

## НАРУШЕНИЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ БЕЛЫХ КРЫС-САМЦОВ В УСЛОВИЯХ ИЗМЕНЕННОГО ФОТОПЕРИОДИЗМА

Антипова О.Н.<sup>1</sup>, Иванов А.Н.<sup>2</sup>, Злобина О.В.<sup>1</sup>, Суровцева К.А.<sup>1</sup>, Анкина В.Д.<sup>1</sup>, Бондарь Г.Д.<sup>1</sup>, Зенкина Т.М.<sup>1</sup>, Полюкова М.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, e-mail: surovcevak@gmail.com;

<sup>2</sup>НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Саратов

В рамках исследования был изучен характер нарушений поведенческой реактивности белых крыс-самцов в условиях измененного фотопериодизма. В качестве модели изменения светового режима использовалась световая депривация в течение 18 часов и темновая депривация в течение 6 часов (LD 18/6). Животные подвергались воздействию стрессора на 1-е, 10-е и 21-е сутки эксперимента. Для оценки динамики изменения показателей поведенческой реактивности крыс применялись тестовые установки «Темно-светлая камера» и «Открытое поле». Данные виды тест-моделей наиболее информативны для наблюдения за поведением экспериментальных животных, подверженных стрессу. В ходе анализа полученных результатов можно отметить, что у испытуемых животных с воздействием стрессора к 1-м суткам не наблюдалось выраженных изменений в поведенческой активности, на 10-е сутки все специфические показатели достигают максимальных значений, а на 21-е сутки наблюдается угнетение поведенческой реактивности животных. Это выражается снижением значений исследуемых показателей и повышением уровня тревожности. Следовательно, световой десинхроноз, возникающий в условиях нарушенного фотопериодизма, приводит к изменению поведенческих реакций белых крыс-самцов, которые при длительной интенсивной световой депривации носят необратимый характер.

Ключевые слова: световой десинхроноз, стресс, белые крысы-самцы, открытое поле, темно-светлая камера, поведенческие реакции

## DISORDERS OF BEHAVIORAL REACTIONS OF WHITE MALE RATS IN MODIFIED PHOTOPERIODISM

Antipova O.N.<sup>1</sup>, Ivanov A.N.<sup>2</sup>, Zlobina O.V.<sup>1</sup>, Surovtseva K.A.<sup>1</sup>, Ankina V.D.<sup>1</sup>, Bondar G.D.<sup>1</sup>, Zenkina T.M.<sup>1</sup>, Polyukova M.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky» of the Ministry of Healthcare of Russia, Saratov, e-mail: surovcevak@gmail.com;

<sup>2</sup>Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Saratov

The study examines the nature of the behavioral disorders of white male rats under modified photoperiodism. Light deprivation for 18 hours and dark deprivation for 6 hours were used as a model (LD 18/6). The animals were exposed to stress on the 1st, 10th and 21st days of the experiment. Test sets «Dark-light chamber» and «Open field» were used to assess the dynamics of changes in the indicators of behavioral reactivity of rats. These types of test models are most informative for monitoring the behavior of experimental animals that are exposed to stress. Describing the results it can be noted that the animals tested with stress by the 1st day have no marked changes in behavioral activity. On the 10th day the values of all specific indicators reach their maximum values, and on the 21st day there is oppression of behavioral reactivity of tested animals. This is expressed by a decrease in the values of the studied indicators and an increase in the level of anxiety. Therefore, light desynchronization, which occurs under the conditions of photoperiodism, leads to a change in the behavioral reactions of white male rats, which with prolonged intense light deprivation is irreversible.

Keywords: light desynchronization, stress, white male rats, open field, dark-light camera, behavioral reactions

Нормальное функционирование организма здорового человека определяется комплексом социальных и экологических факторов, вызванных качественными и количественными изменениями длительности светового дня. Недостаток света или его наличие в часы сна отражается на функционировании многих органов человека и животных

[1].

Нарастающая урбанизация населения несет в себе негативные воздействия, проявляющиеся нарушением сна у населения мегаполисов в условиях излишней освещенности [1]. При нарушении циркадных ритмов происходит снижение уровня мелатонина, и это проявляется нарушением в работе эндокринной системы, действуя на деятельность щитовидной железы через гипоталамо-гипофизарную систему [2]. Длительное воздействие избыточной освещенности на организм человека в конечном счете должно смениться адаптацией организма к изменившимся условиям, однако это происходит не всегда. Результаты адаптационной способности позволяют судить о характере воздействий на организм, функциональном состоянии его нервной системы, динамике соматовегетативных и поведенческих реакций.

Исходя из актуальности целями настоящего исследования являются изучение поведенческой реактивности белых крыс-самцов в условиях измененного фотопериодизма и оценка степени выраженности изменений.

#### **Материалы и методы исследования**

Экспериментальное исследование было выполнено на базе научной лаборатории кафедры нормальной физиологии им. И.А. Чувского Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского согласно принципам биоэтики и правилам лабораторной практики, Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в эксперименте и в других научных целях (Страсбург, 1986 г.) ETS № 123, Приказу МЗ РФ от 19.06.2003 № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики», «Международным рекомендациям по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (ВОЗ, Женева, 1985), «Правилам лабораторной практики» (Приказ Минздравсоцразвития России от 23.08.2010 № 708н) и с одобрения этического комитета ФГБОУ ВО Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России (протокол от 06.12.2016 № 4).

Эксперимент был выполнен на 36 интактных нелинейных белых крысах-самцах массой 200–250 г, разделенных на 2 экспериментальные группы: контрольную и опытную, по 18 животных в каждой. Крысы находились в одинаковых условиях и на нормальном рационе питания. Животные опытной экспериментальной группы в свою очередь на 1-е, 10-е и 21-е сутки подвергались тестированию в экспериментальных установках.

Из существующих способов моделирования светового режима была выбрана модель изменения фоторежима LD 18/6 – 18 часов света и 6 часов темноты [3, 4].

Для оценки поведенческой реактивности животных в условиях стресса были использованы тест-модели «Темно-светлая камера» и «Открытое поле». Длительность

тестирования в каждой из установок составляла 5 минут.

Модель «Темно-светлая камера» позволяет дать оценку, какая интенсивность освещения под воздействием стрессора является для животных комфортной. Установка подразделяется на два отсека – темный и светлый, между которыми находится отверстие прямоугольной формы. В ходе эксперимента изначально животное помещалось в светлую зону камеры, а темная зона оставалась открытой. Оценивались такие показатели, как число и латентный период выглядываний из темного отсека в светлый через отверстие в перегородке, количество и длительность выходов в светлый отсек и неспецифический показатель «Число актов дефекации» – количество экскрементов, обнаруженных в темной зоне камеры по окончании проведения теста [3].

Тест «Открытое поле» позволяет дать оценку выраженности и динамике отдельных компонентов поведенческих реакций животных, помещенных в открытое пространство (арену), в условиях стресса: степени эмоционально-поведенческой реактивности крыс, их исследовательской деятельности, оборонительному поведению, общей двигательной активности. В данной установке мы регистрировали такие специфические показатели, как горизонтальная и вертикальная двигательная активность, число заглядываний в норки и обнюхивание отверстий. Также учитывались число актов дефекации, частота актов и суммарная продолжительность груминга (с), являющиеся неспецифическими компонентами поведения животных [5].

На 21-е сутки животных выводили из эксперимента путем передозировки наркозом (внутримышечная комбинация Телазола (ZoetisInc, США) в дозе 0,1 мл/кг и Ксиланита (Нита-Фарм, Россия) в дозе 0,3 мл/кг).

Статистическая обработка полученных в ходе эксперимента результатов производилась с помощью пакета программ Statistica 10.0 (Statsoft, USA). Данные статистического анализа представлены в виде медианы и квартильного диапазона. Для сравнения значений использовался непараметрический показатель – U-критерий Манна-Уитни, так как выборка не соответствует закону нормального распределения. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### **Результаты исследования**

По результатам теста «Темно-светлая камера» можно судить о том, что на 1-е сутки эксперимента у животных опытной группы по сравнению с животными группы контроля было выявлено статистически значимое увеличение специфического показателя «Длительность выглядываний из темного отсека в светлый» ( $p_1=0,000246$ ) и снижение специфического показателя «Длительность выходов из темного отсека в светлый» ( $p_1=0,000220$ ). Происходит развитие стадии тревоги как компонента стрессорной реакции

организма животных.

На 10-е сутки интенсивного светового воздействия у животных опытной группы по сравнению с группой контроля наблюдается ослабление локомоторной активности, что выражается в достоверном снижении таких специфических показателей, как «Количество выходов из темного отсека в светлый» ( $p_1=0,003550$ ) и «Длительность выходов из темного отсека в светлый» ( $p_1=0,000592$ ). При сравнении животных опытной группы на 1-е и 10-е сутки эксперимента прослеживаются дальнейшее снижение двигательной активности и усиление стрессового повреждения организма, которое проявляется статистически достоверным снижением показателей «Количество выходов из темного отсека в светлый» ( $p_2=0,002$ ) и «Длительность выходов из темного отсека в светлый» ( $p_2=0,023$ ).

На 21-е сутки эксперимента по сравнению с группой контроля сохраняется статистически значимое снижение специфических показателей «Количество выходов из темного отсека в светлый» ( $p_1=0,001354$ ) и «Длительность выходов из темного отсека в светлый» ( $p_1=0,000037$ ). У животных опытной группы при сравнении показателей на 1-е и 21-е сутки эксперимента прослеживается тенденция к ослаблению поведенческой реактивности, отмечается статистически достоверное снижение специфических и неспецифических показателей: «Длительность выглядываний из темного отсека в светлый» ( $p_3=0,000196$ ), «Количество выходов из темного отсека в светлый» ( $p_3=0,000592$ ), «Длительность выходов из темного отсека в светлый» ( $p_3=0,022577$ ), «Количество актов дефекации» ( $p_3=0,046000$ ). При сравнении показателей у животных опытной группы на 10-е и 21-е сутки эксперимента статистически значимых изменений не наблюдается, кроме неспецифического показателя «Количество актов дефекации» ( $p_4=0,010194$ ), который статистически достоверно увеличивается, что говорит об увеличении уровня тревожности на фоне стресса. Имеется тенденция к снижению показателя «Длительность выглядываний из темного отсека в светлый».

При изучении результатов теста «Открытое поле» выявлено, что на 1-е сутки наблюдения у животных опытной группы по сравнению с животными группы контроля наблюдается статистически достоверное изменение значений показателя «Количество заглядываний в норки» ( $p_1=0,011075$ ), все остальные показатели имеют тенденцию к снижению, что свидетельствует об ослаблении локомоторной активности и ориентационно-исследовательской деятельности в условиях стресса.

На 10-е сутки у животных опытной группы по сравнению с животными группы контроля выявлено статистически достоверное снижение таких специфических показателей, как «Количество пересеченных квадратов» ( $p_1=0,007912$ ), «Количество стоек» ( $p_1=0,001823$ ), «Количество заглядываний в норки» ( $p_1=0,006657$ ), а также неспецифического показателя

«Количество актов дефекации» ( $p_1=0,040405$ ). Происходит угнетение поведенческой реактивности животных под воздействием стрессора. Кроме того, аналогичная динамика прослеживается при сравнении животных опытной группы на 1-е и 10-е сутки эксперимента. Наблюдается статистически значимое увеличение показателей «Количество пересеченных квадратов» ( $p_2=0,000139$ ), «Количество стоек» ( $p_2=$ ), «Количество заглядываний в норки» ( $p_2=0,000037$ ), «Количество актов дефекации» ( $p_2=0,005584$ ).

На 21-е сутки наблюдения у животных опытной группы по сравнению с животными группы контроля достоверно снижаются показатели «Количество стоек» ( $p_1=0,008616$ ) и «Количество заглядываний в норки» ( $p_1=0,035090$ ). При сравнении показателей у животных опытной группы на 1-е и 21-е сутки эксперимента отмечается угнетение поведенческой реактивности, что выражается статистически значимым снижением таких специфических показателей, как: «Количество пересеченных квадратов» ( $p_3=0,004669$ ) и «Количество стоек» ( $p_3=0,001823$ ), остальные показатели имеют тенденцию к снижению. У животных опытной группы при сравнении показателей на 10-е и 21-е сутки наблюдения отмечается статистически достоверный рост значений «Количество пересеченных квадратов» ( $p_4=0,009375$ ) и «Количество актов дефекации» ( $p_4=0,005584$ ). У остальных специфических и неспецифических показателей прослеживается тенденция к увеличению значений.

Проведенный статистический анализ позволяет сделать заключение, что при моделировании светового десинхроноза с использованием модели фоторежима 18:6 у экспериментальных животных возрастает уровень тревожности, развиваются стрессорные повреждения организма.

Таблица 1

Показатели поведенческих реакций белых крыс-самцов при использовании теста «Темно-светлая камера» на различных стадиях развития светового десинхроноза при режиме освещения 18:6

Показатель / Группа	Контроль	Опытная группа (1-е сутки)	Опытная группа (10-е сутки)	Опытная группа (21-е сутки)
Количество выглядываний из темного отсека в светлый	2,0 (2,0;3,0)	2,0 (2,0;4,5) $P_1 = 0,078253$	2,0 (1,0;6,5) $P_1 = 1,000000$ $P_2 = 0,386477$	2,5 (1,0;4,0) $P_1 = 1,000000$ $P_3 = 0,174854$ $P_4 = 0,665006$

Длительность выглаживаний из темного отсека в светлый	5,0 (2,0;11,0)	30,0 (19,0;42,0) $P_1 = 0,000246$	9,5 (1,0;81,5) $P_1 = 0,370845$ $P_2 = 0,506721$	6,0 (3,0;8,0) $P_1 = 0,930988$ $P_3 = 0,000196$ $P_4 = 0,236585$
Количество выходов из темного отсека в светлый	1,0 (1,0;2,0)	1,5 (1,0;2,0) $P_1 = 0,665006$	0 (0;1,0) $P_1 = 0,003550$ $P_2 = 0,001823$	0 (0;1,0) $P_1 = 0,001354$ $P_3 = 0,000592$ $P_4 = 0,930988$
Длительность выходов из темного отсека в светлый	26,5 (22,0;36,0)	12,0 (6,0;16,5) $P_1 = 0,000220$	0 (0;11,0) $P_1 = 0,000592$ $P_2 = 0,022577$	0 (0;13,0) $P_1 = 0,000037$ $P_3 = 0,022577$ $P_4 = 0,839860$
Количество актов дефекации	0,5 (0;1,0)	0 (0;1,0) $P_1 = 0,506721$	0 (0;0) $P_1 = 0,088535$ $P_2 = 0,312322$	1,5 (0;3,0) $P_1 = 0,088535$ $P_3 = 0,046000$ $P_4 = 0,010194$
Примечание: в каждом случае приведены медиана, нижний и верхний квартили. $p_1$ – различия опытной группы на 1-е, 10-е, 21-е сутки эксперимента по сравнению с группой контроля; $p_2$ – различия между опытными группами на 1-е и 10-е сутки эксперимента, $p_3$ – различия между опытными группами на 1-е и 21-е сутки эксперимента; $p_4$ – различия между опытными группами на 10-е и 21-е сутки эксперимента				

Таблица 2

Показатели поведенческих реакций белых крыс-самцов при использовании теста «Открытое поле» на различных стадиях развития светового десинхроноза при режиме освещения LD

18:6

Показатель Группа	Контроль	Опытная группа (1-е сутки)	Опытная группа (10-е сутки)	Опытная группа (21-е сутки)
Количество пересеченных квадратов	36,5 (22,0;46,0)	35,0 (29,0;41,5)	17,0 (13,0;21,0)	25,0 (22,0;28,0)

		$P_1 = 0,817361$	$P_1 = 0,007912$ $P_2 = 0,000139$	$P_1 = 0,204025$ $P_3 = 0,004669$ $P_4 = 0,009375$
Количество стоек	10,0 (4,0;22,5)	6,0 (4,5;9,5) $P_1 = 0,355612$	1,0 (0,5;2,5) $P_1 = 0,001823$ $P_2 = 0,000139$	2,5 (1,0;3,5) $P_1 = 0,008616$ $P_3 = 0,001823$ $P_4 = 0,285477$
Количество актов дефекации	0,5 (0;2,0)	0 (0;1,0) $P_1 = 0,452921$	2,5 (1,0;3,0) $P_1 = 0,040405$ $P_2 = 0,005584$	0 (0;1,0) $P_1 = 0,953960$ $P_3 = 0,971115$ $P_4 = 0,005584$
Количество актов груминга	1,5 (0;3,0)	0,5 (0;1,0) $P_1 = 0,214495$	0 (0;1,0) $P_1 = 0,193932$ $P_2 = 0,686106$	0 (0;2,5) $P_1 = 1,000000$ $P_3 = 0,587023$ $P_4 = 0,817361$
Общая продолжительность груминга	2,0 (0;13,5)	1,0 (0;3,5) $P_1 = 0,386477$	0 (0;4,0) $P_1 = 0,184210$ $P_2 = 0,583361$	0 (0;20,0) $P_1 = 0,976970$ $P_3 = 0,637831$ $P_4 = 0,252761$
Количество заглядываний в норки	5,0 (3,0;6,5)	5,0 (5,5;11,0) $P_1 = 0,011075$	2,0 (0,5;3,0) $P_1 = 0,006657$ $P_2 = 0,000037$	2,5 (0,5;4,0) $P_1 = 0,035090$ $P_3 = 0,000097$ $P_4 = 0,470487$
Примечание: в каждом случае приведены медиана, нижний и верхний квартили. $p_1$ – различия опытной группы на 1-е, 10-е, 21-е сутки эксперимента по сравнению с группой контроля; $p_2$ – различия между опытными группами на 1-е и 10-е сутки эксперимента, $p_3$ – различия между опытными группами на 1-е и 21-е сутки эксперимента; $p_4$ – различия между опытными группами на 10-е и 21-е сутки эксперимента				

### Обсуждение результатов исследования

Помещение животного в новые для него условия сопровождается возникновением

исследовательского поведения, которое тормозят условия, вызывающие опасность и страх. Это выражается в увеличении на 1-е сутки эксперимента таких показателей, как «Длительность выглядываний из темного отсека в светлый» и «Количество заглядываний в норки».

При длительной световой депривации развивается световой десинхроноз, который приводит к нарушению когнитивных и двигательных процессов у животных

Снижение показателей поведенческой активности пространственной ориентации и развитие тревожности у животных на 10-е сутки десинхроноза можно объяснить тем, что круглосуточное освещение является стрессорным фактором [6]. В дальнейшем должна происходить постепенная частичная адаптация животных к нарушенному циркадному ритму благодаря тесной связи мелатонина и уровня освещенности [4].

Циркадные ритмы организма находятся под влиянием супрахиазматического ядра, расположенного в гипоталамусе [7], который в свою очередь контролирует синтез мелатонина [8]. В результате светового десинхроноза как стрессорного фактора наблюдается снижение секреции гормона эпифиза мелатонина, регулирующего функционирование систем организма, поскольку именно в ночные часы – период наименьшей освещенности – вырабатывается большая часть его суточного количества (до 70%). Недостаток гормона вызывает повышение уровня катехоламинов в крови. В результате длительного стресса под действием катехоламинов снижается сигнализация нейронов гиппокампа – развивается дефицит когнитивных функций на 21-е сутки [9], нарушаются внимание, восприятие и исследовательская активность [3].

Длительное воздействие источников искусственного света на организм человека может приводить к стойкому продолжительному снижению работоспособности, поэтому следует считать необходимым грамотное нормирование светового режима работающего населения.

Данные наших исследований согласуются с результатами других авторов изменений когнитивной функции при экспериментальном десинхронозе в условиях световой депривации, работоспособности и поведенческой активности крыс в «Открытом поле» после световой или темновой деприваций [10].

## **Выводы**

Таким образом, по результатам проведенного исследования необходимо сделать следующие выводы.

1. Световой десинхроноз, возникающий при длительной и интенсивной световой депривации, приводит к изменению поведенческих реакций белых крыс-самцов, который носит постепенный характер.



2. В ходе анализа полученных результатов можно отметить, что у испытуемых животных с воздействием стрессора к 1-м суткам не наблюдалось выраженных изменений в поведенческой активности, на 10-е сутки все специфические показатели достигают максимальных значений, а на 21-е сутки наблюдается угнетение поведенческой реактивности животных. Это выражается снижением значений исследуемых показателей и повышением уровня тревожности.

3. Постоянное нарушение поведенческих реакций животных на всем протяжении эксперимента говорит об отсутствии адаптации животных к интенсивной световой депривации и при длительном воздействии света носит необратимый характер.

Если провести параллель между продолжительностью жизни крыс-самцов и человека, можно сказать, что длительное воздействие источников искусственного света на организм человека может приводить к стойкому продолжительному снижению работоспособности вплоть до срыва адаптационных возможностей организма.

### Список литературы

1. Струева Н.В., Полуэктов М.Г., Савельева Л.В., Мельниченко Г.А. Ожирение и сон // Ожирение и метаболизм. 2013. № 3 (36). С. 11-17.
2. Плехова Е.И., Турчина С.И. Мелатонин и его возможное участие в функционировании щитовидной железы в пубертатном периоде // Проблемы эндокринной патологии. 2011. № 2. С. 29-35.
3. Антипова О.Н., Злобина О.В., Киричук В.Ф., Иванов А.Н., Смышляева И.В., Жданова Д.Р., Рубизова А.А., Межидов Х.Ш. Стрессорные нарушения поведенческих реакций животных при интенсивной световой депривации // Современные проблемы науки и образования. 2018. № 4. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27760> (дата обращения: 25.07.2019).
4. Виноградова И.А. Сравнительное изучение влияния различных световых режимов на психоэмоциональные проявления и двигательную активность у крыс // Вестник НГУ. 2006. № 4 (2). С. 69-77.
5. Антипова О.Н., Иванов А.Н., Злобина О.В., Киричук В.Ф., Суровцева К.А., Анкина В.Д., Бондарь Г.Д., Зенкина Т.М., Полюкова М.В. Интенсивная световая депривация как фактор стрессорных нарушений поведенческих реакций и когнитивных функций в эксперименте // Саратовский научно-медицинский журнал. 2019. № 15 (2). С. 363-368.
6. Осиков М.В., Огнева О.И., Гизингер О.А. Этологический статус и когнитивная функция при экспериментальном десинхронозе в условиях светодиодного освещения //

Фундаментальные исследования. 2015. № 1. С. 1392-1396.

7. Латюшин Я.В., Камскова Ю.Г., Мамылина Н.В., Павлова В.И. Влияние эмоционально-болевого стресса на поведенческую активность крыс в тесте «открытое поле» // Вестник ЮУрГУ. 2006. № 3. С. 172-176.

8. Саркисов Г.Т., Саркисян Р.Ш., Карапетян Л.М., Акопян Н.Э., Саркисян Ж.С., Мадатова И.Р. Индивидуальные особенности поведения мышей в тесте «Черно-белая камера» // Биологический журнал Армении. 2010. № 1 (62). С. 22-29.

9. Майоров Ю.В. Оценка индивидуально-типологических особенностей поведения и устойчивости интактных белых крыс-самцов на основе факторной модели // Клиническая информатика и Телемедицина. 2011. № 7 (8). С. 21-32.

10. Судаков С.К., Назарова Г.А., Алексеева Е.В., Башкатова В.Г. Определение уровня тревожности у крыс: расхождение результатов в тестах «Открытое поле», «Крестообразный приподнятый лабиринт» и тесте Фогеля // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2013. № 155 (3). С. 268-270.