

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ НАНОЭНТЕРОСОРБЕНТА «ИНГО-2» НА ОРГАНИЗМ

Аблайханова Н.Т., Тулеуханов С.Т., Есимсиитова З.Б.,
Тусупбекова Г.А., Аблайханова Нурзат Т., Атанбаева Г.К.,
Кожаметова М.

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан

Аннотация. В статье рассмотрены исследование по методу теста «Открытое поле». Она является самым признанным методом для изучения поведенческих реакций в токсикологии и заключается в исследовании двигательного компонента ориентировочной реакции и эмоциональной реактивности животных, изучения поведения грызунов в новых условиях. При этом метод «Открытое поле» нами использовался как скрининговый тест. Чаще всего в токсикологических исследованиях этот метод применяют для выявления: минимальных отклонений в организме животного, вызываемых токсическими агентами. Многие исследователи изучение поведенческих реакций животных используют на начальных этапах тестирования безопасности наноматериалов и наноэнтеросорбентов [1, 3].

Ключевые слова: наноэнтеросорбент «Инго-2», поведение, метод Морриса, открытое поле,

Введение. К числу актуальных проблем физиологии высшей нервной деятельности относится вопрос о связи между типологическими особенностями поведения животных и устойчивостью их организма к действию стрессирующих факторов [4-7]. По мнению, индивидуально-типологические особенности поведения отражают определенную специфику окислительных процессов мозга и поэтому позволяют с известной вероятностью прогнозировать большую или меньшую устойчивость к циркуляторной гипоксии мозга как одной из причин патологии ЦНС [8-11].

Однако до конца неясно, какие же из поведенческих показателей наиболее значимы. Важнейшим поведенческим проявлением на внешний раздражитель является эмоция. Установлено, что отрицательные эмоции пассивно-оборонительного характера приводят к развитию и/или усугублению течения патологических синдромов различного генеза. Вместе с тем отмечена зависимость между степенью устойчивости к неблагоприятным воздействиям и исходной двигательной активностью животных. В литературе имеются

Есимситова З.Б.,
Т., Атанбаева Г.К.,

Фараби, Казахстан

по методу теста «Открытое поле» поведенческих реакций в двигательного компонента активности животных, изучения метод «Открытое поле» нами психологических исследованиях отклонений в организме эти исследователи изучение основных этапах тестирования

поведение, метод Морриса,

проблем физиологии вопрос о связи между поведения животных и влиянию стрессующих факторов психологические особенности специфику поэтому позволяют с помощью гипоксии мозга как

также из поведенческих исследований поведенческим является эмоция. эмоции пассивно-активно к развитию и/или синдромов различного характера связь между степенью активности и исходной поведенческой литературе имеются

также данные о том, что на выживаемость животных при тяжелых патологических состояниях влияют как их исходная эмоциональность, так и степень выраженности двигательной и поисковой активностей [12-15].

Объекты исследования. Эксперимент выполнен на 20 крысах самцах массой 150-200 г. Животные содержались в виварных условиях.



Рисунок 1 - Лабораторные белые крысы

Материалы и методы исследования. Поведение животных наблюдали в "открытом" поле размером 80 x 80 см, расчерченном на квадраты 10 x 10 см в течение 5 минут.

Поле было освещено ярким светом (100 Вт) на расстоянии 1 м от поверхности поля. Животных помещали в центр поля и фиксировали латентное время (с) первой побежки с центрального квадрата, число пересеченных квадратов, время (с) и число грумингов и вставаний на задние лапы за 5 минут теста. После каждого животного поверхность открытого поля тщательно промывали водой и высушивали. Поведенческую активность животных оценивали в тесте "открытое" поле с применением актографа.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью теста при помощи компьютерной программы ЭВМ t-критерия Стьюдента. Различия между группами признавались достоверными при $p < 0,01$, $p < 0,05$.

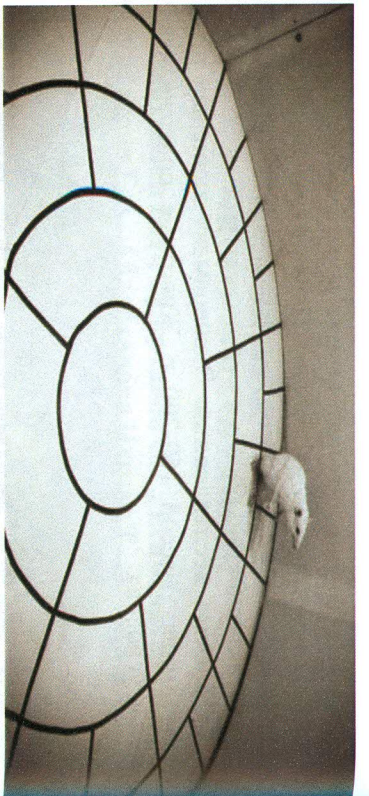


Рисунок 2. Тест «открытое поле»

Результаты исследования. После 24 часов влияние нанознтеросорбента «Инго-2» на поведенческую активность животных на периферии открытого поля количество пересечений экспериментальной площадки уменьшилось на 46,6 % ($p < 0,001$); число стоек - на 60,4 % ($p < 0,001$); стереотипных актов умыывания - на 21,6 %; количество заглядываний в отверстия экспериментальной площадки уменьшилось по сравнению с контролем на 62,1 % ($p < 0,001$) на фоне увеличения в 1,7 раза ($p < 0,001$) количества дефекаций.

Таблица 1. Влияние энтеросорбента на поведенческую активность животных

Сроки/показатели	Пересечения	Стойки	Заглядывания	Груминг	Дефекация
Контроль	47,4±5,2	13,4±1,2	2,9±0,5	3,7±0,7	1,6±0,3
ЭК 24 час	24,1±2,1***	4,4±0,5***	0,8±0,2***	2,7±0,4	2,9±0,5*
ЭК 48 час.	22,2±3,1***	4,4±0,7***	0,8±0,3***	2,8±0,4	3,0±0,1***
ЭК 24 час+2сут.	25,3±1,8***	5,3±0,3***	1,1±0,1***	2,9±0,3	2,7±0,4*
ЭК 24 час+3сут.	27,8±1,6***	5,5±0,4***	1,5±0,2**	3,1±0,3	2,5±0,5
ЭК 24 час+4сут.	46,3±5,0	13,2±1,3	2,8±0,4	3,5±0,5	1,5±0,3

Примечание: достоверность отличий от контроля: *- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$

После 48 часов влияние нанознтеросорбента «Инго-2» на поведенческую активность на периферии открытого поля количество пересечений экспериментальной площадки

увеличилось на 13,9 % ($p < 0,05$); число стоек - на 20,5 % ($p < 0,05$); стереотипных актов умыывания - на 3,6 %; количество заглядываний в отверстия экспериментальной площадки по сравнению с шестичасовым ЭП увеличилось на 37,5 % ($p < 0,05$) на фоне уменьшения на 10,0 % количества дефекаций.

Таблица 2. Влияние энтеросорбента и тока на крысу организма поведенческую активность животных в тесте открытое поле (в центре)

Сроки/показатели	Пересечения	Стойки	Заглядывания	Груминг	Дефекация
Контроль	5,1±0,3	2,2±0,2	1,1±0,4	2,3±0,2	-
ЭК 24 час	-	-	-	-	-
ЭК 48 час.	-	-	-	-	-
ЭК 24 час+2сут.	2,9±0,2***	1,9±0,1	1,4±0,2	1,0±0,1***	-
ЭК 24 час+3сут.	3,2±0,1***	1,6±0,3	2,0±0,1***	1,0±0,1***	1,3±0,2
ЭК 24 час+4сут.	5,0±0,4	2,1±0,2	1,0±0,3	2,2±0,2	-

Примечание: достоверность отличий от контроля: *- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$

После 24 часов и 2 суток влияние нанознтеросорбента «Инго-2» на поведенческую активность на периферии открытого поля количество пересечений экспериментальной площадки уменьшилось на 41,4 % ($p < 0,001$); число стоек - на 58,9 % ($p < 0,001$); стереотипных актов умыывания - на 16,2 % ($p < 0,05$); количество заглядываний в отверстия экспериментальной площадки уменьшилось по сравнению с контролем на 48,3 % ($p < 0,01$) на фоне увеличения на 56,3 % ($p < 0,05$) количества дефекаций.

После 24 часов и 3 суток влияние нанознтеросорбента «Инго-2» на поведенческую активность на периферии открытого поля количество пересечений экспериментальной площадки увеличилось на 25,2 % ($p < 0,05$); число стоек - на 25,0 % ($p < 0,05$); стереотипных актов умыывания - на 10,7 %; количество заглядываний в отверстия экспериментальной площадки увеличилось по сравнению с 24 часов на 87,5% ($p < 0,05$) на фоне уменьшения на 16,7% ($p < 0,05$) количества дефекаций.

После 24 часов и четыре суток влияние энтеросорбента периферии открытого поля количество пересечений экспериментальной площадки уменьшилось на 2,3 %; число стоек - на 1,5 %; стереотипных актов умывания - на 5,4 %; количество заглядываний в отверстия экспериментальной площадки уменьшилось на 3,4 %; количество дефекаций уменьшилось на 6,3 % по сравнению с контролем.

После 24 часов стресса и пяти суток влияние энтеросорбента на периферии открытого поля количество пересечений экспериментальной площадки увеличилось в 2,1 раза ($p < 0,001$); число стоек - в 3,0 раза ($p < 0,001$); стереотипных актов умывания - на 25,0 % ($p < 0,05$); количество заглядываний в отверстия экспериментальной площадки увеличилось в 3,5 раза ($p < 0,001$) на фоне уменьшения на 50,0 % ($p < 0,001$) количества дефекаций по сравнению с 48 часом.

После эмоционально-стресса крысы на протяжении тестирования находились на периферии открытого поля и в центр не выходили. Вертикальная двигательная активность их представлена только стойками с опорой на стенку поля. В центре открытого поля поведенческая активность животных была зафиксирована в течение 1-5 суток после стрессирования. После 24 часов эмоционально-стресса и восстановления количество пересечений экспериментальной площадки уменьшилось на 43,1% ($p < 0,001$); число стоек - на 13,6 % ($p < 0,05$); стереотипных актов умывания - на 56,5 % ($p < 0,001$); количество заглядываний в отверстия экспериментальной площадки увеличилось по сравнению с контролем на 27,3 % ($p < 0,05$) на фоне отсутствия дефекаций.

После 48 часов эмоционально стресса и восстановления в центре открытого поля количество пересечений экспериментальной площадки уменьшилось на 37,3 % ($p < 0,001$); число стоек - на 27,3 %; количество стереотипных актов умывания - на 56,5 % ($p < 0,001$); количество заглядываний в отверстия экспериментальной площадки увеличилось по сравнению с контролем на 81,8 % ($p < 0,001$), количество дефекаций составило в среднем $1,3 \pm 0,2$ на фоне их отсутствия у животных контрольной группы.

После 24 часов эмоционально стресса и 2 суток восстановления в центре открытого поля количество пересечений экспериментальной площадки уменьшилось на 2,0 %; число стоек - на 4,5 %; стереотипных актов умывания - на 4,3 %; количество заглядываний в отверстия экспериментальной площадки уменьшилось на 9,1 % на фоне отсутствия дефекаций по сравнению с животными контрольной группы.

Ряд исследователей, анализируя поведение грызунов в «открытом поле», отмечали, что усиление тревожности является фактором, снижающим двигательную активность животных.

Результаты нашего исследования согласуются с этими выводами, так как нами была выявлена повышенная тревожность животных, влияния энтеросорбента. Горизонтальная двигательная активность животных (пересечения, заглядывания в отверстия) была сниженной на периферии открытого поля в результате стресса в токе во все исследованные периоды. Интенсивность смещенной активности (число актов груминга), отражающей конфликт мотиваций страха и исследования, выше у крыс, характеризующихся повышенной частотой выходов и стоек в центральных зонах открытого поля, а также увеличенным числом обследованных отверстий. У крыс после эмоционально стресса число актов груминга оставалось пониженным по сравнению с контролем на фоне сниженной двигательной активности. Подобная структура поведения сохранилась на протяжении всех сроков стрессирования, отражая конфликт проявлений ориентировочно-исследовательской активности, с одной стороны, и страха - с другой. Эмоционально вызвал сильный испуг у животных, повысил их тревожность, а в результате тока восстановительного периода после энтеросорбента доля страха в репертуаре поведенческой активности животных снизилась, наступила апатия, проявились депрессивно-подобные реакции. Но сниженный уровень ориентировочно-исследовательской активности в результате действия острого энтеросорбента и восстановительного периода после стресса различался. В результате воздействия острого энтеросорбента ориентировочно-исследовательская активность была нивелирована гипрвоэбудимостью животных, а через 1 и 2

суток после энтеросорбента - фрустрацией, с одной стороны, и апатией - с другой.

В течение пяти суток после энтеросорбента «Инго-2» все исследованные параметры поведенческой активности животных не отличались от таковых у контрольной группы животных.

Мы считаем, что степень повреждающего действия стресса на организм животных во многом зависит от того, как животное воспринимает ситуацию, в которую его помещают, т.е. наличием обратной связи в системе «стимул - реакция», взаимодействием среднего и субъективного факторов. Животные с различными стилями приспособления воспринимают одни и те же воздействия по-разному. Моделирование поведения животных в условиях стресса позволит более корректно предсказать характер адаптационного процесса на уровне отдельных органов, систем, организма в целом, возможные срывы психической адаптации с целью коррекции негативных последствий влияния острых и хронических психоэмоциональных стрессов на организм.

Тревожное поведение справедливо связывают с возбуждающими процессами в ЦНС. Высокая тревожность связана с повышенными реакциями страха и проявляется гиперреактивностью на окружающие стимулы.

Из анатомических, поведенческих и фармакологических исследований ясно, что многие структуры ЦНС (миндалевидный комплекс, гиппокамп, префронтальная кора и другие) вовлечены в процессы тревожности и угашения памяти о страхе. Миндалевидный комплекс является более реальным местом взаимодействия этих процессов, поскольку существуют экспериментальные доказательства важности его активации в повышении тревожности, в поддержании внимания к контекстуальным стимулам во время угашения. Есть также данные о существенной задержке угашения условных реакций страха при электрической стимуляции этого образования. Можно предположить, что у крыс после нанозентеросорбента «Инго-2» наблюдался повышенный уровень тревожности, так как существовал дефицит тормозного тонуса в миндалевидном комплексе, что приводило к гиперэкспрессии условного навыка пассивного избегания при угашении, т.е. после прекращения

действия стресса. Гипофиз-адреналовая система у всех стрессированных крыс активирована после воздействия, независимо от фактора контролируемости. При этом сохраняется согласованность реакций на возбуждающие и тормозные сигналы.

Выводы. Результаты исследований свидетельствуют, что у контрольных групп животных локомоторные особенности по методике «открытое поле» выражались в четкой организации и ориентации в пространстве животных, что свидетельствует о нормальном функционировании центральной нервной системы после действия нанозентеросорбента «Инго-2».

Было выявлено после воздействия нанозентеросорбента «Инго-2» наблюдался повышенный уровень тревожности, так как существовал дефицит тормозного тонуса в миндалевидном комплексе, что приводило к гиперэкспрессии условного навыка пассивного избегания при снижении, т.е. после прекращения действия стресса. Гипофиз-адреналовая система у всех стрессированных крыс активирована после воздействия, независимо от фактора контролируемости. При этом сохраняется согласованность реакций на возбуждающие и тормозные сигналы. Установлен механизм закономерности особенности организации и ориентации локомоторной активности у интактных групп животных. Следовательно, наноструктурированный нанозентеросорбент «Инго-2», обладает высокой коллоидной стабильностью в гидрозолях, что позволяет получать растворы с точной концентрацией частиц и применять их в длительных экспериментах на животных. В медико-биологических целях (для перорального введения) рекомендовано использовать гидрозоли нанозентеросорбента в концентрации 0,01 вес.% так как потребление раствора этой концентрации наиболее близко к потреблению воды контрольными животными.

Специфика локомоторной активности свидетельствует о нормальном функционировании гипоталамического отдела головного мозга у животных.

На основании полученных данных о высокой биосовместимости нанозентеросорбента при пероральном

введении рекомендуется изучение других способов введения данного материала в организм экспериментальных животных.

Таким образом, нами впервые выявлены особенности локомоторной активности как у контрольных, так и у опытных групп животных, которые выражались в четкой организации и ориентации в пространстве животных, что свидетельствует о нормальном функционировании центральной нервной системы.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Мансуров З.А., Мофа Н.Н., Акназаров С.Х. Наноструктурированные композиционные сорбенты на основе модифицированных силикатных материалов / *Материалы Международной научно-практической конференции «Чистая вода – 2009» («СВ - 2009»)* 20-21 октября г. Кемерово 2009г. – С. 257-261.
2. Барбова А.И. Сорбция ротавирусов человека и животных энтеростелем // *Микробиол. журн.* - 1995. - Т.57, №5. - С.52-57.
3. Николаев В. Г., Гурина Н.И. Сорбионные материалы и механизмы действия//*Научно-практический он-лайн журнал «Клиническая эфферентология», 2010, №4.*
4. Кwon UD, Rittler MN, Ernst E. Acupuncture for peripheral joint osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatology*. 2006;45:1331-7.
5. Ветман ВМ, Lao L, Langenberg P, Lee WL, Gilpin AM, Hochberg MC.
6. Effectiveness of acupuncture as adjunctive therapy in osteoarthritis of the knee: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med*. 2004;141:901-10.
7. White PF. Electroanalgesia: does it have a place in the routine management of acute and chronic pain? *Anesth Analg*. 2004;98:1197-8.
8. Han JS. Acupuncture: neuropeptide release produced by electrical stimulation of different frequencies. *Trends Neurosci*. 2003;26: 17-22.
9. Romeranz B. Acupuncture analgesia – basic research. In *Clinical Acupuncture: Scientific Basis*. edited by G. Stux and R. Hammerschlag, Berlin: Springer-Verlag; 2000;p1-29.

10. Han JS. Opioid and antioioid peptides: A model of Yin-Yang balance in acupuncture mechanism of pain modulation. In *Clinical Acupuncture: Scientific Basis*. edited by G. Stux and R. Hammerschlag, Berlin: Springer-Verlag; 2000;p51-68.

11. Csisostomo MM, Li P, Tjen-A-Looi SC, Longhurst JC. Nociceptin in rVLM mediates electroacupuncture inhibition of cardiovascular reflex excitatory response in rats. *J Appl Physiol*. 2005;98:2056-2063.

12. Langevin HM, Churchill DL, Wu J, Badger GI, Yandow JA, Fox JR, Krag MN. Evidence of connective tissue involvement in acupuncture. *FASEB J* 2002;16: 872-4.

13. Shang C. Electrophysiology of growth control and acupuncture. *Life Sci* 2001;68:1333-1342.

14. Samat'skaya V.V., Lindup W.E., Walther P. et al. Albumine, bilirubine and activated carbon: new edges of an old triangle // *Art. Cells, Blood Substit. and Immobiliz. Biotechnology*.- 2002.- N2.- P.113-127.

15. Shahidi F., Abuzaatoun R. Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, production, applications, and health effects // *Adv. Food Nutr. Res.*- 2005.- Vol.49.- P.93-135.