

ВИВЧЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ ПОВЕДІНКОВИХ РЕАКЦІЙ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ІНСУЛЬТУ ТА ТРИВОЖНО-ДЕПРЕСИВНИХ РОЗЛАДІВ

Слободян Ж.Г. <https://orcid.org/0009-0000-1608-3216>

Савицький І.В. <https://orcid.org/0000-0002-5841-9993>

ПЗВО «Міжнародна академія екології та медицини», Київ, Україна

prof_s.i.v@ukr.net

Актуальність. За оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я на 2021 рік у 615 млн. осіб (близько 10 % населення світу) виявлено симптоми депресивних або тривожних розладів. Серед основних причин смертності населення перше місце продовжують посідати хвороби системи кровообігу, а прогнози вказують на збереження тенденції до зростання. Тому вивчення розвитку тривожно-депресивних розладів на тлі ішемічного інсульту є актуальним.

Ціль: дослідити особливості ТДР на тлі експериментального ішемічного інсульту у щурів.

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження проведено на 30 нелінійних лабораторних щурах, які були розподілені на 3 групи: 1 група – інтактний контроль, 2 група – тварини групи зі змодельованим ішемічним інсультом; 3 група – щури зі змодельованим ішемічним інсультом та тривожно-депресивними розладами. Відтворення ішемічного інсульту у щурів проводили за допомогою моделі ендovasкулярної оклюзії середньої мозкової артерії (фокальна ішемія) за E. Z. Longa. Для поглибленого вивчення патофізіологічних ланок тривожно-депресивних розладів було обрано модель резерпін-індукованої депресії у щурів.

Для оцінки експериментальних поведінкових моделей депресії на лабораторних щурах були використані тести – «відкрите поле» та «піднесений хрестоподібний лабіринт».

Результати. Результати тесту «відкрите поле» показали, що як за умов експериментального ішемічного інсульту, так і при коморбідній патології у щурів достовірно знижуються показники локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності експериментальних тварин, при цьому достовірно не впливаючи на показники вегетативного супроводу емоційних реакцій. Одержані дані тесту «піднесений хрестоподібний лабіринт» підтверджувалися вірогідним збільшення часу перебування щурів в темних рукавах лабіринту (маркер посилення тривожності) та зниженням часу перебування в освітлених ділянках. Зокрема, у групі тварин зі змодельованим ішемічним інсультом латентний період входу до темної камери зростав ($p < 0,05$), як і у щурів із коморбідною патологією ($p < 0,05$) порівняно із інтактною групою.

Відмічалось вірогідне зниження як часу перебування в освітлених рукавах, так і кількості відвідувань освітлених рукавів у обох експериментальних групах тварин.

Висновки. За умов ішемічного інсульту відмічали значні зміни психофізіологічних тестів, однак у тварин зі змодельованою коморбідною патологією спостерігалися більш виражені зміни всіх показників, що свідчило про посилення тривожності та змін емоційного статусу. Одержані результати потребують більшого поглибленого вивчення патофізіологічних механізмів депресивно-тривожних розладів на тлі цереброваскулярних змін.

Ключові слова: ішемічний інсульт, тривожно-депресивні розлади, патогенез.

Актуальність. XXI століття – час стресів і перевантажень, переважно психічних. За даними епідеміологічних досліджень Національного інституту психічного здоров'я, поширення психічних розладів в популяції становить 32,7 %, серед яких депресії складають 6 %, тривожні розлади – 8,3 %. За оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я на 2021 рік у 615 млн.

осіб (близько 10 % населення світу) виявлено симптоми депресивних або тривожних розладів [1]. Серед основних причин смертності населення перше місце продовжують посідати хвороби системи кровообігу, а прогнози вказують на збереження тенденції до зростання. Актуальність проблеми мозкового інсульту обумовлена частотою захворювання, тяжкими його наслідками та

недостатньою ефективністю лікування. Інсульт обумовлює 5,7 млн. смертей в усьому світі, і як причина смерті поступається лише ішемічній хворобі серця. Експерти вважають, що до 2025 року кількість хворих на інсульт зросте на 1/3, з яких більшість особи працездатного віку [2].

Встановлено, що інсульт є чинником розвитку депресії у літньому віці, однак існує і зворотній зв'язок: депресія підвищує ризик виникнення транзиторних ішемічних атак та інсульту, і ця кореляція залежить від численних факторів [3]. Тому встановлення особливостей розвитку тривожно-депресивних розладів (ТДР) на тлі ішемічного інсульту є актуальним та доцільним.

Ціль: дослідити особливості ТДР на тлі експериментального ішемічного інсульту у щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експериментальні дослідження проведено на 30 нелінійних лабораторних щурах, які були розподілені на 3 групи: 1 група – інтактний контроль (тварини отримували воду дистильовану), 2 група – тварини групи зі змодельованим ішемічним інсультом; 3 група – щури зі змодельованим ішемічним інсультом та ТДР.

Відтворення ішемічного інсульту у щурів проводили за допомогою моделі ендovasкулярної оклюзії середньої мозкової артерії (фокальна ішемія) за E. Z. Longa. Попередньо щурам проводили анестезію, операційне поле обробляли розчином хлоргексидину 0,05 %. Після цього виконували розріз в області шиї, із правого боку виділяли загальну сонну артерію, зовнішню сонну артерію та внутрішню сонну артерію. Загальну сонну артерію пережимали судинною кліпсою, на зовнішню сонну артерію накладали лігатуру із вікрилу № 3. Внутрішню сонну артерію перерізували ножицями на відстані 3-5 мм від біфуркації. Нейлонову нитку діаметром 0,25 мм, покриту силіконом та оброблену розчином гепарину, вводили через відрізок внутрішньої сонної артерії в зовнішню сонну артерію на глибину 19-21 мм та фіксували судинною кліпсою. Кровоток перекривали на 60 хв, після чого нитку видаляли. Після цього внутрішню сонну артерію закривали коагуля-

цією до повної герметичності та в подальшому знімали судинні кліпси. Наприкінці операції розріз ушивали вікрилом № 4 та обробляли 5 % розчином брильянтового зеленого. Після операції виконували безперервну термометрію із підтримкою температури на рівні фізіологічної норми за допомогою інфрачервоних ламп. Під час операції температуру тіла підтримували за допомогою грілки. Середня тривалість проведення операції складала 7-10 хв [4, 5, 7].

Для поглибленого вивчення патофізіологічних ланок ТДР було обрано модель резерпін-індукованої депресії у щурів. Резерпін вводили щурам внутрішньоочеревинно у вигляді суспензії, стабілізованої твіном-80, дозою 4 мг/кг [4, 6]. Визначали вихідні показники ректальної температури. Через 4 год після ін'єкції резерпіну повторно визначали ректальну температуру.

Для оцінки експериментальних поведінкових моделей депресії на лабораторних щурах були використані наступні тести [4].

Тест «Відкрите поле». Прилад для тесту відкрите поле представляє собою білу квадратну платформу на ніжках розмірами: 60×60 см (довжина×ширина), борти висотою 30 см. Підлога платформи розділена на 16 однакових квадратів (15×15 см) із отворами діаметром 4 см у центрі кожного квадрата. Впродовж 3 хв спостереження реєстрували наступні параметри поведінки тварин: кількість перетнутих квадратів, обстежених отворів, вертикальних стійок, активів гримінгу, фекальних болюсів, уринацій [4, 7].

Тест «Піднесений хрестоподібний лабіринт» використовували з метою вивчення тривожності у щурів. Прилад складається з двох відкритих скляних «рукавів» розміром 50×10 см (довжина×ширина) та двох розміщених навхрест непрозорих закритих «рукавів» розміром 50×10×10 см (довжина×ширина×висота), які зверху накриваються непрозорими панелями. Прилад розміщували на висоті 75 см над підлогою. Центральний майданчик та прозорі відсіки освітлювали зверху лампою потужністю 60 Вт. Тварин перед дослідженням витримували в затемненому місці протягом 5 хв, надалі розміщували в центрі лабіринту («зона прийняття рішення»), головою до одного з відкритих рукавів.

Протягом 5 хв реєстрували латентний час входу до темного рукава, кількість відвідувань темних та світлих рукавів, центрального майданчика, кількість фекальних болюсів та уринацій. За індивідуальним протоколом дослідження тварини розраховували загальний час перебування в освітлених та затемнених частинах лабіринту протягом 5 хв, кількість переходів між рукавами, час перебування в «зоні прийняття рішення» [4, 7].

Робота з тваринами проводилася відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджується з положенням «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 1986 р.), Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження», Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012 р. «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах», Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 440-IX від 14.01.2020 р. [8].

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою програми «Statistica 10.0». Вірогідність відмінностей між показниками контрольної та дослідних груп визначали за критеріями Стюдента та Фішера. Рівень достовірності приймали при $p < 0,05$ [9].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На початку етапі було проведено вивчення змін ректальної температури у щурів на тлі резерпін-індукованої депресії (табл. 1).

Встановлено, що у тварин зі змодельованим ішемічним інсультом відмічалися вірогідні відмінності максимальної температури та ступінь її зниження. Аналогічні зміни ректальної температури, але більш вираженого характеру (однак вірогідно не відрізнялися від групи зі змодельованим ішемічним інсультом) було виявлено у тварин зі змодельованою коморбідною патологією.

Також нами проведено оцінку блефароптозу за ранжовою шкалою від 1 до 4 балів: 0 – відсутність опущення повік; 1 – опущення повік на 25%; 2 – опущення повік на 50 %; 3 – опущення повік понад 75 %; 4 – повністю закриті око (рис. 1).

Встановлено, що у щурів зі змодельованим ішемічним інсультом мав тенденцію розвиток блефароптозу, який підтверджувався вірогідним зниженням одержаних балів порівняно із інтактною групою тварин. У щурів, яким відтворювали коморбідну патологію розвивався характерний блефароптоз, який за ранжовою шкалою вірогідно відрізнявся від аналогічного показника групи інтактного контролю.

Дослідницька активність лабораторних тварин викликана потребою в отриманні нової

Таблиця 1

Динаміка змін ректальної температури у щурів на тлі резерпін-індукованої депресії

Експериментальні групи	Ректальна температура, °C		
	Вихідна	Максимальна зміна	Ступінь зниження
Інтактний контроль (n=10)	37,12±0,03	36,64±0,12	0,48±0,02
Ішемічний інсульт (n=10)	37,10±0,04	38,3±0,4*	-1,2±0,43*
Ішемічний інсульт+ ТДР (n=10)	37,08±0,04	38,6±0,6*	-1,52±0,2*

Примітки:

1. n – кількість експериментальних тварин в кожній групі;
2. * – $p < 0,05$ порівняно із інтактними тваринами.

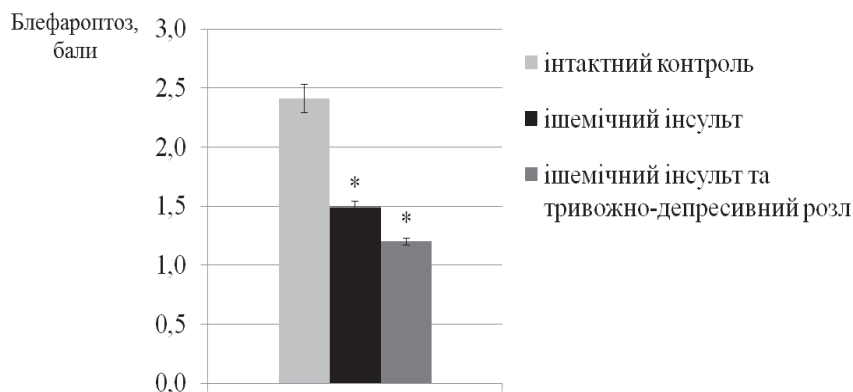


Рис. 1. Блефароптоз у експериментальних щурів на тлі резерпін-індукованої депресії (n=10)

Примітка:

* – $p < 0,05$ порівняно з групою інтактного контролю;
n = 10 (кількість експериментальних тварин в кожній групі)

інформації і є самостійним і вираженим бажанням багатьох видів тварин, у тому числі і гризунів. Однак, інстинкт самозбереження викликає почуття тривоги, оскільки відкритий і освітлений простір викликає у тварини почуття потенційної небезпеки.

При дослідженні емоційно-поведінкових реакцій у тесті «відкрите поле» встановлено, що у тварин інтактної групи (введення води та емульгатора твін-80) вірогідно не впливало

на психофізіологічні показники (час латентного періоду першого переміщення, кількість виходів до центру), вірогідно не змінювало дослідницьку поведінку тварин, тобто кількість перетнутих квадратів і вертикальних вставань на задні лапки та вегетативні реакції (кількість актів грумінгу і кількість болюсів) (табл. 2).

Стосовно показника кількість обстежених отворів одержано наступні результати: у тварин зі змодельованим ішемічним інсультом да-

Таблиця 2

Вивчення показників тесту «відкритого поля» у експериментальних тварин із ішемічним інсультом та тривожно-депресивними розладами

Показник	Експериментальні групи тварин		
	Інтактний контроль (n=10)	Ішемічний інсульт (n=10)	Ішемічний інсульт+ТДР (n=10)
Кількість перетнутих квадратів	26,1±5,1	5,6±0,9*	3,2±0,6*/**
Кількість обстежених отворів	8,4±1,3	1,7±0,5*	1,3±0,4*/**
Кількість вертикальних стійок	11,2±2,0	2,1±0,3*	1,5±0,2*/**
Сума показників орієнтовно-дослідницької діяльності	19,6±2,6	3,8±0,8*	2,8±0,5*/**
Кількість актів грумінгу	2,3±0,4	1,2±0,6*	0,8±0,1*/**
Кількість дефекацій (болюси)	0,6±0,3	1,8±0,7*	2,4±0,7*/**
Кількість уринацій	1,0±0,2	0,2±0,05*	0,1±0,04*
Сума показників емоційних реакцій	1,6±0,5	2,0±0,75*	2,5±0,74*/**

Примітки:

1. n – кількість експериментальних тварин в кожній групі;
2. * – $p < 0,05$ порівняно із інтактними тваринами;
3. ** – $p < 0,05$ відносно групи тварин зі змодельованим ішемічним інсультом.

ний показник вірогідно знижувався в 4,9 рази ($p < 0,05$) порівняно із інтактними тваринами, в той час як у групі тварин із коморбідною патологією відмічалася аналогічне вірогідне зниження 6,5 разів ($p < 0,05$).

У тварин зі змодельованим ішемічним інсультом та ТДР встановлено вірогідне зниження показника кількості обстежених отворів у тесті «відкрите поле» порівняно із групою тварин зі змодельованим ішемічним інсультом.

Також нами одержано вірогідні відмінності показників кількості вертикальних стійок та активів грумінгу у всіх експериментальних групах тварин. Зокрема, відмічалася вірогідне зниження кількості вертикальних стійок в 5,3 рази ($p < 0,05$) у групі тварин зі змодельованим ішемічним інсультом та в 7,5 разів ($p < 0,05$) порівняно із інтактними тваринами. Кількість активів грумінгу також вірогідно знижувалася в 1,9 рази ($p < 0,05$) та 2,9 рази ($p < 0,05$) відповідно.

У групах тварин із змодельованим ішемічним інсультом та коморбідною патологією відмічалася вірогідне підвищення кількості активів дефекації та зниження кількості уринацій.

Відомо, що за рухову та дослідницьку активність відповідають гіпокамп, кора, ретикулярна формація та їх зв'язки між собою. Деякі дослідники говорять про зниження рухової активності на фоні одночасного підвищення дослідницької активності. Аналіз одержаних результатів свідчить про зниження як рухової, так і дослідницької активності з віком у щурів.

При вивченні показників тесту «піднесений хрестоподібний лабіринт» у експериментальних тварин зі змодельованим ішемічним інсультом реєстрували посилення тривожної поведінки (табл. 3).

Встановлено, що введення води та емульгатора (твін-80) інтактній групі тварин вірогідно не впливало на емоційно-поведінкові реакції. У даній групі кількість виходів у освітлений рукав, зазирань та перебування в ньому переважала над аналогічними показниками в темних рукавах.

Одержані дані підтверджувалися вірогідним збільшення часу перебування щурів в темних рукавах лабіринту (маркер посилення тривожності) та зниженням часу перебування в освітлених ділянках.

Таблиця 3

Вивчення показників тесту «піднесений хрестоподібний лабіринт» у експериментальних тварин із ішемічним інсультом та тривожно-депресивними розладами

Показник	Експериментальні групи тварин		
	Інтактний контроль (n=10)	Ішемічний інсульт (n=10)	Ішемічний інсульт+ТДР (n=10)
Латентний період входу до темної камери, с	58,6±23,8	70,9±30,8*	72,5±29,6*/**
Час перебування в темних рукавах, с	141,7±24,2	172,8±26,4*	181,2±30,3*/**
Час перебування в освітлених рукавах, с	159,4±25,6	122,3±16,4*	117,8±12,7*/**
Кількість відвідувань темних рукавів	6,3±1,7	8,3±2,1*	9,0±2,2*/**
Кількість відвідувань освітлених рукавів	5,7±1,6	5,2±1,1*	4,8±0,8*/**

Примітки:

1. n – кількість експериментальних тварин в кожній групі;
2. * – $p < 0,05$ порівняно із інтактними тваринами;
3. ** – $p < 0,05$ відносно групи тварин зі змодельованим ішемічним інсультом.

Зокрема, у групі тварин зі змодельованим ішемічним інсультом латентний період входу до темної камери зростав в 1,2 рази ($p < 0,05$), як і у щурів із коморбідною патологією ($p < 0,05$) порівняно із інтактною групою. Час перебування в темних рукавах у експериментальній групі тварин із ішемічним інсультом також вірогідно підвищувався в 1,2 рази ($p < 0,05$), а у щурів із коморбідною патологією – в 1,3 рази ($p < 0,05$) відносно інтактних тварин.

Відмічалось вірогідне зниження як часу перебування в освітлених рукавах, так і кількості відвідувань освітлених рукавів у обох експериментальних групах тварин.

ВИСНОВКИ

1. За умов ішемічного інсульту відмічали значні зміни психофізіологічних тестів «відкритого поля» та «піднесений хрестоподібний лабіринт» – знижувалися показники локомоторної та орієнтовно-дослідницької активності, при цьому не змінювалися показники вегетативного супроводу емоційних реакцій.
2. У тварин зі змодельованою коморбідною патологією відмічалися більш виражені зміни всіх показників психофізіологічних тестів, що свідчило про посилення тривожності та змін емоційного статусу.
3. Одержані результати потребують більшого поглибленого та детального вивчення патофізіологічних механізмів депресивно-тривожних розладів на тлі цереброваскулярних змін.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES

1. Muratova T, Khramtsov D, Stoyanov A, Vorokhta Y. Clinical epidemiology of ischemic stroke: global trends and regional differences. Georgian Med News. 2020;(299):83-86.

2. Chun HY, Whiteley WN, Dennis MS, Mead GE, Carson AJ. Anxiety After Stroke: The Importance of Subtyping. Stroke. Epub 2018;49(3):556-564. DOI: 10.1161/STROKEAHA.117.020078.
3. Göthe F, Enache D, Wahlund LO, Winblad B, Crisby M, Lökk J, Aarsland D. Cerebrovascular diseases and depression: epidemiology, mechanisms and treatment. Panminerva Med. 2012;54(3):161-70.
4. Doclinical investigation of medicines: metod. reccom. / by redaction of member-cor. National Academy of Sciences of Ukraine, Acad. O. V. Stefanov. K.: Avicenna, 2001. 528 p.
5. Taha A, Bobi J, Dammers R, Dijkhuizen RM, Dreyer AY, van Es ACGM, Ferrara F, Gounis MJ, Nitzsche B, Platt S, Stoffel MH, Volovici V, Del Zoppo GJ, Duncker DJ, Dippel DWJ, Boltze J, van Beusekom HMM. Comparison of Large Animal Models for Acute Ischemic Stroke: Which Model to Use? Stroke. Epub. 2022;53(4):1411-1422. DOI: 10.1161/STROKEAHA.121.036050.
6. Kneebone II, Neffgen LM, Pettyfer SL. Screening for depression and anxiety after stroke: developing protocols for use in the community. Disabil Rehabil. Epub 2012;34(13):1114-20. DOI: 10.3109/09638288.2011.636137.
7. Macrae IM. Preclinical stroke research--advantages and disadvantages of the most common rodent models of focal ischaemia. Br J Pharmacol. 2011;164(4):1062-78. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01398.x.
8. Reznikov O. G., Solovyov A. I., Stefanov O. V. Biotic examination of preclinical and other scientific studies performed on animals: method. recommendations Herald of pharmacology and pharmacy. 2006. Vol. 7. P. 47–61.
9. Lapach S. N., Chubenko A. V., Babich P. N. Statistical methods in medical and biological investigations with using Exel. - K.: MORION, 2000. 320 p.

Article history:

Received: 27.02.2023

Revision requested: 01.03.2023

Revision received: 13.03.2023

Accepted: 25.03.2023

Published: 30.03.2023

STUDY OF CHARACTERISTICS OF BEHAVIORAL REACTIONS OF RATS
UNDER THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL STROKE WITH
ANXIETY-DEPRESSIVE DISORDERS

Slobodyan Zh.H., Savytskyi I. V.

International Academy of Ecology and Medicine, Kyiv, Ukraine

prof_s.i.v@ukr.net

Background. According to the estimates of the World Health Organization for 2021, 615 million people (about 10% of the population of the world) showed symptoms of depressive or anxious disorders. Among the main causes of death in the population, the first half of the year continues to suffer from diseases of the circulatory system, and forecasts indicate a savings trend to an increase. Therefore, the development of anxiety-depressive disorders on aphids of ischemic stroke is relevant.

Aim: to investigate the specificity of TDR on aphids of experimental ischemic stroke in the eyes.

Materials and methods. Experimental studies were carried out on 30 non-linear laboratory tests, which were divided into 3 groups: group 1 - contact control, group 2 - animals of the group with simulated ischemic stroke; 3rd group - blindness with modeled ischemic stroke and anxiety-depressive disorders. The recovery of ischemic stroke in juveniles was performed using an additional model of endovascular occlusion of the middle cerebral artery (focal ischemia) by E. Z. Longa. A model of reserpine-induced depression in the eyes was selected for the morbidized morbidity of pathophysiological lanquences of anxiety-depressive disorders. To assess the experimental behavioral models of depression on laboratory tests, we used tests - "open the field" and "apply a cross-like labyrinth".

Results. Achievements in the test «chrest-like labyrinth» were confirmed by an increase in the hour of turning the eyes in the dark sleeves of the labyrinth (a marker of increased anxiety) and a decrease in the hour of the change in the lighted cottages. Zokrema, in a group of animals with a modeled ischemic stroke, the latent period of entry to the dark chamber of growth ($p<0.05$), as well as in the eyes with comorbid pathology ($p<0.05$) was compared with the intact group.

There was a decrease in the hour of perebuvannya in clarified sleeves, as well as the number of clarified sleeves in both experimental groups of creatures.

Conclusion. Significant changes in psychophysiological tests were noted for the minds of an ischemic stroke, however, in animals with a modeled comorbid pathology, there were more manifestations of changes in all indications, which indicated a strengthening of the anxiety of that change. Obtained results require the destruction of pathophysiological mechanisms of depressive-anxious disorders on aphids of cerebrovascular changes.

Key words: ischemic stroke, anxiety-depressive disorder, pathogenesis.