

ВПЛИВИ МЕМАНТИНУ НА ПОВЕДІНКОВІ ПОКАЗНИКИ ЩУРІВ У ТЕСТІ «ВІДКРИТЕ ПОЛЕ»

Надійшла 12.06.17

Досліджували впливи курсового (п'ять днів) перорального введення мемантину на поведінку щурів у тесті «відкрите поле». 10 тварин були поділені на контрольну та експериментальну групи: щури останньої отримували щоденно 20 мг/кг мемантину гідрохлориду. У тварин експериментальної групи спостерігались інтенсивніша орієнтувально-дослідницька активність (кількість вертикальних стійок) та істотно більша кількість виходів на середину поля. Динаміка майже всіх показників у тесті «відкрите поле» щурів двох груп істотно розрізнялася; під впливом мемантину помітно модифікувалася структура ґрумінгової поведінки. Спостереження за щурами у тесті «відкрите поле» дають підстави зробити висновок про істотне зниження рівня тривоги та страху під впливом мемантину. В цілому ефекти цього препарату можна характеризувати як адапційно-стимулюючий вплив [1, 2].

КЛЮЧОВІ СЛОВА: відкрите поле, мемантин, поведінково-емоційні показники, деменції, щури.

ВСТУП

Мемантин (3,5-діметиладамантан-1-амін) є препаратом, що в наш час досить широко використовується в терапії захворювань, пов'язаних із деменціями того або іншого генезу (в тому числі в лікуванні хвороби Альцгеймера). Мемантин – це селективний неконкурентний антагоніст NMDA-глутаматних рецепторів. Він пригнічує глутаматергічну нейротрансмісію, покращує, як вважають, показники церебрального метаболізму, гальмує розвиток нейродегенераційних процесів. Серед позитивних ефектів лікування з використанням мемантину називають зменшення стомлюваності, ослаблення симптомів депресії, покращення пам'яті та здатності до концентрації, корекцію деяких рухових порушень. Слід, проте, зауважити, що ситуація з визначенням дії мемантину є до певної міри парадоксальною. Завдяки низькій токсичності та досить обмеженій інтенсивності побічних впливів препарат, як вже вказувалося, широко засто-

сується в клініці; його ефекти тестовані на дуже широких вибірках пацієнтів та контрольних осіб. У той же час інформація про впливи мемантину на поведінку тварин у модельних дослідженнях поки що недостатня, хоча результати наших нещодавніх досліджень змін рухової (в тому числі умовнорефлекторної) поведінки щурів під дією мемантину показали, що відповідні ефекти можуть бути досить значними [3–5].

У даній роботі ми визначали впливи мемантину на поведінкові показники тварин у тесті «відкрите поле» при щоденних уведеннях цього препарату протягом п'яти днів.

МЕТОДИКА

Роботу було виконано на 10 щурах-самцях лінії Вістар віком три місяці з масою тіла 155–220 г. Щурів утримували в стандартних умовах віварію при температурі повітря 23–25 °С. Освітленість у приміщенні дорівнювала близько 100, а в клітці – 20–40 лк. Тварини були розподілені на контрольну та експериментальну групи по

¹ Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).
Ел. пошта: elena@biph.kiev.ua (О. О. Лук'янець).

п'ять особин у кожній. Контрольні щури щоденно отримували перорально водний розчин цукру, а тварини експериментальної групи – водний розчин мемантину гідрохлориду (20 мг/кг; джерело – фармакопейний препарат «Акатинол мемантин») за 1 год до тестування у «відкритому полі».

Квадратна арена для тестування була виготовлена з білого пластику; вона мала розмір 60×60 см, висота стінок складала 45 см. Арена була поділена на 36 рівних квадратів (10×10 см). Освітлення забезпечувалося лампою розжарювання 100 Вт, підвешеною на висоті 150 см від поверхні арени. Тестування згідно із загальноприйнятими методиками [6–8] проводили протягом п'яти днів у першій половині дня, враховуючи залежність фармакологічної активності препаратів, що тестуються, від циркадних ритмів у щурів [9]. Тривалість періоду спостереження дорівнювала 5 хв. Тварину перед початком спостереження вміщували в кутку арени. Після тестування кожної тварини підлогу арени ретельно мили та протирали етиловим спиртом.

Кількість окремих поведінкових актів у межах періоду спостереження підраховували візуально, використовуючи комп'ютерну програму «Real-Timer». Брало до уваги горизонтальну рухову активність (ГРА, кількість відвіданих квадратів), вертикальну рухову активність (ВРА, кількість стійок без опори на стінку арени або з опорою), індекс загальної рухової активності (суму показників ГРА та ВРА), кількість виходів тварини в центральні квадрати арени, кількість епізодів грумінгу (короткого та тривалого) та кількість актів дефекації (за числом фекальних болюсів).

Отриманий числовий матеріал обробляли з використанням загальноприйнятих методів статистичного аналізу та програми «MSExcel»; обчислювали середні значення та похибки середнього. Вірогідність міжгрупових відмінностей оцінювали за допомогою *t*-критерію Ст'юдента, вважаючи такі різниці вірогідними при $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Введення мемантину щурам експериментальної групи в перший день тестування не спричиняло істотного впливу на інтенсивність ГРА та ВРА; відповідні показники у контрольних та експериментальних тварин були майже рівними. Протягом п'ятиденного періоду тестування згадані індекси в

двох порівнюваних групах демонстрували досить специфічну та відмінну динаміку. У контрольній групі інтенсивність ГРА протягом другого-третього днів істотно зменшувалася (на третій день – більш ніж удвічі). Протягом четвертого-п'ятого днів даний показник демонстрував певну тенденцію до відновлення, але не досягав вихідного значення. На відміну від цього ГРА в експериментальній групі після неістотного зменшення на другий день надалі помітно посилювалася, перевищуючи вихідні значення (табл. 1).

Значення інтенсивності ВРА в контрольній групі демонстрували динаміку, досить подібну до такої ГРА. На третій день ВРА у контрольних щурів знижувалася більше ніж на 60 %, а надалі її інтенсивність дещо підвищувалася. У той же час індекс ВРА в експериментальній групі після помітного зниження на другий-третій день у наступний період (протягом четвертого-п'ятого днів) перевищував вихідне значення. Індекс загальної рухової активності в контрольній групі в межах другого-п'ятого днів був помітно меншим, ніж вихідний (на третій день – практично вдвічі). На відміну від цього даний показник в експериментальній групі протягом третього-п'ятого днів істотно перевищував аналогічне значення у контрольних щурів (на третій день – більше ніж удвічі; табл. 1).

Мабуть, найістотніше щури контрольної та експериментальної груп розрізнялися за кількістю виходів тварин у центральні квадрати арени. В контрольній групі цей показник протягом другого-п'ятого днів був значно меншим (на третій день – більше ніж на порядок), ніж у перший день. У той же час кількість таких виходів у щурів експериментальної групи, які отримували мемантин, протягом усього періоду тестування в рази перевищувала аналогічні показники у контрольних тварин (на третій день – майже в 30 разів; табл. 1).

Щури контрольної групи вдавалися до короткого грумінгу протягом другого-п'ятого днів тестування значно рідше, ніж у перший день. У той же час тривалість епізодів тривалого грумінгу в цих щурів підтримувалася протягом усього періоду тестування на досить високому приблизно стабільному рівні. Загальна ж кількість епізодів «косметичної» поведінки в контрольній групі протягом другого-п'ятого днів була вірогідно меншою, ніж у перший день. У тварин, що отримували мемантин, вихідна частота короткого грумінгу (та, що спостерігалась у перший день) була значно меншою, ніж у конт-

рольних щурів. Проте протягом третього–п'ятого днів цей показник демонстрував досить стабільну тенденцію до збільшення, перевищуючи відповідні значення в контрольній групі. На відміну від цього, частота епізодів тривалого грумінгу в експериментальній групі була в цілому меншою, ніж у контрольних тварин. Загальна ж кількість «косметичних» дій у експериментальних щурів протягом

другого–п'ятого днів істотно підвищувалась і ставала приблизно рівною такій у контролі (табл. 2).

Досить істотні відмінності між контрольною та експериментальною групою щурів проявлялись й у такого показника, як кількість актів дефекації в межах періоду спостереження. Невелика частота цих актів не давала можливості чітко виявити динаміку даного показника протягом експерименталь-

Т а б л и ц я 1. Показники рухової активності щурів у тесті «відкрите поле»

Дні експерименту	Контрольна група				Експериментальна група			
	індекси			кількість виходів у центр арени	індекси			кількість виходів у центр арени
	ГРА	ВРА	загальної рухової активності		ГРА	ВРА	загальної рухової активності	
1-й	171.2 ± 8.3 (100)	35.4 ± 4.7 (100)	206.6 ± 9.9 (100)	5.2 ± 1.9 (100)	159.4 ± 15.1 (100)	35.0 ± 6.7 (100)	194.4 ± 20.5* (100)	6.4 ± 2.7 (100)
2-й	128.2 ± 17.9 (74.9)	23.6 ± 3.5 (66.7)	151.8 ± 21.3 (73.5)	0.8 ± 0.8 (15.3)	143.0 ± 33.7 (89.7)	26.4 ± 11.0 (74.3)	169.4 ± 43.7* (87.1)	6.4 ± 3.6 (100.0)
3-й	83.2 ± 13.5 (48.6)	13.8 ± 3.6 (38.9)	97.0 ± 15.7 (47.0)	0.4 ± 0.4 (7.7)	191.8 ± 30.0 (120.3)	25.8 ± 6.9 (73.7)	217.6 ± 35.5* (111.9)	11.4 ± 7.5 (181.0)
4-й	119.4 ± 40.9 (69.7)	21.0 ± 9.0 (59.4)	140.4 ± 49.9 (70.0)	3.8 ± 2.6 (73.1)	158.8 ± 18.2 (99.6)	38.8 ± 7.5 (110.9)	197.6 ± 24.2* (101.6)	9.8 ± 3.0 (155.6)
5-й	122.4 ± 27.2 (71.5)	25.4 ± 7.0 (71.8)	147.8 ± 33.7 (71.5)	1.8 ± 0.8 (34.6)	168.6 ± 35.6 (105.8)	35.6 ± 10.8 (101.7)	204.2 ± 46.1* (105.0)	14.6 ± 5.7 (231.7)

П р и м і т к и. Щури експериментальної групи отримували щоденно 20 мг/кг мемантину гідрохлориду протягом п'яти днів. ГРА та ВРА – горизонтальна та вертикальна рухова активність відповідно. Загальна рухова активність – сума індексів ГРА та ВРА. Вказані значення середніх та похибок середнього; в дужках наведені нормовані значення показників; значення в перший день експерименту в усіх випадках взяті за 100 %. Зірочками позначені міжгрупові статистично вірогідні відмінності ($P < 0.05$ порівняно з контрольною групою).

Т а б л и ц я 2. Кількість епізодів грумінгу в щурів в умовах тесту «відкрите поле»

Дні експерименту	Контрольна група			Експериментальна група		
	кількість епізодів грумінгу			кількість епізодів грумінгу		
	коротких	тривалих	загальна кількість	коротких	тривалих	загальна кількість
1-й	5.6 ± 1.8 (100)	3.2 ± 0.5 (100)	8.8 ± 1.6 (100)	2.2 ± 1.1 (100)	1.2 ± 0.5 (100)	3.4 ± 1.0* (100)
2-й	2.8 ± 1.0 (50.0)	3.8 ± 0.8 (118.7)	6.6 ± 1.9 (75.0)	2.0 ± 0.9 (90.9)	2.6 ± 1.0 (216.7)	4.6 ± 1.8* (135.3)
3-й	1.2 ± 0.5 (21.4)	3.8 ± 0.8 (118.7)	5.0 ± 1.0 (56.8)	4.4 ± 2.2 (200.0)	0.4 ± 0.2 (33.3)	4.8 ± 2.1* (141.2)
4-й	1.6 ± 0.5 (28.6)	3.0 ± 0.7 (93.8)	4.6 ± 0.6 (52.3)	5.0 ± 1.7 (227.3)	0.8 ± 0.4 (66.7)	5.8 ± 1.8* (170.6)
5-й	1.8 ± 0.4 (32.1)	4.4 ± 0.9 (137.5)	6.2 ± 0.9 (70.5)	3.8 ± 1.1 (172.7)	2.4 ± 1.0 (200.0)	6.2 ± 2.0* (182.4)

П р и м і т к а. Позначення ті ж самі, що й у табл. 1.

ної серії. Проте можна констатувати, що кількість актів дефекації в контрольній групі була значно вищою, ніж аналогічний показник в експериментальній групі. В останній групі середня кількість актів дефекації в межах періоду спостереження варіювала від 0.1 до 0.8 (становлячи в середньому 0.50), а в контрольній групі – від одного до трьох (у середньому 2.04).

Кількість відвіданих квадратів «відкритого поля» в межах періоду спостереження (індекс ГРА) характеризує інтенсивність локомоторної активності в умовах тестування. Динаміка цього показника протягом експерименту (п'ять діб) у контрольній та експериментальній групах демонструвала значні відмінності. В цілому інтенсивність ГРА в контрольній групі протягом другого–п'ятого днів була вірогідно нижчою, ніж у перший день. На відміну від цього щури, що отримували мемантин, зберігали досить високі показники ГРА протягом усього періоду тестування.

Кількість стійок на задніх кінцівках (ВРА) інтерпретують як показник інтенсивності орієнтаційно-дослідницької активності тварини. Цей показник в експериментальній групі демонстрував значно істотнішу специфіку в порівнянні з контролем, ніж ГРА. Якщо в контрольних щурів кількість стійок протягом другого–п'ятого днів була значно меншою, ніж у перший день, у експериментальних тварин під впливом мемантину даний показник наприкінці періоду спостереження (на четвертий-п'ятий день) відчутно зростав. Можна вважати, що контрольні щури демонстрували певну супресію цього виду поведінки під впливами, з одного боку, стресу, а з другого – процесу хабітуації. В експериментальних же щурів цікавість до незвичного оточення підтримувалася на дещо підвищеному рівні протягом усього періоду тестування. Але найбільша різниця між контрольними та експериментальними тваринами виявлялася щодо такого показника, як кількість виходів до центральних квадратів. Як вже зазначалось, у щурів, що отримували мемантин, цей показник був у рази більшим, ніж у контрольних тварин. Даний факт, як і збереження певного рівня орієнтовально-дослідницької активності, вірогідно, свідчить про те, що в щурів експериментальної групи рівень тривожності був набагато нижчим.

У цілому з наведеним вище висновком узгоджуються і результати спостереження грумінгової поведінки. Частота грумінгу розглядається як один із показників стану емоційної сфери тварини, хоча

цей показник і не знаходиться в якихось простих лінійних співвідношеннях із рівнями тривожності, стресованості та іншими показниками емоційності. Частота епізодів грумінгу, як і кількість актів дефекації протягом періоду спостереження, свідчили про те, що мемантин досить істотно впливає на активність центральних емоціогенних структур.

Спостереження за тваринами у тесті «відкрите поле» не дає прямих вказівок на зміни у них рівня тривожності; відповідна інформація може бути отримана з використанням інших поведінкових тестів (хоча б «піднятого лабіринту»). У той же час збереження порівняно високої частоти орієнтовально-дослідницьких поведінкових феноменів та відсутність супресії відвідувань центральних квадратів, очевидно, вказують на значно нижчу тривожність у щурів, що отримували мемантин.

Іншим явним результатом впливів мемантину були істотні модифікації динаміки показників поведінки щурів у перебігу п'ятиденного періоду тестування. Динаміка фактично всіх досліджених показників у експериментальній та контрольній групах тварин істотно розрізнялася. Можна, мабуть, ще зауважити, що результати наших спостережень дають підставу для деяких сумнівів щодо існуючого твердження про відсутність кумуляції ефектів мемантину; поки що важко сказати, в якій мірі зміни згаданих параметрів протягом п'ятиденного періоду були пов'язані з адаптаційними (в широкому сенсі терміну) реакціями, а в якій – з можливістю кумуляції послідовно отриманих доз мемантину.

Підсумовуючи отримані дані, можна констатувати, що використаний препарат добре переносився тваринами, вірогідно посилював мотивацію та орієнтовально-дослідницьку поведінку, знижував рівень тривоги та страху. В цілому ефекти мемантину можна характеризувати як адаптаційно-стимулюючий вплив.

Усі етапи дослідження відповідали положенням Європейської конвенції про захист експериментальних тварин (86/609 ЄЕС, 1986, Страсбург) і нормативам Комітету з біоетики Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України.

Автори даної роботи – Ю. М. Тищенко та О. О. Лук'янець – підтверджують відсутність будь-яких конфліктів щодо комерційних або фінансових відносин, відносин з організаціями або особами, котрі будь-яким чином могли бути пов'язані з дослідженням, а також взаємовідносин співавторів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Х. Ю. Исмаилова, Т. М. Агаев, Т. П. Семенова, *Индивидуальные особенности поведения: (моноаминергические механизмы)*, Нурлан, Баку (2007).
2. В. И. Родина, Н. А. Крупина, Г. Н. Крыжановский, Н.Б. Окнина, “Новый метод оценки тревожно-фобических состояний у крыс”, *Журн. высш. нервн. деятельности*, **43**, № 5, 1006-1017 (1993).
3. Z. A. Kruchenko, V. A. Gorbachenko, I. S. Chereda, et al., “Effect of memantine on motor behavioral phenomena in rats of different ages,” *Neurophysiology*, **46**, 448-451 (2014).
4. V. Gorbachenko, I. Chereda, S. Vrublevsky, et al., “Development and testing of the experimental system for registration of food reflex in rats,” *Bull. Taras Shevchenko Natl. Univ. Kyiv. Ser. Radiophysics and Electronics*, **1/2**, 31-33 (2014).
5. V. A. Gorbachenko, J. O. Kruchenko, I. S. Chereda, et al., “Measurements of the time parameters of conditioned food reflex in rats under memantine treatment with using of automatic registration system,” *Bull. Taras Shevchenko Natl. Univ. Kyiv. Ser. Radiophysics and Electronics*, **1**, 23-26 (2015).
6. Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон, *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*, под ред. проф. А.С. Батуева, Высш. шк., Москва (1991).
7. Д. А. Кулагин, В. Н. Федоров, *Исследование эмоциональности у крыс линии Вистар и Крушинского–Молодкиной методом “открытого поля”*. Генетика поведения, Наука, Ленинград (1969).
8. M. Wohrand and M. L. Scattoni, “Behavioural methods used in rodent models of autism spectrum disorders: current standards and new developments,” *Behav. Brain Res.*, **251**, 5-17 (2013).
9. И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, *Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте*, Вища шк., Київ (1983).
10. А. В. Коросов, В. В. Горбач, *Компьютерная обработка биологических данных*, Изд-во ПетрГУ, Петрозаводск (2007).
11. Н. А. Плохинский, *Биометрия*, Изд-во МГУ, Москва (1970).