

## РОЛЬ СВЕТОВОГО ДЕСИНХРОНОЗА В РЕГУЛЯЦИИ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ КРЫС ПОРОДЫ WISTAR В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Зарубина Е.Г.<sup>1</sup>, Грибанов И.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Частное учреждение образовательная организация высшего образования «Медицинский университет «Реавиз», Самара, e-mail: gribanov\_doc@mail.ru

Целью исследования было изучение влияния световой депривации на поведенческие реакции лабораторных животных в эксперименте. Исследование было выполнено на 60 крысах-самцах породы Wistar в возрасте 6 месяцев, массой 280–300 г, с учетом правил лабораторной практики в РФ (РФ ГОСТ Р-53434-2009, принципы надлежащей лабораторной практики, 2010) и директив Европейской Конвенции по защите позвоночных животных (Strasbourg, 1986). Для индукции экспериментального десинхроноза животные опытной группы, в отличие от животных группы контроля, круглосуточно находились при искусственном освещении 150 LX. Все животные, включенные в эксперимент, случайным способом были разделены на 2 группы: контрольную (20 животных) и опытную (40 животных, из которых 20 на фоне световой депривации осуществляли введение экзогенного мелатонина начиная с 10-го дня наблюдения). В ходе эксперимента проводилось тестирование лабораторных животных по методике «открытое поле». Все исследования проводились на 10-е сутки, через 1, 2 и через 3 месяца от момента начала эксперимента. В ходе эксперимента было установлено, что в условиях круглосуточного освещения у крыс основной группы происходило статистически достоверное изменение поведения по сравнению с представителями контрольной группой: снижение ориентировочно-исследовательской активности и увеличение проявлений защитно-оборонительной (эмоциональной) составляющей поведения, которые купировались экзогенным введением мелатонина.

Ключевые слова: световой десинхроноз, открытое поле, поведение.

## THE ROLE OF LIGHT DESYNCHRONOSIS IN THE REGULATION OF BEHAVIORAL RESPONSES OF WISTAR RATS IN THE EXPERIMENT

Zarubina E.G.<sup>1</sup> Gribanov I.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Medical university Reaviz, Samara, e-mail: gribanov\_doc@mail.ru

The aim of the study was to study the effect of light deprivation on the behavioral responses of laboratory animals in the experiment. The study was performed on 60 male Wistar rats aged 6 months, weighing 280-300 g, taking into account the rules of laboratory practice in the Russian Federation (RF GOST R-53434-2009, principles of good laboratory practice, 2010) and the directives of the European Convention for the protection of vertebrates (Strasbourg, 1986). To induce experimental desynchronization, the animals of the experimental group, in contrast to the control group, were kept under artificial light 150 LX around the clock. All animals included in the experiment were randomly divided into 2 groups: control (20 animals) and experimental (40 animals), of which 20 were administered exogenous melatonin against the background of light deprivation, starting from the 10th day of observation. During the experiment, laboratory animals were tested using the «open field» method. All studies were conducted on the 10th day, 1, 2 and 3 months after the start of the experiment. In the experiment, it was found that continuous lighting in the rats of the main group was statistically significant behavior change compared with the control group, the decrease in exploratory activity and an increase in manifestations of protective and defensive (emotional) component behavior, which was stopped with exogenous administration of melatonin.

Keywords: light desynchronization, open field, behavior/

Во всем мире службы круглосуточной занятости являются неотъемлемой частью общества. Для многих отраслей промышленности, включая здравоохранение, транспорт, горнодобывающую промышленность и авиацию, работа не может прекратиться ни на 1 ч в сутках. Эти отрасли требуют от работников выполнения значительных задач в течение 24 ч [Ошибка! Источник ссылки не найден.], поэтому сотрудники регулярно работают в ночные смены [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. Согласно 5-му европейскому исследованию

условий труда, 17% работников по всему Европейскому Союзу осуществляют свою деятельность с чередованием ночных и дневных смен [3]. Известно, что сменная работа связана с повышенным риском возникновения у сотрудников проблем со здоровьем. К примеру, в нескольких наблюдательных исследованиях сообщалось о связи между работой в ночную смену и риском развития психических нарушений, таких как депрессия [4–6] и тревога [7, 8]. Также есть работы, указывающие на взаимосвязь чередования дневных и ночных смен с нарушениями сна [9–11].

Целью данного исследования стало изучение влияния световой депривации на поведенческие реакции лабораторных животных в эксперименте.

### **Материал и методы исследования**

Исследование было выполнено на 60 крысах-самцах породы Wistar в возрасте 6 месяцев, массой 280–300 г, с учетом правил лабораторной практики в РФ [12] и директив Европейской Конвенции по защите позвоночных животных [13]. Все животные, включенные в эксперимент, случайным способом были разделены на 2 группы: контрольную (20 животных) и опытную (40 животных).

Все животные независимо от группы содержались по 5 особей в клетке в стандартных условиях при свободном доступе к воде и пище. Питание осуществлялось гранулированным сбалансированным кормом (стандартный рацион). Животные содержались при относительной влажности воздуха 50–65% и температуре 20–25°C. Животные группы контроля содержались в условиях естественной освещенности.

Для индукции экспериментального десинхроноза животные опытной группы, в отличие от представителей группы контроля, круглосуточно находились при искусственном освещении 150 LX [14].

До включения в эксперимент в целях адаптации к условиям содержания все подопытные животные были помещены в условия контрольной группы на 10 дней.

Исследование проводилось в весенний период 2017–2018 гг. (начиная с марта на протяжении 3 месяцев). Все процедуры с животными выполнялись в утренние часы (с 9:00 до 11:00 местного времени) согласно правилам и рекомендациям гуманного обращения с животными, используемыми для экспериментальных и иных научных целей [12].

В опытной группе было сформировано 2 подгруппы: I подгруппа (n=20) и II подгруппа (n=20) через 10 дней после начала эксперимента. I подгруппа оставалась в условиях эксперимента, а во II подгруппе на фоне световой депривации начинали введение мелатонина из расчета 1 мг/кг веса. Разделение животных на 2 подгруппы проводилось случайным способом.

Осуществлялось тестирование лабораторных животных по методике «открытое поле». В ходе теста оценивались количество пересеченных квадратов, количество вертикальных стоек, количество актов дефекации, количество актов груминга и количество уринаций. Все исследования проводились на 10-е сутки, через 1, 2 и через 3 месяца от момента начала эксперимента. Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета программ Statistic for Windows 06, результаты считались статистически достоверными при  $p \leq 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Было установлено влияние постоянного освещения на горизонтальную и вертикальную активность крыс обеих опытных подгрупп. На 10-й день после начала эксперимента животные опытных подгрупп показали незначительную активизацию ориентировочно-исследовательской активности (количество пересечений квадратов и вертикальных стоек) – на 14,3%. В I опытной подгруппе через 1 календарный месяц количество пересечений квадратов (горизонтальная активность) снизилось на 27,1% ( $p < 0,05$ ), а количество вертикальных стоек – на 26,8% ( $p < 0,05$ ). Кроме этого, на протяжении эксперимента у крыс I опытной подгруппы постоянно увеличивались проявления защитно-оборонительной (эмоциональной) составляющей поведения, что выражалось увеличением количества актов груминга, количества дефекаций и уринаций – на 118,8%, 93,7% и 41,6% соответственно ( $p \leq 0,001$ ) через 3 месяца наблюдения по сравнению с исходными измерениями (табл. 1–5). У крыс II подгруппы после начала введения экзогенного мелатонина показатели ориентировочно-исследовательской деятельности, защитно-оборонительной (эмоциональной) составляющей поведения стали близки к изначальным показателям и статистически не отличались от показателей группы контроля (табл. 1–5).

Таблица 1

Динамика количества пересеченных квадратов в тесте «чистое поле»

Сроки наблюдения	Контрольная группа, n=20	Опытные группы		Динамика показателя опытных групп (I/II) по сравнению с группой контроля, %	p между группами
		I подгруппа, n=20	II подгруппа, n=20		
1	2	3	4	5	6
Исходные данные	58,6±5,1	59,6±5,2	56,6±4,2		≥0,05
					≥0,05
					≥0,05
Через 10 дней	58,6±5,1	64,5±4,8	64,5±4,8	+10,1	≥0,05
					≥0,05
					≥0,05
Через 1	58,6±5,1	42,7±5,1	57,7±5,1	-27,1/-1,5	< 0,05

месяц					$\geq 0,05$
					$< 0,05$
Через 2 месяца	58,6±5,1	35,5±4,6	58,8±4,2	-39,1/+0,3	$< 0,001$
					$\geq 0,05$
Через 3 месяца	58,6±5,1	32,8±4,9	56,9±4,6	-44,0/0,2	$< 0,001$
					$\geq 0,05$
					$< 0,001$

Примечание. В столбце 6 приведены значения  $p$ : 1-я строка – разница между группой контроля и I подгруппой, 2-я строка – разница между группой контроля и II подгруппой, 3-я строка – разница между I и II подгруппами.

Таблица 2

Динамика количества вертикальных стоек в тесте «чистое поле»

Сроки наблюдения	Контрольная группа, n=20	Опытные группы		Динамика показателя опытных групп (I/II) по сравнению с группой контроля, %	$p$ между группами
		I группа, n=20	II группа, n=20		
1	2	3	4	5	6
Исходные данные	5,6±0,7	5,6±0,7	5,6±0,7		$\geq 0,05$
					$\geq 0,05$
					$\geq 0,05$
Через 10 дней	5,6±0,7	6,4±0,5	6,4±0,5	+14,3	$\geq 0,05$
					$\geq 0,05$
					$\geq 0,05$
Через 1 месяц	5,6±0,7	4,1±0,3	5,5±0,3	-26,8/-1,8	$< 0,05$
					$\geq 0,05$
					$< 0,001$
Через 2 месяца	5,6±0,7	3,8±0,4	5,7±0,8	-32,1/+1,8	$< 0,05$
					$\geq 0,05$
					$< 0,05$
Через 3 месяца	5,6±0,7	3,6±0,5	5,5±0,5	-35,7/-1,8	$< 0,05$
					$\geq 0,05$
					$< 0,05$

Примечание. В столбце 6 приведены значения  $p$ : 1-я строка – разница между группой контроля и I подгруппой, 2-я строка – разница между группой контроля и II подгруппой, 3-я строка – разница между I и II подгруппами.

Таблица 3

Динамика количества дефекаций в тесте «чистое поле»

Сроки наблюдения	Контрольная группа, n=20	Опытные группы	Динамика показателя опытных	$p$ между группами
------------------	--------------------------	----------------	-----------------------------	--------------------

		I группа, n=20	II группа, n=20	групп (I/II) по сравнению с группой контроля, %	
1	2	3	4	5	6
Исходные данные	1,6±0,02	1,6±0,02	1,6±0,02		≥0,05
					≥0,05
					≥0,05
Через 10 дней	1,6±0,02	2,0±0,04	2,0±0,04	+20,0	<0,001
					<0,001
					≥0,05
Через 1 месяц	1,6±0,02	2,6±0,05	1,6±0,05	+62,5/+0,2	<0,001
					≥0,05
					<0,001
Через 2 месяца	1,6±0,02	2,9±0,04	1,2±0,03	+81,3/-25,0	<0,001
					<0,001
					<0,001
Через 3 месяца	1,6±0,02	3,1±0,03	1,4±0,04	+93,7/-12,5	<0,001
					≥0,05
					<0,001

Примечание. В столбце 6 приведены значения *p*: 1-я строка – разница между группой контроля и I подгруппой, 2-я строка – разница между группой контроля и II подгруппой, 3-я строка – разница между I и II подгруппами.

Таблица 4

Динамика количества актов груминга в тесте «чистое поле»

Сроки наблюдения	Контрольная группа, n=20	Опытные группы		Динамика показателя опытных групп (I/II) по сравнению с группой контроля, %	<i>p</i> между группами
		I группа, n=20	II группа, n=20		
1	2	3	4	5	6
Исходные данные	2,3±0,2	2,3±0,2	2,3±0,2		≥0,05
					≥0,05
					≥0,05
Через 10 дней	1,6±0,02	2,9±0,1	2,9±0,1	+81,3	<0,001
					<0,001
					≥0,05
Через 1 месяц	1,6±0,02	3,2±0,2	1,9±0,2	+100,0/+18,8	<0,001
					≥0,05
					<0,001
Через 2 месяца	1,6±0,02	3,2±0,1	1,7±0,1	+100,0/+6,3	<0,001
					≥0,05
					<0,001
Через 3 месяца	1,6±0,02	3,5±0,1	1,7±0,1	+118,8/+6,3	<0,001
					≥0,05
					<0,001

Примечание. В столбце 6 приведены значения *p*: 1-я строка – разница между группой контроля и

I подгруппой, 2-я строка – разница между группой контроля и II подгруппой, 3-я строка – разница между I и II подгруппами.

Таблица 5

Динамика количества уринаций в тесте «чистое поле»

Сроки наблюдения	Контрольная группа, n=20	Опытные группы		Динамика показателя опытных групп (I/II) по сравнению с группой контроля, %	p между группами
		I группа, n=20	II группа, n=20		
1	2	3	4	5	6
Исходные данные	1,2±0,1	1,2±0,1	1,2±0,1		≥0,05
					≥0,05
					≥0,05
Через 10 дней	1,2±0,1	1,3±0,09	1,3±0,09	+8,3	≥0,05
					≥0,05
					≥0,05
Через 1 месяц	1,2±0,1	1,5±0,05	1,3±0,05	+25,0/+8,3	< 0,01
					≥0,05
					< 0,01
Через 2 месяца	1,2±0,1	1,7±0,04	1,2±0,07	+41,6/	< 0,001
					≥0,05
					<0,001
Через 3 месяца	1,2±0,1	1,9±0,05	1,3±0,06	+58,3/+8,3	<0,001
					≥0,05
					<0,001

Примечание. В столбце 6 приведены значения p: 1-я строка – разница между группой контроля и I подгруппой, 2-я строка – разница между группой контроля и II подгруппой, 3-я строка – разница между I и II подгруппами.

Крысы из группы контроля не показали статистически значимых отличий от исходных показателей, зарегистрированных у них в начале наблюдения, т.е. демонстрировали стабильное поведение.

Полученные в ходе эксперимента со световой депривацией данные показывают, что воздействие внешних неблагоприятных факторов, в частности нарушение ритмов сна и бодрствования, приводит к изменениям в поведении животных: снижению стремления к познавательной деятельности и резкой активизации защитно-оборонительного поведения, что, возможно, аналогично описанным случаям десинхроноза у людей, работающих в ночную смену или проживающих в условиях Крайнего Севера. Вероятно, увеличение тревожности у животных в эксперименте было обусловлено ослаблением антистрессового эффекта мелатонина из-за снижения его уровня в условиях постоянной освещенности, что приводило, в свою очередь, к дестабилизации деятельности различных эндокринных систем и росту

уровня гормонов стресса. Это подтверждается тем, что при экзогенном введении мелатонина у животных из II опытной подгруппы, находящихся в аналогичной стрессовой ситуации, происходила нормализация поведения.

**Выводы:** таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод о том, что длительное нарушение ритмов сна и бодрствования на фоне световой депривации вызывает у лабораторных животных изменения в поведении – снижение двигательной активности и повышение тревожно-оборонительного поведения, которые могут быть купированы экзогенным введением мелатонина.

### Список литературы

1. Razavi P., Devore E.E., Bajaj A., Lockley S.W., Figueiro M.G., Ricchiuti V., Gauderman W.J., Hankinson S.E., Willett W.C., Schernhammer E.S. Shift Work, Chronotype, and Melatonin Rhythm in Nurses. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2019. vol. 28. no. 7. P. 1177-11862.
2. De C Moreno C.R., Fischer F.M., Rotenberg L. Worker's health in society 24 h. *São Paulo Em Perspect.* 2003. vol. 17. P. 34-46.
3. Agnès P.T., Greet V., Gijs V.H., Maija L.Y., Isabella B., Jorge C. Fifth European working conditions survey. 2012. P. 114.
4. Lee S.G., Kim I., Kim D. Workplace violence and depressive symptomatology among police officer. *Occup Environ Med.* 2014. vol. 71. P. 76.
5. Lee H.Y., Kim M.S., Kim O., Lee I.H., Kim H.K. Association between shift work and severity of depressive symptoms among female nurses: the Korea Nurses' Health Study. *J. Nurs Manag.* 2016. vol. 24. P. 192-200.
6. Cannizzaro E., Cirrincione L., Mazzucco W., Scorciapino A. Catalano C. Ramaci T., Ledda C., Plescia F. Night-Time Shift Work and Related Stress Responses: A Study on Security Guards. *Int. J. Environ Res Public Health.* 2020. vol. 17. no. 2. P. 562.
7. Park J.N., Han M.A., Park J., Ryu S.Y. Prevalence of depressive symptoms and related factors in Korean employees: the Third Korean Working Conditions Survey (2011) *Int. J. Environ Res Public Health.* 2016. vol. 13. P. 424.
8. Strohmaier S., Devore E.E., Vetter C., Eliassen A.H., Rosner B., Okereke O.I., Schernhammer E.S. Night shift work before and during pregnancy in relation to depression and anxiety in adolescent and young adult offspring. *Eur J. Epidemiol.* 2019. vol. 34. no. 7. P. 625-635.
9. Leyva-Vela B., Jesús Llorente-Cantarero F., Henarejos-Alarcón S., Martínez-Rodríguez A. Psychosocial and physiological risks of shift work in nurses: a cross-sectional study. *Cent Eur J.*

Public Health. 2018. vol. 26. no. 3. P. 183-189.

10. Øyane N.M., Pallesen S., Moen B.E., Akerstedt T., Bjorvatn B. Associations between night work and anxiety, depression, insomnia, sleepiness and fatigue in a sample of Norwegian nurses. PLoS One. 2013. vol. 8. P. 828.

11. Gong Y., Han T., Chen W., Dib H.H., Yang G., Zhuang R., Chen Y., Tong X., Yin X., Lu Z. Prevalence of anxiety and depressive symptoms and related risk factors among physicians in China: a cross-sectional study. PLoS One. 2014. P. 9.

12. Wickwire E.M., Geiger-Brown J., Scharf S.M., Drake C.L. Shift Work and Shift Work Sleep Disorder: Clinical and Organizational Perspectives. Chest. 2017. vol. 151. no. 5. P. 1156-1172.

13. РФ ГОСТ Р-53434-2009. Принципы надлежащей лабораторной практики. М.: Стандартинформ, 2010. С. 16.

14. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. Strasbourg, 1986. P. 52.

15. Самошина Т.А. Лития оксибутират и ритмическая структура активно-поискового поведения и температуры тела крыс в условиях постоянного освещения // Экспер. и клин. фармакол. 2000. Т. 63. № 2. С. 12-15.