

Пептидная регуляция системного поведения крыс

Ю.В. Фокин

Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская область

Контактная информация: Фокин Юрий Владимирович fokin-yuri@yandex.ru

Пептиды и низкомолекулярные белки природного происхождения влияют на системное поведение крыс. В течение эксперимента неподвижность планомерно уменьшается по сравнению с контролем, но возрастает «по отношению к себе». Несколько снижается длительность умыwania на 7-й и 21-й день. Горизонтальная активность остаётся практически неизменной. Наблюдаемые эффекты (снижение длительности «замирания»), видимо, связаны с антитревожным действием препаратов, что подтвердило исследование ультразвуковой вокализации крыс на фоне введения тех же фармакологических средств.

Ключевые слова: низкомолекулярные природные белки и пептиды; системное поведение крыс; неподвижность (иммобилизация), горизонтальная активность (локомоции), вертикальная активность (стойки), умыwanie (груминг); анксиолитическое, антифобическое и седативное действие; корреляция с УЗВ.

В наших предыдущих работах мы оценивали поведение различных линий и популяций крыс [1], а также при действии фармакологических средств, изменяющих функции основных нейромедиаторных систем мозга [3]. Недавно нами также была исследована ещё одна не менее важная группа веществ — нейропептиды, которые обнаружили влияние на ультразвуковую вокализацию крыс [6]. Но в изучении механизмов действия фармакологических веществ необходимым компонентом является оценка их влияния на характеристики поведения животных.

Как правило, ориентировочно-исследовательская реакция крыс оценивается в тесте «Открытое поле», по горизонтальной и вертикальной двигательной активности, времени реакции обнюхивания. Эмоциональный статус животного оценивают по числу болюсов, уринаций, груминговой активности, времени выхода из центра и времени замирания [2]. Все эти показатели изменяются при введении в организм различных фармакологиче-

ских препаратов, а также при действии физических и социальных факторов [5, 6]. Следовательно, исключением не должны быть и низкомолекулярные белки природного происхождения, являющиеся объектом внимания нашей нынешней работы.

Цель исследования — изучить системное поведение крыс на фоне действия пептидов и низкомолекулярных белков природного происхождения и проанализировать их влияние на психоэмоциональное состояние животных.

Материалы и методы

Эксперимент проводился в НЦБМТ РАМН. Тестировались самки крыс линии WAG/GY в возрасте 3 мес., по 9 особей в каждой группе.

Регулирующие стандарты. Исследования выполнялись согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (Федеральный закон от 12.04.2010 N 61-ФЗ «Об обращении

лекарственных средств», Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 267 от 19.06.2003), в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123), Strasbourg, 1986), согласно утвержденному письменному протоколу, в соответствии со Стандартными операционными процедурами исследователя (СОП), санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев), а также с Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях [4]. Протокол эксперимента был разработан при участии и одобрении биоэтической комиссии НЦБМТ РАМН.

Дизайн и организация исследования направлены на исследование поведенческих форм животных и выявление их взаимосвязи с психоэмоциональным состоянием. Количество объектов, принимающих участие в исследовании, достаточно для полной регистрации изучаемого эффекта.

Крыс содержали в микроизоляторной системе Rair IsoSystem по 5 особей. Животные соответствовали категории SPF. В качестве подстила использовали стерильные древесные опилки. В качестве корма — стандартный комбикорм гранулированный полнорационный для лабораторных животных (экструдированный) ПК-120 ГОСТ Р 51849-2001 Р.5. Водопроводная очищенная вода всем животным давалась вволю в стандартных поилках. Животные содержались в контролируемых условиях окружающей

среды: температура воздуха 18–22°C и относительная влажность 60–70%. Освещение в помещениях — естественно-искусственное. Вновь прибывшие животные находились на карантине 7 дней в клетках.

Исследуемые вещества — препараты пептидного происхождения и низкомолекулярные белки, полученные из мозга крупных сельскохозяйственных животных и свиней, под кодовыми названиями «К», «М» и «Р» (молекулярная масса — не выше 50 кД), использовавшиеся отдельно и в комплексе с препаратом «G» (молекулярная масса — до 5 кД). Введение всех препаратов осуществлялось инъекционно, внутривентрикулярно, ежедневно, в течение 21 суток. Контрольной группе животных в аналогичном режиме вводился физ. раствор.

Регистрация поведенческих компонентов происходила с применением компьютерной системы Laboras (Metris B.V., Нидерланды), которая позволяла вычислять длительность таких форм поведения как локомоции (горизонтальная активность), неподвижность (иммобилизация), стойки (вертикальная активность), умывание (груминг). Кроме того, оценивалось время так называемых нераспознанных системой Laboras движений. Эпоха анализа составляла 30 мин. За каждый временной промежуток (через 7, 14 и 21 день введения препаратов) по каждому животному определяли процент каждой формы поведения. Полученные данные группировали в зависимости от тестируемого препарата, временного промежутка и формы поведения. Статистическую обработку проводили с помощью пакета программ MATLAB путём вычисления медиан по всем животным, после чего строили гистограммы распределения форм поведения для каждого временного промежутка. Оценку

достоверности проводили с помощью указанных на гистограммах верхних и нижних границ доверительных интервалов, в качестве которых использовали значения 25-й и 75-й перцентилей соответственно.

Результаты и их обсуждение

Оценка элементарных форм поведения контрольной группы животных (рис. 1) показала снижение вертикальной активности (вставания на задние лапы) и возрастание времени неподвижности в период исследования. Уровень горизонтальной активности практически не менялся в течение эксперимента, а длительность умыывания, снизившись к 14-му дню, снова повысилась к 21-му, почти до показателя 7-го дня с момента начала введения препаратов.

Исследование поведения опытных групп животных на 7-й день введения

(рис. 2) выявило следующие результаты:

1) показатели длительности иммобилизации, в среднем, оказались ниже, чем в контроле, и составили около 10% (наибольшее значение зафиксировано на препарате «Р»);

2) показатели вертикальной активности — аналогичны контролю (~23%);

3) длительность умыывания — чуть ниже, чем в контроле (около 26 и 29% соответственно), но данной разницей можно пренебречь;

4) показатели горизонтальной активности соответствуют таковым в контроле (3–5%).

Результаты оценки поведения на фоне 14-ти дней введения препаратов представлены на рис. 3:

1) показатели длительности иммобилизации, в среднем, оказались ниже, чем

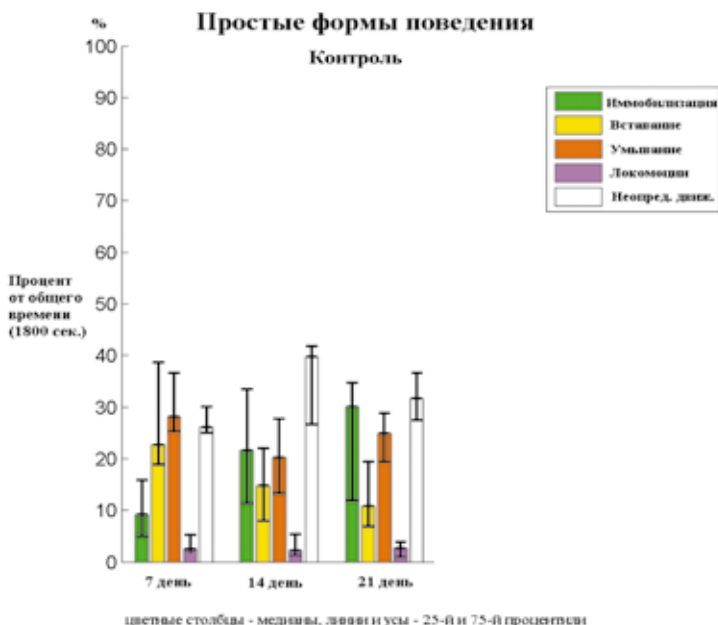


Рис. 1. Оценка системного поведения контрольной группы за весь период исследования. По оси абсцисс – временные интервалы исследования, внутри каждого – простые формы поведения: зелёный цвет – неподвижность, жёлтый – вертикальная активность, оранжевый – умыывание, розовый – горизонтальная активность, белый – нераспознанные движения. По оси ординат – процент представленности каждой формы поведения за временной промежуток (900 сек.). Усы указывают на верхнюю и нижнюю границы доверительных интервалов (25-ый и 75-ый перцентили).

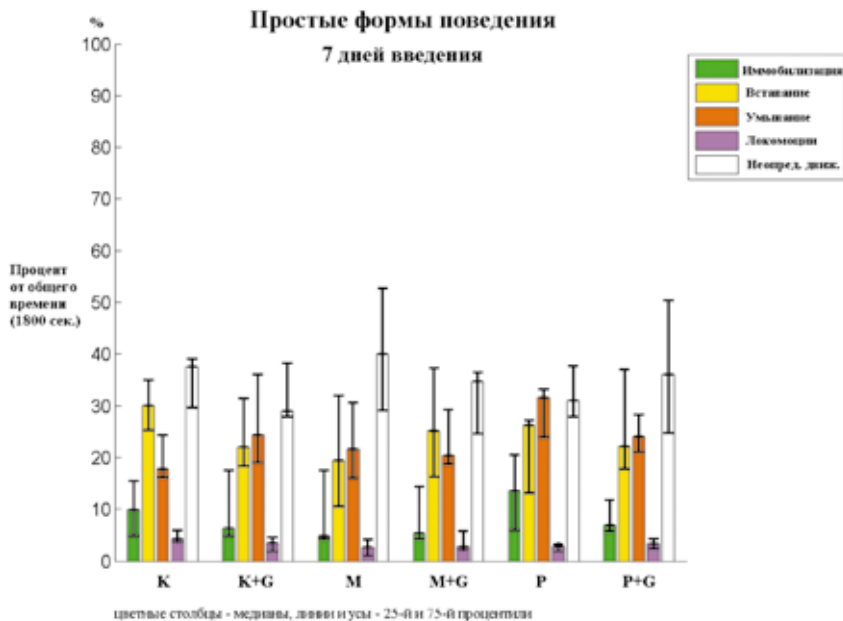


Рис. 2. Оценка системного поведения опытных групп на 7-й день исследования. По оси абсцисс – опытные группы, внутри каждой – простые формы поведения. Цвета и проч. обозначения – как на рис. 1.

в контроле (~16% по сравнению с ~23%), но повысились по сравнению с 7-м днём;

2) показатели вертикальной активности — выше, чем в контроле (~20% и ~16% соответственно), но чуть ниже, чем на 7-й день исследования;

3) длительность умывания — соответствует контрольным показателям (22–23%), но немного снижена по сравнению с 7-м днём;

4) горизонтальная активность — аналогична контролю и 7-му дню эксперимента.

Данные заключительного исследования системного поведения (на 21-й день введения) отражены на рис. 4:

1) показатели длительности иммобилизации — несколько меньше, в среднем, чем в контроле (~27% и ~32% соответственно), но существенно выше, чем на 7-й и 14-й дни;

2) вертикальная активность — анало-

гична контролю (13–14%), но несколько ниже, чем на 7-й и 14-й дни;

3) длительность умывания — значительно меньше, чем в контроле (~18% и ~27% соответственно), самый низкий показатель — в группе «Р»;

4) горизонтальная активность — приблизительно соответствует аналогичным значениям контрольной группы, 7-му и 14-му дням эксперимента.

Выводы

1. Пептиды и низкомолекулярные белки природного происхождения оказывают влияние на системное поведение животных.

2. В течение эксперимента происходит планомерное снижение длительности неподвижности (иммобилизации) по сравнению с контролем и возрастание данного показателя на каждом следующем этапе исследования по отношению к каждому

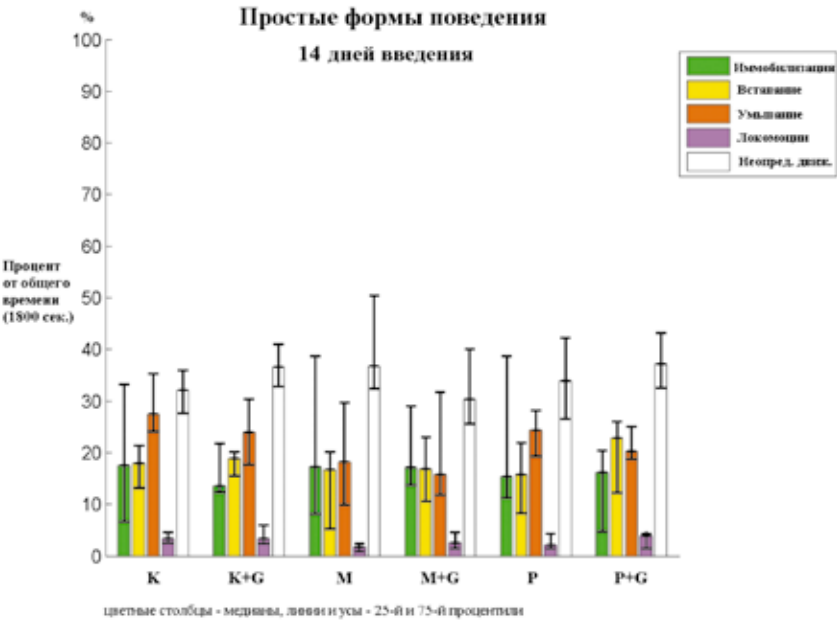


Рис. 3. Оценка системного поведения опытных групп на 14-й день исследования. Все обозначения – как на рис. 2.

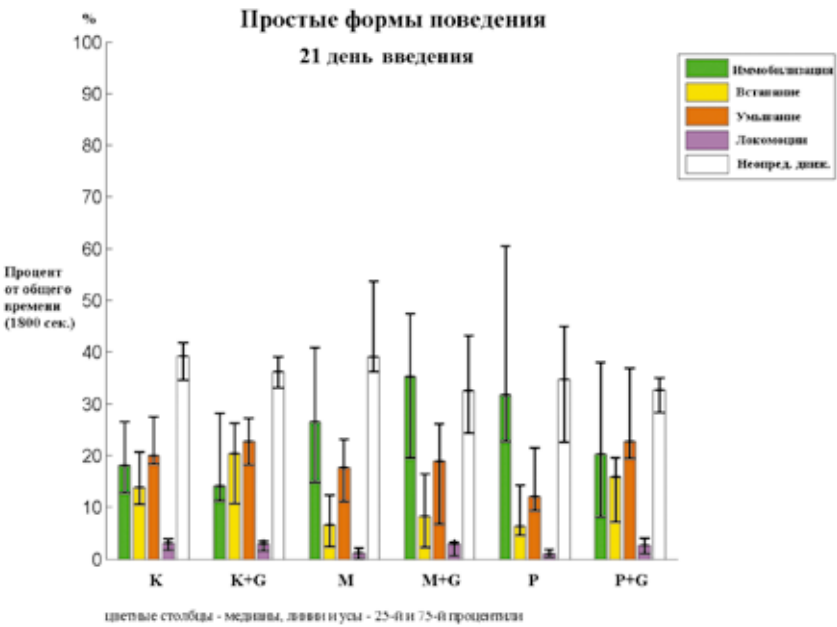


Рис. 4. Оценка системного поведения опытных групп на 21-й день исследования. Все обозначения – как на рис. 2.

предыдущему. Несколько снижается длительность умыывания на 7-й и 21-й день. Длительность горизонтальной активности (локомоций) остаётся неизменной на всём протяжении эксперимента.

3. Уменьшение иммобилизации (можно сказать — «замирания») крыс в течение эксперимента, вероятно, связано с антитревожным эффектом тестируемых фарм. средств, и данный результат согласуется с ранее проведённым исследованием УЗВ при действии тех же препаратов.

4. На фоне введения исследуемых веществ отмечено увеличение двигательной активности, что может трактоваться как результат повышения работоспособности и выносливости организма. Таким образом, данные препараты могут быть рекомендованы в качестве средств стимулирующего действия при работе в экстремальных ситуациях и в условиях высокой физической нагрузки.

Список литературы

1. **Беляев Д.А., Пекелис М.М., Фокин Ю.В., Казакова Л.Х.** Анализ некоторых физиологических и этологических характеристик бесшёрстных крыс как новая модель биомедицин-
- ских исследований // Биомедицина. 2012. № 1. С. 29–36.
2. **Буреш Ян, Бурешова О., Хьюстон Дж.** Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Наука. 1991. 250 с.
3. **Каркищенко Н.Н., Фокин Ю.В., Каркищенко В.Н., Сахаров Д.С., Алимкина О.В.** Роль нейромедиаторных систем мозга в генерации ультразвуковой вокализации и её корреляции с поведением животных // Биомедицина. 2011. № 4. С. 8–18.
4. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. **Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева.** М.: Профиль-2С. 2010. 358 с.
5. **Каркищенко Н.Н.** Фармакология процессов адаптации и переносимости предельных нагрузок в спорте и режимах работы «до отказа»: второй тайм для дженериков // Биомедицина. 2010. № 4. С. 6–23.
6. **Подковкин В.Г., Иванов Д.Г.** Влияние краткосрочной изоляции на поведение крыс в тесте «Открытое поле» // Успехи современного естествознания. 2009. № 6. С. 12–16.

Peptide regulation of rats system behaviour

Yu.V. Fokin

Peptides and low-molecular proteins of a natural origin influence system behaviour of rats. During experiment the immobility systematically decreases in comparison with control, but increases «in relation to itself». Duration of grooming for the 7th and 21st day a little decreases. Horizontal activity (locomotion) remains almost invariable. Observable effects (decrease in duration of «dying down») are probably connected with anxiolitical action of preparations that confirmed research of ultrasonic vocalization of rats against introduction of the same pharmacological means.

Key words: low-molecular natural proteins and peptides; system behaviour of rats; immobility, locomotion, rearing, grooming; anxiolitical, antiphobical and sedative effects; correlation with USV.