

Работоспособность крыс в тесте «Вынужденное плавание с грузом» и причины её вариабельности

М.С. Зайцева, Д.Г. Иванов, Н.В. Александровская

ФГУП «НЦ «Сигнал», Москва

Контактная информация: Зайцева Марина Сергеевна, zaiceva.mar@yandex.ru

Исследовано влияние способа введения, массы тела животных и атмосферного давления на динамику показателя работоспособности крыс при плавании с грузом 10% от массы тела. Работоспособность тестировали у животных на первые, восьмые, пятнадцатые и двадцать вторые сутки внутрижелудочного и внутримышечного введения дистиллированной воды. Динамика длительности плавания крыс при обоих способах введения характеризовалась увеличением значений показателя на восьмые, пятнадцатые и двадцать вторые сутки по сравнению с результатами первого тестирования. На пятнадцатые сутки эксперимента длительность плавания животных, на которых применялось внутрижелудочное введение, была больше, чем при внутримышечном введении. Показатель длительности плавания животных имел обратную регрессионную зависимость от массы тела и относительной массы эпидидимального жира. Атмосферное давление не оказывало влияния на среднegrupповые значения длительности плавания животных. Имелись животные с индивидуальной чувствительностью к уровню атмосферного давления, количество которых было больше в группе с внутримышечным введением.

Ключевые слова: работоспособность, вынужденное плавание с грузом, крысы.

Введение

Распространённым методом исследования работоспособности на этапе доклинических испытаний лекарственных средств является тест «Вынужденное плавание с грузом». Для получения воспроизводимых результатов и возможности их сравнения с результатами других исследователей необходима стандартизация условий проведения тестирования.

Критическим условием при выполнении теста «Вынужденное плавание с грузом» является интенсивность предъявляемой нагрузки. Известно, что при плавании с грузом $4,95 \pm 0,10\%$ от массы тела у крыс устанавливается «устойчивое состояние», соответствующее уровню лактата в крови $7,17 \pm 0,16$ ммоль/л [24]. На основании этого, вынужденное

плавание мелких лабораторных животных с грузом утяжеления $\leq 5\%$ от массы тела можно считать моделью аэробной нагрузки, плавание с грузом 10-13% от массы тела является преимущественно анаэробной нагрузкой. Об этом свидетельствуют данные [25], согласно которым плавание с грузом ниже или равным 5% от массы тела в течение 30 мин не приводит к увеличению лактата крови выше уровня, соответствующего «устойчивому состоянию», и не влияет на обмен белка в мышцах. При увеличении массы груза (при плавании с грузом 6,5% от массы тела) с 5-й мин наблюдается катаболизм белка в камбаловидной мышце и регистрируется повышение уровня лактата в крови.

На результаты теста вынужденного плавания с грузом также оказывает

влияние тренировки животных, которая сопровождается адаптационными изменениями физиологических показателей у крыс. Адаптация к аэробной плавательной нагрузке характеризуется увеличением в трехглавой мышце экспрессии коактиватора-1 рецепторов γ , активируемых пролифераторами пероксисом (PCG-1), и индуцирующего митохондриальный биогенез; увеличением содержания транспортера глюкозы типа 4 (GLUT4); активности цитратсинтазы, цитохром С оксидазы и δ -аминолевуленат синтазы, а также ядерных респираторных факторов NFR-1 и NFR-2 – транскрипционных факторов синтеза вышеуказанных ферментов [6]. Распределение мышечных волокон в прямой мышце живота при аэробной плавательной нагрузке смещается в сторону преобладания медленных оксидативных и быстрых (смешанных – тип ПА) оксидативно-гликолитических [22]. Гипертрофии сердца не наблюдается, но увеличивается площадь сечения левого желудочка, снижается частота сердечных сокращений (ЧСС) [14]. При выполнении животными анаэробных плавательных нагрузок у них наблюдается гипертрофия сердца, сопровождающаяся уменьшением площади сечения левого желудочка, без изменения ЧСС [14].

На характер нагрузки и результаты тестирования влияет высота столба жидкости. По нашим наблюдениям, в неглубоких емкостях животные склонны садиться на дно, что увеличивает длительность плавания до утомления, дисперсию средних значений показателя и ухудшает воспроизводимость результатов. Это согласуется с данными [5], в соответствии с которыми при увеличении столба воды в тесте принуди-

тельного плавания, используемого для изучения депрессивно-подобных состояний у мелких лабораторных животных, значительно снижается время неподвижности крыс и повышается уровень лактата в крови. В большинстве работ при проведении теста «Вынужденное плавание с грузом» высота столба воды составляет 50-60 см.

Важным критерием при проведении данного теста, требующим постоянного контроля, является температура воды. В диапазоне 10-28°C длительность плавания до утомления с грузом 6% от массы тела у крыс Wistar изменяется приблизительно от 2,5 до 12 мин и имеет линейную зависимость от значений температуры воды. При 30°C длительность плавания крыс с грузом 6% от массы тела в среднем составляет 150 мин [8]. При дальнейшем увеличении температуры воды длительность плавания крыс снижается [7]. Оптимальной считается температура воды ниже температуры тела животного примерно на 10°C, поэтому работоспособность крыс обычно тестируется при температуре воды 30±1°C. Повышение или понижение этого значения изменяет процессы терморегуляции, углеводного и липидного обмена [20].

Нельзя не отметить, что результаты тестирования зависят и от индивидуальных особенностей животных, связанных с видом, породой, полом и возрастом, а также условиями содержания [8, 11]. При этом контекстуальные условия теста (размер комнаты, цвет стен и освещение) не оказывают влияния на результаты тестирования [18].

Известно, что на двигательную активность крыс в условиях свободного поведения в тесте «Открытое поле»

оказывают влияние метеорологические факторы, а именно направление и скорость ветра, температура и относительная влажность воздуха, атмосферное давление, высота нижней границы облачности [4]. Однако в доступных литературных источниках не проанализировано влияние погодных условий (например, атмосферного давления) на результаты теста «Вынужденное плавание с грузом». Также можно предположить, что на физическую работоспособность будет оказывать влияние путь введения исследуемых веществ. Пероральный путь введения вызывает стрессовую реакцию [23], внутримышечное введение (особенно при длительных курсах) может быть причиной образования инфильтрата в мышцах, обусловленного повреждением ткани и возможным заносом микроорганизмов в области введения [1]. На результаты определения работоспособности животных при плавании с грузом также может влиять повторное тестирование, что связано со способностью крыс вырабатывать определенную стратегию поведения в стрессовых условиях [2] и физически адаптироваться к нагрузке.

На основании вышеизложенного, **целью** данной работы было изучение работоспособности крыс в тесте «Вынужденное плавание с грузом» в серии повторных еженедельных тестирований с периодичностью один раз в неделю, сравнение динамики работоспособности с динамикой длительности активного плавания крыс в тесте принудительного плавания при аналогичной схеме тестирования, а также оценка влияния способа введения, массы тела и изменений атмосферного давления на длительность плавания животных.

Материалы и методы

Исследование проводили на 108 белых нелинейных крысах-самцах массой 200-300 г, полученных из филиала «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России и прошедших 14-дневный карантин.

Условия работы с экспериментальными животными соответствовали приказу Минздрава РФ от 23.08.2010 №708Н «Об утверждении правил лабораторной практики» и директиве ЕП и СЕС от 22 сентября 2010 г. «По охране животных, используемых в научных целях». Животные содержались по 6 особей в клетках 1500U Eurostandart Type IV S («Tecniplast», Италия), при температуре воздуха 20-22°C и относительной влажности 40-60%, световом режиме 12:12 с включением света в 8:00, на стандартном комбикорме со свободным доступом к воде и пище. Депривация корма осуществлялась за 2 ч до начала теста.

Физическую работоспособность животных в тесте «Вынужденное плавание с грузом» оценивали по длительности плавания с грузом 10% от массы тела, прикрепленным резиновой лигатурой к корню хвоста животного. Массу животных определяли с точностью до 1 г. Длительность плавания регистрировали секундомером с точностью до 1 с. Моментом окончания эксперимента считали утомление животного в виде неспособности всплыть на поверхность воды в течение 8 с или отказ животного от плавания (погружение на дно более чем на 10 с). Утомление часто сопровождалось нарушением моторно-координационной функции (вращением и заваливанием на бок в толще воды).

Плавание проводили в сосудах из оргстекла с внутренним диаметром 30

см и высотой 75 см. Высота столба воды составляла 60 см, температура воды – $30 \pm 1^\circ\text{C}$. Тестирование животных проводили с 10 до 12 ч мск.

В течение эксперимента животные тестировались 4 раза с недельным интервалом: на 1-е, 8-е, 15-е и 22-е сутки введения. Исследовали работоспособность животных, подвергавшихся введению растворителя (дистиллированной воды) в область икроножной мышцы в удельном объеме 0,5 мл/кг (группа «В/М») и внутрижелудочному введению воды в удельном объеме 3 мл/кг (группа «В/Ж»). Введение дистиллированной воды проводили ежедневно за 40 мин до начала тестирования.

Тестирование животных по указанной схеме проводили в 5-ти экспериментальных сериях в течение года с внутрижелудочным введением и в 3-х экспериментальных сериях с внутримышечным введением. В пределах одной серии тестировалось не более 12-ти животных.

У 22-х крыс, на которых использовалось внутрижелудочное введение, на 29-е сутки исследования извлекали эпидидимальный жир и определяли его массу.

Для выявления эффектов повторных тестирований, связанных с поведением крыс, на работоспособность животных в тесте «Вынужденное плавание с грузом» в отдельном эксперименте исследовали активность животных в тесте «Принудительное плавание» [21] в серии из 3-х последовательных тестирований с недельным интервалом (на 1-е, 8-е и 15-е сутки). При этом плавание животных осуществлялось в цилиндрах из оргстекла, описанных выше, которые на высоту 35 см наполняли водой с тем-

пературой $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Соседние цилиндры были отгорожены друг от друга ширмами из черного пластика. Животные в цилиндрах исследовались по одному. Смену воды в цилиндрах осуществляли после 3-4-х животных. Каждое тестирование проводили в два этапа. На первом этапе животных помещали в цилиндры на 15 мин для ознакомления, в это время их поведение не регистрировали. Через 24 ч животных помещали в цилиндр с водой на 5 мин и секундомером регистрировали длительность пассивного плавания (нахождения животного на поверхности воды без активных движений лапами и попыток выбраться) как характеристику депрессивно-подобного поведения; длительность карабканья на стены цилиндра (активное выпрыгивание на стены). Для сопоставления результатов тестов время активности животного рассчитывали как разницу между общим периодом тестирования (5 мин) и длительностью карабканья и пассивного плавания. Далее поведенческую активность животных в тесте оценивали по времени активности и длительности карабканья.

Выборки результатов для каждого способа введения формировали по данным всех серий. Указывали суммарные средние арифметические значения ($\bar{X}$), дисперсию (σ) и коэффициент вариации (CV) показателя работоспособности, число животных в выборке (n), величину асимметрии (A_s) и эксцесса (E_x). Нормальность распределения длительности плавания по частоте оценивали методом Колмогорова-Смирнова.

Дисперсия длительности плавания у крыс группы «В/Ж» на 1-е, 8-е, 15-е и 22-е сутки эксперимента статистически значимо отличалась по критерию Ливе-

на ($p < 0,001$), что делало некорректным применение дисперсионного анализа, поэтому сравнения средних значений длительности плавания животных в группах в течение эксперимента производили с помощью непараметрических методов. Длительность плавания животных при внутрижелудочном и внутримышечном введении сравнивали по U-критерию Манна-Уитни, используемому для сравнения двух независимых выборок [3]. Сравнение средних значений длительности плавания животных на 1-е, 8-е, 15-е и 22-е сутки эксперимента при каждом способе введения проводили с помощью критерия Т-Вилкоксона, используемого для сравнения зависимых выборок, с корректировкой по методу FDR-контроля [9]. Уровень значимости отличий принимали равным 5%. Значения уровней статистической значимости отличий, достигнутых при отдельных сравнениях, выстраивали в ряд по возрастанию. Также строили ряд рассчитанных критических значений уровня значимости, первым членом которого был принятый уровень значимости 0,05, деленный на число сравнений; вторым членом – число, в два раза большее, чем первый член ряда; третьим – число, в три раза большее и т.д. Критические значения уровня значимости округляли до тысячных, отбрасывая цифру в четвертом знаке после запятой. Статистически значимыми считали отличия, у которых при сопоставлении двух рядов достигнутый уровень значимости был меньше соответствующего по месту в ряду критического значения (критические значения p , соответствующие по месту в ряду достигнутого уровня значимости, указывали в нижнем индексе).

Влияние массы животных и количества эпидидимального жира на результаты тестирования исследовали методом регрессионного анализа. Определяли коэффициент регрессии R и коэффициенты k и b уравнения линейной регрессии $y = kx + b$.

Наличие связи между атмосферным давлением до дня тестирования ($P_{до}$), в день теста ($P_{тест}$) и суточного изменения атмосферного давления, давления перед тестированием ($P_{тест} - P_{до}$) со среднегрупповыми значениями показателя физической работоспособности животных в тесте «Принудительное плавание» исследовали методом корреляционного анализа по Спирмену. Анализировали взаимосвязь длительности плавания у каждой отдельной крысы на 1-е, 8-е, 15-е и 22-е сутки эксперимента с показателями атмосферного давления. Количество «метеочувствительных» животных, длительность плавания которых коррелировала со значениями $P_{до}$, $P_{тест}$ и $P_{до} - P_{тест}$ при внутрижелудочном и внутримышечном введении, сравнивали с помощью точного критерия Фишера для двусторонних гипотез.

Результаты исследований

На 1-е, 8-е и 22-е сутки эксперимента частотное распределение длительности плавания крыс групп «В/М» и «В/Ж» не отличалось от нормального распределения по критерию Колмогорова-Смирнова (см. табл. 1). При этом в каждой выборке присутствовали единичные особи с высокими значениями длительности плавания, не выходящими за пределы $\pm 2\sigma$. Поэтому значения A_s и E_x распределений длительности плавания крыс по частоте у крыс групп «В/М» и «В/Ж» были больше своих ошибок.

На 15-е сутки эксперимента распределение длительности плавания крыс по частоте в обеих группах не соответствовало нормальному. В группе «В/Ж» распределение длительности плавания крыс по частоте отличалось от нормального по критерию Колмогорова-Смирнова ($Z=1,63$; $p=0,010$). Значение среднегрупповой длительности плавания составило $160,0$ с ($\sigma=73,7$ с; $n=57$), As было равно $2,25\pm0,32$, $Ex - 7,23\pm0,62$. Это обусловлено наличием двух животных (3,5% от общего числа крыс), время плавания которых отличалось от среднего значения больше чем 2σ . После выбраковки этих значений распределение длительности плавания крыс по частоте не отличалось от нормального (см. табл. 1).

В группе «В/М» на 15-е сутки распределение длительности плавания крыс по частоте отличалось от нормального по критерию Колмогорова-Смирнова ($Z=2,16$; $p<0,001$). Значение среднегрупповой длительности плавания составило $181,5$ с ($\sigma=162,0$ с; $n=35$), As было равно $2,52\pm0,40$, $Ex - 5,73\pm0,78$. Это обусловлено наличием в выборке 4-х особей (11,4% от общего числа крыс), длительность плавания которых отличалась от среднего значения больше чем 2σ , их данные были исключены из дальнейшего анализа.

При вскрытии животных, длительность плавания которых превышала среднегрупповую на 2σ , были верифицированы вздутие кишечника и эмфизема легких.

Таблица 1

Описательные статистические показатели длительности плавания крыс при внутрижелудочном и внутримышечном введении дистиллированной воды в течение 22-х суток

Показатель выборки	1-е сутки	8-е сутки	15-е сутки	22-е сутки
Внутрижелудочное введение				
$\bar{X}_{ср., с}$	106,5	134,1 ^a	150,9 ^{a,б}	130,0 ^{a,в}
σ	21,5	45,6	54,3	39,0
n	60	58	55	56
CV	20,2	34,0	36,0	30,0
As	$2,046\pm0,309^*$	$1,861\pm0,314$	$1,212\pm0,322$	$0,608\pm0,319$
Ex	$7,699\pm0,608$	$5,073\pm0,618$	$1,253\pm0,634$	$0,339\pm0,628$
Z	1,037	1,102	1,226	0,740
P	0,232	0,176	0,099	0,645
Внутримышечное введение				
$\bar{X}_{ср., с}$	109,0	128,5 ^a	128,1 ^a	137,6 ^a
σ	24,1	45,8	45,6	33,6
n	36	36	31	26
CV	22,1	35,6	35,6	24,4
As	$0,463\pm0,393$	$0,991\pm0,393$	$1,934\pm0,421$	$-0,143\pm0,456$
Ex	$-0,540\pm0,768$	$1,155\pm0,768$	$5,039\pm0,821$	$0,070\pm0,887$
Z	0,508	0,687	1,041	0,408
P	0,959	0,733	0,228	0,996

Примечание: * – значения коэффициентов асимметрии (As) и эксцесса (Ex) приведены с ошибками;

^a – отличие от результата тестирования на 1-е сутки статистически значимо;

^б – отличие от результата тестирования на 8-е сутки статистически значимо;

^в – отличие от результата тестирования на 15-е сутки статистически значимо.

При внутрижелудочном введении в тесте «Вынужденное плавание с грузом» среднегрупповая длительность плавания на 8-е, 15-е и 22-е сутки эксперимента превышала таковую на 1-е сутки тестирования на 25,9% ($p_{0,008}=0,001$), 41,7% ($p_{0,017}=0,001$) и 22,1% ($p_{0,025}=0,001$) соответственно. Длительность плавания на 15-е сутки исследования была больше относительно результатов 8-х суток на 12,5% ($p_{0,034}=0,003$) и 22-х суток – на 23,1% ($p_{0,042}=0,019$). На 22-е сутки эксперимента длительность плавания крыс группы «В/Ж» не отличалась от результатов тестирований на 8-е сутки ($p_{0,050}=0,648$).

При внутримышечном введении среднегрупповая длительность плавания животных в тесте «Вынужденное плавание с грузом» на 8-е, 15-е и 22-е сутки превышала значения, зафиксированные в 1-е сутки тестирования, на 17,9% ($p_{0,025}=0,016$), 17,5% ($p_{0,017}=0,007$) и 26,2% ($p_{0,008}=0,006$) соответственно. Длительность плавания крыс на 8-е сутки исследования не отличалась от результатов тестирования на 15-е ($p_{0,042}=0,180$) и 22-е сутки ($p_{0,034}=0,159$). Также не было установлено различий между значениями длительности плавания на 15-е и 22-е сутки ($p_{0,050}=0,721$).

Длительность плавания крыс группы «В/Ж» не отличалась от среднегрупповых значений этого показателя у жи-

вотных группы «В/М» на 1-е ($p=0,607$), 8-е ($p=0,465$) и 22-е ($p=0,246$) сутки эксперимента. На 15-е сутки эксперимента при внутрижелудочном введении длительность плавания у крыс была больше, чем при внутримышечном, на 13,4% ($p=0,019$).

В тесте «Принудительное плавание» при повторных тестированиях время активности изменялось сопоставимо показателю длительности плавания в тесте «Вынужденное плавание с грузом» (см. табл. 2). На 8-е и 15-е сутки показатели активности превышали таковые, зарегистрированные на 1-е сутки тестирования, на 40,5% ($p_{0,016}=0,006$) и на 33,9% ($p_{0,034}=0,012$) соответственно, но не различались между собой ($p_{0,050}=0,691$). Длительность карабканья на 8-е и 15-е сутки не отличалась от значения этого же показателя, зафиксированного на 1-е сутки эксперимента ($p_{0,016}=0,629$ и $p_{0,034}=0,932$).

В тесте «Вынужденное плавание с грузом» при внутрижелудочном введении методом регрессионного анализа была обнаружена зависимость длительности плавания животных от их массы на 1-е, 8-е, 15-е и 22-е сутки эксперимента (см. табл. 3). При внутримышечном введении была выявлена зависимость длительности плавания от массы тела крыс только на 1-е сутки эксперимента.

Таблица 2

**Динамика длительности плавания крыс в тесте
«Принудительное плавание» при повторных тестированиях (n=15)**

Показатель	Период тестирования		
	1-е сутки	8-е сутки	15-е сутки
Время активности, с	141,8±13,3	199,2±15,4 ^a	189,9±19,1 ^a
Длительность карабканья, с	27,9±5,3	32,9±8,5	28,7±7,8

Примечание: а – отличие от значения показателя на 1-е сутки статистически значимо.

Таблица 3

Зависимость длительности плавания крыс при внутрижелудочном и внутримышечном введении дистиллированной воды от массы тела по результатам регрессионного анализа

Период тестирований	Коэффициент регрессии (R)	Коэффициенты уравнения линейной регрессии $y=kx+b$	
		k	b
Внутрижелудочное введение			
1-е сутки	0,329 p=0,010 n=60	-0,442±0,167 p=0,010 n=60	208,5±38,5 p=0,001 n=60
8-е сутки	0,238 p=0,072 n=58	-0,528±0,288 p=0,072 n=58	272,1±75,6 p=0,001 n=58
15-е сутки	0,388 p=0,003 n=55	-0,860±0,281 p=0,003 n=55	392,3±79,1 p=0,001 n=55
22-е сутки	0,385 p=0,003 n=56	-0,524±0,171 p=0,003 n=56	285,4±51,0 p=0,001 n=56
Внутримышечное введение			
1-е сутки	0,344 p=0,040 n=36	0,676±0,317 p=0,040 n=36	-40,4±70,2 p=0,568 n=36
8-е сутки	0,109 p=0,527 n=36	-0,308±0,483 p=0,527 n=36	207,4±123,8 p=0,103 n=36
15-е сутки	0,198 p=0,285 n=31	0,359±0,329 p=0,285 n=31	29,2±91,1 p=0,751 n=31
22-е сутки	0,218 p=0,284 n=26	-0,269±0,245 p=0,284 n=26	215,8±71,6 p=0,006 n=26

Взаимосвязи среднегрупповых значений длительности плавания и массы тела животных на 1-е, 8-е, 15-е и 22-е сутки эксперимента при внутрижелудочном ($r=0,400$; $p=0,600$) и внутримышечном ($r=0,800$; $p=0,200$) способах введения обнаружено не было.

Анализ значений средней длительности плавания животных и абсолютной массы эпидидимального жира выявил наличие линейной регрессионной зави-

симости между показателями ($R=0,475$; $p=0,026$; $k=-18,4$; $b=208,8$; $p=0,001$).

Взаимосвязи среднегрупповой длительности плавания и коэффициента ее вариации от суточного атмосферного давления у крыс групп «В/Ж» и «В/М» в сроки – день, предшествующий тестированию, и день тестирования, а также от суточного изменения атмосферного давления установлено не было (см. табл. 4).

Таблица 4

Взаимосвязь среднегрупповой длительности плавания и коэффициента ее вариации с атмосферным давлением в день, предшествующий тестированию, и день тестирования, и с суточным изменением атмосферного давления

Показатель	Атмосферное давление		
	Р _{до}	Р _{тест}	Р _{до} - Р _{тест}
Внутрижелудочное введение (n=20)			
Средняя длительность плавания, с	r=0,069 p=0,773	r=0,240 p=0,308	r=0,222 p=0,346
CV длительность плавания	r=0,104 p=0,662	r=0,257 p=0,273	r=0,199 p=0,401
Внутримышечное введение (n=11)			
Средняя длительность плавания, с	r=-0,282 p=0,400	r=-0,411 p=0,209	r=0,073 p=0,831
CV длительность плавания	r=-0,169 p=0,620	r=-0,575 p=0,064	r=-0,229 p=0,499

В группе животных, где использовалось внутрижелудочное введение, были две крысы, индивидуальные значения длительности плавания которых в течение эксперимента коррелировали с уровнем атмосферного давления в день, предшествующий тестированию, что составляет 3,6% от общего количества крыс. У 4-х крыс (7,1%) индивидуальные значения длительности плавания в течение эксперимента коррелировали с уровнем атмосферного давления в день теста, а также у 3-х крыс (5,4%) – с суточным изменением атмосферного давления.

В группе животных с внутримышечным введением были 6 крыс (18,2% от общего количества), индивидуальные значения длительности плавания которых в течение эксперимента коррелировали с уровнем атмосферного давления в день, предшествующий тестированию. У пяти крыс (15,2%) индивидуальные значения длительности плавания в течение эксперимента коррелировали с

уровнем атмосферного давления в день теста. У одной крысы (3%) индивидуальные значения длительности плавания в течение эксперимента коррелировали с суточным изменением атмосферного давления.

При анализе с использованием точного критерия Фишера была выявлена статистически значимая разница ($p=0,040$) количества животных, длительность плавания которых коррелировала с уровнем атмосферного давления в день, предшествующий тестированию, в группах крыс с внутримышечным и внутрижелудочным способами введения.

Обсуждение результатов

В проведенном исследовании частотное распределение длительности плавания животных на 1-е, 8-е и 22-е сутки тестирования соответствовало нормальному. Это указывает на то, что внутригрупповая вариабельность значений показателя работоспособности опреде-

лялась влиянием случайной совокупности внешних факторов и их взаимодействием [3]. На 15-е сутки распределение длительности плавания по частоте отличалось от нормального, что было обусловлено наличием в выборке животных с высокими значениями показателя работоспособности. При вскрытии у последних наблюдались эмфизема легких, воспаление легких, и/или вздутие кишечника. Указанные патологические изменения могли быть причиной увеличения длительности плавания крыс, т.к. повышали плавучесть (снижали плотность тела) животных. Причиной обнаруженных патологических изменений у животных могло быть попадание воды в дыхательные пути и их окклюзия, ослабление иммунитета в ходе эксперимента из-за стрессогенности экспериментальных процедур, а также раздражение отдельных участков желудочно-кишечного тракта при внутрижелудочном введении [23].

Динамика работоспособности крыс при внутрижелудочном и внутримышечном введении дистиллированной воды в тесте «Вынужденное плавание с грузом» характеризовалась увеличением показателя длительности плавания в повторных тестированиях по сравнению с результатами первого исследования работоспособности. Такое увеличение работоспособности выглядело парадоксальным, т.к., во-первых, животные не подвергались тренировке, во-вторых, в течение эксперимента у животных увеличивалась масса тела, хотя, согласно результатам проведенного исследования и по данным литературы [15], крысы с большей массой тела, как правило, обнаруживают меньшую работоспособность в тесте «Вынужденное плавание

с грузом». Возможно, выявленная динамика длительности плавания у крыс в эксперименте связана с изменением нейромедиаторного пейзажа в головном мозге после первого плавания. Отчасти на это указывает схожая динамика времени активности крыс в тесте «Принудительное плавание», проводившемся по аналогичной схеме. Известно [10], что однократное принудительное плавание в течение 6 мин увеличивает плотность серотониновых рецепторов в коре мозга и количество серотониновых стереотипий у интактных мышей CD1 через 8 суток после теста. Это подтверждает предположение о влиянии первого тестирования на результаты исследования работоспособности на 8-е, 15-е и 22-е сутки эксперимента.

Установлено, что динамика длительности плавания животных в тесте «Вынужденное плавание с грузом» зависит от способа введения: так, при внутримышечном введении отличия длительности плавания на 8-е, 15-е и 22-е сутки эксперимента от полученных на 1-е сутки были менее выражены, чем при внутрижелудочном введении. Возможно, это объясняется повреждением мышц при внутримышечном введении. Известно, что при введении физиологического раствора на гистологических срезах мышц обнаруживается некроз мышечных волокон вдоль следа иглы, составляющий примерно 0,7% от площади введения [13]. Визуально мы не наблюдали нарушения функции конечности у животных в эксперименте и видимых признаков воспалительных процессов в мышцах при вскрытии животных. У животных, на которых использовалось внутрижелудочное введение, большая длительность плавания на

15-е сутки тестирования по сравнению с 8-ми сутками, возможно, обусловлена раздражающим действием введения зонда [23] с нарушением перистальтики желудочно-кишечного тракта и изменением состояния кишечной микрофлоры, что могло быть причиной вздутия кишечника.

Средние значения показателя работоспособности животных в тесте «Вынужденное плавание с грузом» не коррелировали с уровнем атмосферного давления за день до тестирования, в день тестирования и с перепадом атмосферного давления за 24 ч до тестирования. Следовательно, атмосферное давление не оказывает существенного влияния на результат тестирования работоспособности животных.

В то же время, независимо от способа введения, у некоторых крыс длительность плавания коррелировала с уровнем атмосферного давления, таких животных считали «метеочувствительными». При внутрижелудочном введении процент «метеочувствительных» животных в выборке был меньше, чем при внутримышечном введении. Возможно, это связано с рефлекторной регуляцией сердечной деятельности посредством активации мышечных проприорецепторов при инъекции. Раздражение мышечных метабо- и проприорецепторов в результате сокращения мышц, также как болевых и проприорецепторов при введении гипертонического раствора хлорида натрия, увеличивает сердечный выброс за счет повышения ЧСС и уровня кровяного давления [12, 16]. При этом через 30 мин после введения ЧСС снижается до первоначального уровня, а давление остается повышенным на несколько часов. Хотя в доступной литературе мы не

обнаружили данных об изменении давления у грызунов при внутримышечной инъекции, отчасти сделанное предположение подтверждается результатами исследований Meijer M.K. и соавт. [17], которые зарегистрировали описанную динамику ЧСС у мышей при внутримышечной инъекции. При внутрижелудочном введении ЧСС и уровень кровяного давления у животных одинаково снижаются в течение примерно 30 мин после выполнения процедуры и, вероятно, являются следствием стрессовой реакции [19].

Выводы

Динамика длительности плавания крыс в тесте «Вынужденное плавание с грузом» при многократном тестировании характеризовалась большими значениями показателя на 8-е, 15-е и 22-е сутки при внутрижелудочном и внутримышечном способах введения дистиллированной воды относительно первых суток эксперимента. Такая динамика показателя работоспособности была схожа с динамикой длительности активного плавания крыс в тесте «Принудительное плавание» при аналогичной схеме тестирования. При внутрижелудочном и внутримышечном способах введения частотное распределение показателей длительности плавания соответствовало закону нормального распределения на 1-е, 8-е и 22-е сутки эксперимента. На 15-е сутки в выборках обнаруживались животные с завышенными значениями длительности плавания, обусловленными вздутием кишечника или эмфиземой легких.

На вариабельность показателя работоспособности крыс в тесте «Вынужденное плавание с грузом» оказывал

влияние использовавшийся способ введения. На 15-е сутки эксперимента при внутрижелудочном введении дистиллированной воды длительность плавания крыс была больше, чем при внутримышечном введении.

В течение эксперимента длительность плавания отдельных животных с внутрижелудочным введением имела обратную регрессионную зависимость от массы тела и относительной массы эпидидимального жира. Средние значения длительности плавания в разные дни не коррелировали со среднегрупповыми величинами массы тела животных. При внутримышечном способе введения регрессионная зависимость длительности плавания от массы тела проявлялась только на 1-е сутки тестирования.

Уровни атмосферного давления за день до тестирования, в день тестирования, а также разница этих показателей не влияли на результаты тестирования. В эксперименте имелись животные с индивидуальной чувствительностью к уровню атмосферного давления, количество которых было больше при внутримышечном введении.

Список литературы

1. **Беляева О.А., Толстых П.И.** Постинъекционные инфильтраты и флегмоны. - Киев: 1986.
2. **Жуков Д.А.** Биологические основы поведения. Гуморальные механизмы. - СПб.: Издательство Р. Асланова «Юридический центр Пресс», 2004. 457 с.
3. **Наследов А.Д.** Математические методы психологического исследования. - СПб.: Речь, 2004. 392 с.
4. **Силянтьев А.Н.** Влияние метеорологических факторов на двигательную активность крыс в тесте открытого поля // Тез. XXX научной конференции студентов и молодых ученых Южного федерального округа. - Краснодар: Изд-во КГУФКТ, 2003. С. 174-175.
5. **Abel E.L.** Behavioral and physiological effects of different water depths in the forced swim test // *Physiology & Behavior*, 1994. V. 56. N. 2. P. 411-414.
6. **Baar K., Wende A.R., Jones T.E., Marison M., Nolte L.A., Chen M., Kelly D.P., Holloszy J.O.** Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1 // *The FASEB J.* 2002. V. 16. P. 1879-1886.
7. **Baker M.A., Horvarth S.M.** Influence of water temperature on oxygen uptake by swimming rats // *J. of applied physiology*. 1964. V. 19. N. 6. P. 1215-1218.
8. **Beaton J.R., Feleki V.** Effect of diet and water temperature on exhaustion time of swimming rats // *Canadian J. of physiology and pharmacology*. 1967. V. 45. P. 360.
9. **Benjamini Y., Hochberg Y.** Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing // *J. R. Statist. Soc. B.* 1995. V. 57. N. 1. P. 289-300.
10. **Davis S., Heal D.J., Stanford S.C.** Long-lasting effects of an acute stress on the neurochemistry and function of 5-hydroxytryptaminergic neurons in the mouse brain // *Psychopharmacology*, 1995; 118: 267-272.
11. **Dawson C.A., Horvath S.M.** Swimming in small laboratory animals // *Medicine and Science in Sports*. 1970. V. 2. N. 2. P. 51-78.
12. **Fisher J.P., Seifert T., Hartwich D., Young C.N., Secher N.H., Fadel P.** Autonomic control of heart rate by metabolically sensitive skeletal muscle afferents in humans // *J. physiol.* 2010. V. 588. N. 7. P. 1117-1127.
13. **Grim M., Rerabkova L., Carlson B.M.** A test for muscle lesions and their regeneration following intramuscular drug application // *Toxicologic pathology*. 1988. V. 16. N. 4. P. 432-442.
14. **Guerreiro L.F., Pereira A.A., Martins C.N., Wally C., Goncalves C.A.N.** Swimming physical training in rats: cardiovascular adaptation to exercise training protocols at different intensities // *J. of exercise physiology*. 2015. V. 18. N. 1. P. 1-12.
15. **Hohl R., Buscariolli R.O., Ferraresso R.L.P., Brenzikofer R., Macedo D.V.** Effect of body weight variation on swimming exercise workload in rats with constant and size-adjusted loads // *Scand. J. lab. anim. sci.* 2011. V. 38. N.3.

16. *Macefield V.G., Henderson L.A.* Autonomic responses to exercise: cortical and subcortical responses during post-exercise ischaemia and muscle pain // *Autonomic neuroscience: basic and clinical*. 2014. V. 188. P. 10-18.
17. *Meijer M.K., Spruijt B.M., Zutphen L.F.M., Baumans V.* Effect of restraint and injection methods on heart rate and body temperature in mice // *Laboratory animals*. 2006. N. 40. P. 382-391.
18. *Metzger M.M., Riccio D.C.* Adaptation to exercise in the rat: lack of associative control // *Psychobiology*. 1996. V. 24. N. 1. P. 85-90.
19. *Okva K., Tamoseviciute E., Ciziute A., Pokk P., Ruksenas O., Nevalainen T.* Refinements for intragastric gavage in rats // *Scand. J. lab. anim. sci.* 2006. V. 33. N. 4. P. 243-252.
20. *Osorio R.A.L., Silveira V.L.F., Maldjian S., Morales A., Christofani J.S., Russo A.K., Silva A.C., Picarro I.C.* Swimming of pregnant rats at different water temperatures // *Comparative biochemistry and physiology*. 2003. N. 135. Part A. P. 605-611.
21. *Porsolt R.D., Anton G., Blavet N., Jalfre M.* Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments // *Eur. J. of pharmacology*. 1978. V. 47. P. 379-391.
22. *Rosa M.J.A., Pai V.D., Neto H.B., Nouailhetas R.A., Nouailhetas V.L.A.* Effect of swimming training on the rectus abdominis muscle of rats: morphological and histochemical aspects // *Int. J. Morphol.* 2007. V. 25. N. 3. P. 631-638.
23. *Turner P.V., Brabb T., Pekow C., Vasbinder M.A.* Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider // *J. of the Am. Assoc. for lab. animal sci.* 2011. V. 50. N. 5. P. 600-613.
24. *Voltarelli F.A., Gobatto C.A., de Mello M.A.R.* Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test // *Braz. J. med. biol. res.* 2002. V. 35. N. 11. P. 1389-1394.
25. *Voltarelli F.A., Gobatto C.A., de Mello M.A.R.* Minimum blood lactate and muscle protein of rats during swimming exercise // *Biol. sport*. 2008. V. 25. N. 1. P. 23-34.

The rat work capacity in forced swimming test with load and causes it variability

M.S. Zaytseva, D.G. Ivanov, N.V. Alexandrovskaya

The drug administration rout, body mass and atmospheric pressure effects on the rat work capacity in forced swimming test with 10% from body mass load were investigated. The rat work capacity was tested at the 1, 8, 15 and 22-nd days of intragastral or intramuscular distilled water administration. At the 8, 15 and 22-nd experimental days the rat swimming time was increased in comparison with 1-st day test results. At the 15-th day work capacity in rat group with intragastral rout was greater than in the group with intramuscular injection. The rat swimming time had inverted correlation with body mass and relative epididymidal fat mass. Atmospheric pressure had no effect on the mean swimming time in rats groups, but rats with individual sensibility to atmospheric pressure was detected. The individual sensibility of rat to atmospheric pressure was greater in rat group with intramuscular injection than in group with intragastral administration rout.

Key words: work capacity, forced swimming with load, rat.