7, 10, 14]. Однако исследований, посвященных влиянию А-агонистов на изменения ориентировочно-исследовательского и эмоционального поведения при повреждении мозга не проводилось.

Целью работы было изучение изменений ориентировочно-исследовательского и эмоционального поведения согласно данным теста “открытого поля” при локальном компрессионном повреждении головного мозга на фоне профилактического интрацеребрентрикулярного введения селективного А1-агониста — циклопентиладенозина (ЦПА).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 23 беспородных белых крысах-самцах массой 180 – 200 г. Экспериментальные животные были получены из вивария Института биофизики (Ангарск). До экспериментов животных содержали в лабораторном виварии при температуре помещения 18 – 22 °С и естественном световом режиме; использовали стандартную диету, состоящую из брикетированного корма, овощей и воды. Опыты на животных осуществляли согласно приложению к приказу Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г. — “Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных”. Все животные были разбиты на 4

группы. В первой серии (контрольная группа, $n = 5$) исследовали изменение поведения в открытом поле после моделирования локального повреждения мозга. Во второй серии (основная экспериментальная группа, $n = 5$) изучали защитное действие ЦПА на изменение ориентировочно-исследовательского и эмоционального поведения при локальном повреждении мозга. Третью серию (ложнооперированная группа, $n = 5$) составляли ложнооперированные крысы. Четвертая группа (группа интактного контроля, $n = 8$) была представлена крысами, у которых не проводили хирургические и иные манипуляции.

Повреждение головного мозга осуществляли под достаточным обезболиванием этаминал-натрием (40 мг/кг внутривенно) путем дозированной локальной компрессии правой теменной доли [6, 15]. Данная модель приводит к формированию очага повреждения, сопровождающегося локальными морфологическими и функциональными изменениями (по данным электрофизиологических исследований) в коре большого мозга [6]. С целью моделирования повреждения крысу фиксировали в стереотаксическом аппарате, в правой теменной кости высверливали трепанационное окно диаметром 4 – 5 мм. На поверхность твердой мозговой оболочки устанавливали стержень (диаметр основания 3 мм), фиксированный в манипуляторе стереотаксического аппарата. С помощью манипулятора стержень погружали в полость черепа на глубину 3 мм. Продолжительность компрессии мозга составляла 30 мин. После завершения эксперимента вырезанный костный фрагмент помещали на место дефекта черепа. Адекватность методики ранее была подтверждена морфологическими методами, по данным которых в зоне компрессии отмечалось формирование очага деструкции с выраженной глиомезодермальной реакцией по периферии [6]. Ложнооперированным

¹ Кафедра фармакологии (зав. — проф. Г. З. Суфианова) Иркутского государственного медицинского университета, Иркутск, 664003, ул. Красного Восстания, 1. Научно-исследовательский отдел Малоинвазивной нейрохирургии (руководитель — проф. А. А. Суфианов) ГУ НЦ МЭ ВСНЦ СО РАМН, Иркутск, 664001, ул. Госпитальная, 1.

животным проводили трепанацию черепа без локальной компрессии мозга.

Циклопентиладенозин вводили интрацеребрентно циркулярно за 60 мин до повреждения в дозе 25 мкг/кг. Животным в других экспериментальных группах (кроме группы интактного контроля) вводили физиологический раствор (NaCl, 0,9 %) в эквивалентном объеме.

Для оценки ориентировочно-исследовательского поведения крысу помещали в центр “открытого поля” и в течение 6 мин регистрировали горизонтальную двигательную активность (количество пересеченных квадратов), вертикальную активность (количество вертикальных стоек), исследовательскую активность (число заглядываний в отверстия), реакцию груминга (число проявлений и продолжительность), уринацию и дефекацию (по количеству болюсов). Тестирование проводили в одно и то же время суток при постоянном освещении. Крыс исследовали до моделирования повреждения и в течение 5 последующих суток.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ MS Office и Statistica 6.0. Для оценки статистической значимости полученных

результатов использовали непараметрический критерий Вилкоксона (Манна-Уитни). Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее арифметическое, а m — ошибка средней.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из таблицы, у ложнооперированных и интактных животных в первые сутки отмечалось резкое угнетение горизонтальной двигательной активности. Уровень ее имел тенденцию к снижению в последующие сутки, оставаясь в целом ниже дооперационного периода ($p < 0,05$). В сравнении с группой интактного контроля у ложнооперированных животных отмечалась тенденция (статистически незначимая) к большему угнетению всех видов двигательной активности и исследовательского поведения в 1-е сутки после операции ($p > 0,1$).

В контрольной группе на фоне повреждения также отмечалось значительное угнетение горизонтальной двигательной активности в первые и вторые сутки ($p < 0,05$). Начиная со вторых суток наблюдалось по-

Изменение ориентировочно-исследовательского и эмоциогенного поведения в тесте “открытого поля” при повреждении мозга и про- филактическом применении циклопентиладенозина (ЦПА)

Показатель	ИУ	1-е сутки	2-е сутки	3-и сутки	4-е сутки	5-е сутки
<i>Горизонтальная двигательная активность</i>						
ИГ	39,0 ± 8,6	23,9 ± 3,5**	16,8 ± 2,6*	15,1 ± 2,1*	13,6 ± 2,8*	13,3 ± 1,8*
ЛО	43,2 ± 8,9	19,6 ± 6,1*	14,8 ± 4,6**	14,8 ± 3,0*	14,0 ± 3,8**	13,8 ± 3,3*
ПМ	36,4 ± 6,9	13,4 ± 2,1**	22,2 ± 6,2***#	23,2 ± 7,4	26,0 ± 6,3 ^a	25,8 ± 7,8 ^a
ЦПА	27,6 ± 9,2	10,6 ± 2,5*	12,8 ± 3,1	24,2 ± 8,2	20,8 ± 4,3	15,4 ± 4,8*
<i>Вертикальная двигательная активность</i>						
ИГ	5,9 ± 1,3	1,8 ± 0,3**	1,1 ± 0,3*	0,9 ± 0,2*	0,8 ± 0,3*	0,8 ± 0,2*
ЛО	5,6 ± 1,0	1,2 ± 0,3*	1,6 ± 0,6**	1,0 ± 0,3*	0,8 ± 0,4*	1,0 ± 0,3*
ПМ	5,2 ± 1,1	2,0 ± 0,5 ^{ad} *	2,0 ± 0,5 ^{d**}	1,0 ± 0,4*	1,4 ± 0,2 ^{a*}	2,0 ± 0,7 ^{ad**}
ЦПА	5,2 ± 0,4	1,2 ± 0,4*	1,4 ± 0,2*	1,0 ± 0,4*	1,8 ± 0,9*	0,8 ± 0,4*
<i>Исследовательская активность</i>						
ИГ	3,6 ± 0,8	2,0 ± 0,4**	1,4 ± 0,3**	1,1 ± 0,2*	1,3 ± 0,4*	0,9 ± 0,3*
ЛО	4,0 ± 0,4	1,8 ± 0,9**	1,0 ± 0,5*	1,2 ± 0,4*	1,4 ± 0,5*	1,0 ± 0,3*
ПМ	3,4 ± 0,6	1,4 ± 0,4 ^{c**}	1,4 ± 0,4 ^{d**}	1,8 ± 0,5 ^{d**}	2,0 ± 0,5 ^{d**}	1,2 ± 0,6**
ЦПА	3,8 ± 0,8	0,4 ± 0,2 ^{b*}	1,2 ± 0,2 ^{**#}	1,0 ± 0,3**	1,0 ± 0,3**	0,6 ± 0,2 ^{b**}
<i>Груминг (частота)</i>						
ИГ	3,4 ± 0,5	1,8 ± 0,4**	1,3 ± 0,2*	1,4 ± 0,2*	1,5 ± 0,2*	1,1 ± 0,2*
ЛО	3,6 ± 0,2	2,0 ± 0,3*	1,2 ± 0,2*	1,6 ± 0,4*	1,4 ± 0,2*	1,2 ± 0,2*
ПМ	3,4 ± 0,7	1,6 ± 0,4**	2,2 ± 0,6 ^{ad}	2,4 ± 0,7 ^a	3,0 ± 1,0 ^a	2,4 ± 0,9 ^a
ЦПА	3,0 ± 0,5	1,6 ± 0,9**	1,2 ± 0,6**	2,2 ± 0,9	2,2 ± 0,7	2,0 ± 0,3 ^{b**}
<i>Груминг (общая продолжительность, с)</i>						
ИГ	17,6 ± 3,7	14,3 ± 2,5	19,1 ± 2,4	22,9 ± 2,6	21,3 ± 2,1	25,5 ± 2,8
ЛО	16,6 ± 4,2	14,4 ± 4,7	19,6 ± 9,9	23,8 ± 4,1	22,4 ± 3,7	27,2 ± 3,6
ПМ	18,4 ± 2,5	13,8 ± 4,6	19,8 ± 5,6	21,6 ± 7,8	47,2 ± 17,1 ^{a***#}	37,2 ± 14,1**
ЦПА	16,0 ± 7,7	9,0 ± 4,5	10,0 ± 6,1	24,6 ± 11,7	29,0 ± 2,8	28,8 ± 10,8

Примечание. ИУ — исходный уровень, ИГ — интактная группа ($n = 8$), ЛО — ложнооперированная серия крыс ($n = 5$), ПМ — контрольная серия крыс с повреждением мозга ($n = 5$), ЦПА — серия крыс с повреждением мозга на фоне ЦПА ($n = 5$).

Различия достоверны в сравнении: с исходным, дооперационным уровнем: * — $p < 0,01$, ** — $p < 0,05$; с предыдущим уровнем: # — $p < 0,01$, ## — $p < 0,05$; с ложнооперированной и интактной группами: ^a — $p < 0,01$, ^b — $p < 0,05$; с группой крыс с повреждением мозга на фоне ЦПА: ^c — $p < 0,01$, ^d — $p < 0,05$.

вышение двигательной активности ($p < 0,05$), достигая к 3-м суткам дооперационного уровня. Начиная с 4-х суток, в этой группе появляются статистически значимые различия с активностью ложнооперированных и интактных животных ($p < 0,05$).

У крыс основной группы (с повреждением мозга на фоне ЦПА) отмечалась аналогичная контрольной группе динамика горизонтальной двигательной активности: угнетение в первые сутки ($p < 0,01$) и постепенное нарастание в последующие сутки с достижением максимума на 3-и сутки, когда отмечалось отсутствие достоверных различий с исходным дооперационным уровнем. Начиная с 3-х суток, в этой группе отмечалась тенденция к уменьшению горизонтальной активности, которая к 5-м суткам становилась снова значимо ниже дооперационного уровня. В течение всего срока наблюдения значимых изменений горизонтальной двигательной активности в основной группе по сравнению с контрольной и ложнооперированными сериями выявлено не было.

Вертикальная двигательная активность (таблица) в первые сутки также значимо угнеталась во всех трех группах животных ($p < 0,01$), практически не меняясь и оставаясь достоверно ниже, чем до операции, в последующие сутки ($p < 0,05$). Уровень вертикальной двигательной активности у крыс с повреждением мозга был значимо выше по сравнению с ложнооперированными крысами на 1-е, 4-е и 5-е сутки ($p < 0,05$).

Динамика изменений вертикальной двигательной активности у крыс с повреждением мозга на фоне ЦПА изменялась аналогично ложнооперированным и интактным животным. Профилактическое использование ЦПА при повреждении головного мозга предотвращало повышение вертикальной двигательной активности на 1-е, 2-е и 5-е сутки, что выражалось в более низком уровне активности по сравнению с контрольными животными ($p < 0,05$).

Исследовательская активность у ложнооперированных и интактных крыс характеризовалась угнетением в первые сутки ($p < 0,05$ в сравнении с предшествующим периодом) без существенного изменения в последующие сутки, оставаясь в целом ниже исходного (дооперационного) уровня ($p < 0,01$). Динамика исследовательской активности у крыс с повреждением мозга не отличалась от подобных изменений у ложнооперированных и интактных животных, оставаясь на протяжении всего периода также ниже исходного уровня ($p < 0,05$). Однако в целом отмечалась тенденция большей активности по сравнению с ложнооперированными животными. Изменение исследовательской активности у крыс основной группы отличалось большим угнетением в первые сутки по сравнению с ложнооперированными ($p < 0,05$), интактными ($p < 0,05$) и контрольными животными ($p < 0,01$). На вторые сутки отмечалось усиление исследовательской активности ($p < 0,01$). При этом в последующие сутки уровень этого вида поведения оставался значимо

ниже, чем у контрольных крыс ($p < 0,05$), но не отличался от уровня активности у ложнооперированных и интактных животных.

Изменения эмоциогенного напряжения в ходе эксперимента нашло отражение в изменении продолжительности и частоты груминга. У ложнооперированных и интактных крыс отмечалось достоверное уменьшение частоты ($p < 0,01$) без существенного изменения продолжительности появления реакции груминга в первые и последующие сутки.

Частота проявления реакции груминга у крыс с повреждением мозга в первые сутки не отличалась от показателей ложнооперированной и интактной серий. Частота груминга в этой группе в первые сутки в сравнении с дооперационным уровнем была значимо ниже ($p < 0,05$). В последующие сутки отмечалась тенденция к увеличению частоты проявления реакции. На вторые и последующие сутки уже отмечался значимо более высокий уровень частоты груминга по сравнению с ложнооперированными крысами ($p < 0,05$). Значимые изменения продолжительности груминга в этой группе отмечались на 4-е и 5-е сутки ($p < 0,05$). На 4-е сутки продолжительность груминга была выше, чем в группе ложнооперированных и интактных животных ($p < 0,05$).

В основной группе динамика изменения частоты груминга характеризовалась снижением в первые двое суток ($p < 0,05$) и увеличением до исходного уровня на 3-и сутки. Частота груминга в этой группе на вторые сутки была достоверно ниже, чем у контрольных животных ($p < 0,05$), однако к пятым суткам частота груминга не отличалась от животных контрольной группы и была выше по сравнению с ложнооперированными и интактными крысами ($p < 0,05$).

Изменения дефекации и уринации у всех экспериментальных животных были незначимы.

Поведение животных в условиях “открытого поля” определяют исследовательская мотивация и негативное эмоциональное состояние, возникающие у крыс при попадании в незнакомую ситуацию [1, 3, 4]. При этом горизонтальная и вертикальная двигательная активность и исследовательское поведение могут быть показателями общей возбудимости [8] и соответствовать реакции активного избегания [4]. Реакция груминга в эмоциогенных ситуациях является смещенной реакцией, отражающей наличие эмоциогенного напряжения [2, 9].

В нашем исследовании изменение динамики двигательной активности у ложнооперированных и интактных животных объясняется адаптацией к условиям “открытого поля” в последующие сутки, что сопровождается уменьшением возбудимости и, как следствие, угнетением двигательной активности в первые и последующие сутки. Это, в свою очередь, сопровождается снижением эмоциогенной напряженности, что и выражалось, согласно результатам нашей работы, в снижении частоты груминга без изменения его про-

должительности. При этом тенденция к большему угнетению двигательной и исследовательской активности у ложнооперированных крыс, по сравнению с интактными, вероятно, связана с последствиями операционного стресса и воздействия наркоза.

При локальном повреждении мозга угнетение двигательной активности и частоты груминга в первые сутки связано с общим угнетением функционального состояния животного в послеоперационном периоде. Степень угнетения двигательной активности в данном случае напрямую зависит от тяжести оперативного вмешательства. Отмечавшееся со вторых суток при локальном повреждении мозга увеличение двигательной активности и эмоциональной напряженности в виде увеличения частоты и продолжительности груминга, достигавшее максимума на 4–5-е сутки, вероятно, связано с формированием локального очага возбуждения, являющегося источником динамических сдвигов функционального состояния нервной системы [5]. Сходные изменения поведения в “открытом поле” наблюдались при поляризации зрительной коры катодом постоянного тока [5, 11] и индукции распространяющейся депрессии в коре большого мозга [12, 13].

Защитное действие ЦПА проявлялось в замедлении повышения возбудимости в виде угнетения двигательной активности до 3–5 суток и уменьшении проявлений эмоциональной напряженности в виде замедления увеличения частоты и продолжительности груминга. Эти изменения, учитывая продолжительность фармакологической активности ЦПА, трудно объяснить наличием анксиолитического эффекта у A1-агонистов. Защитное действие ЦПА в данном случае объясняется уменьшением степени повреждения нервной ткани и замедлением патологических процессов в очаге повреждения в период действия препарата, что замедляет или предотвращает сдвиги функционального состояния в нервной системе в последующие сутки.

ВЫВОДЫ

1. Поведение интактных и ложнооперированных крыс в “открытом поле” в течение 5 суток эксперимента в результате адаптации к условиям “открытого

поля” и снижения эмоциогенного напряжения характеризуется снижением двигательной активности и частоты груминга.

2. Локальное компрессионное повреждение коры большого мозга у крыс сопровождается повышением возбудимости ЦНС и эмоциогенного напряжения, что выражается увеличением двигательной активности, продолжительности и частоты груминга в последующие сутки в сравнении с ложнооперированными и интактными животными.

3. Профилактическое интрацеребровентрикулярное введение циклопентиладенозина вызывает уменьшение выраженности и замедление сроков нарушения эмоциогенного и ориентировочно-исследовательского поведения в “открытом поле” при повреждении головного мозга у крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон, *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*, Высшая школа, Москва (1991).
2. В. В. Вознесенская, И. И. Полетаева, *Ж. высш. нервн. деят.*, № 1, 32–37 (1984).
3. Д. А. Кулагин, В. К. Федоров, *Генетика поведения*, Наука, Ленинград (1969), сс. 35–42.
4. А. Л. Маркель, *Ж. высш. нервн. деят.*, № 2 (1981).
5. В. С. Русинов, *Доминанта. Электрофизиологические исследования*, Медицина, Москва (1969).
6. Г. З. Суфианова, *Дис. д-ра мед. наук*, Иркутск (2003).
7. Г. З. Суфианова, С. Э. Мурик, Л. А. Усов и др., *Бюл. экспер. биол.*, № 6, 576–578 (2003).
8. Г. М. Чайченко, *Ж. высш. нервн. деят.*, № 2, 980–982 (1982).
9. M. E. Celis and E. Torre, *Methods in Neurosciences*, Academic Press, New York (1993), 359–378.
10. H. Kitagawa, A. Mori, J. Shimada, et al., *Neurol. Res.*, № 3, 317–323 (2002).
11. S. E. Murik, *Intern. J Neuroscience*, **94**, 213–221 (1998).
12. M. S. Oitzl and J. P. Huston, *Brain Res.*, № 66, 33–42 (1984).
13. M. Shibata, *Brain Res. Bull.*, № 4, 395–400 (1978).
14. D. Von Lubitz and K. A. Jacobson, *Drug Dev. Res.*, № 4, 332 (1994).
15. S. Watanabe, J. R. Hoffman, R. L. Craik, et al., *Stroke*, № 11, 2615–2623 (2001).

Поступила 23.04.08

EFFECT OF CYCLOPENTYLADENOSINE ON THE ORIENTATION, RESEARCH, AND EMOTIONAL BEHAVIOR OF RATS WITH MODEL BRAIN INJURY

G. Z. Sufianova, A. A. Sufianov, A. G. Shapkin, and L. A. Usov

Pharmacology Department, Irkutsk State Medical University, Irkutsk, 664003, Russia

Low-Invasive Neurosurgery Center, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, Irkutsk, 664001, Russia

Effects of a local compression brain injury and the preventive application of cyclopentyladenosine (CPA) on the behavior of rats in the open field test was investigated. It is established that the local injury of a parietal cortex causes intensification of the orientation – research behavior and an increase in the emotional stress in rats. A protective action of CPA was manifested by a decrease in the expressiveness and duration of disturbances in the emotional and orientation – research behavior of animals in the open field test.

Key words: A1 receptor agonist cyclopentyladenosine, local brain injury in rats, open field test