

БИОЛОГИЯ СТАРЕНИЯ

"Проблемы старения и долголетия", 2016, 25, № 3. — С. 426–433.

УДК 612.821.3:612.67

В. А. Холин, В. В. Безруков

*Государственное учреждение "Институт геронтологии
им. Д. Ф. Чеботарева НАМН Украины", 04114 Киев*

ВЛИЯНИЕ СОЧЕТАННОЙ ЭМОЦИОНАЛЬНО-КОГНИТИВНОЙ СТИМУЛЯЦИИ НА СОСТОЯНИЕ ЭМОЦИОНАЛЬНОЙ СФЕРЫ СТАРЫХ КРЫС

Оценивали влияние эмоционально-когнитивной стимуляции (ЭКС), по разработанной авторами методике, на состояние эмоциональной сферы старых (28 мес) самок крыс линии Вистар, которые были распределены на три группы по 20 животных в каждой. Крысам основной группы (ЭКС) внутривенно вводили трамадолина гидрохлорид (атипичный частичный опиоидный агонист) с последующими (через 30 мин) тренировками в водном лабиринте Морриса и шестилучевом радиальном водном лабиринте (поиск скрытой под водой платформы). Контрольными были две группы животных: первой проводили когнитивную стимуляцию (тренировки в водных лабиринтах после введения по аналогичной схеме физиологического раствора), второй контрольной группе intactных животных позволяли простое плавание в водных лабиринтах без поиска скрытой платформы. После 23 дней эмоционально-когнитивной стимуляции в основной группе отмечалось существенное уменьшение выраженности тревожного поведения животных, что проявлялось в значительном увеличении посещений открытых рукавов лабиринта ($5,2 \pm 0,5$) по сравнению с контролем ($2,4 \pm 0,7$) и уменьшении количества вертикальных стоек ($10,0 \pm 1,5$ и $2,0 \pm 0,6$, соответственно). Под влиянием проведенной ЭКС по данным теста вынужденного плавания значительно уменьшились проявления депрессивного поведения в основной группе животных. Результаты работы показали, что разработанная модель ЭКС является валидным инструментом для стимуляции мозга, а также

оказывает положительное влияние на состояние эмоциональной сферы старых животных.

Ключевые слова: эмоционально-когнитивная стимуляция, функциональное состояние эмоциональной сферы старых крыс.

Известно, что когнитивная и эмоциональная сферы принимают участие в наиболее сложных видах приспособительной деятельности организма. Кроме того, от уровня функционирования этих систем мозга зависят особенности жизнедеятельности в процессе геронтогенеза. При старении в них развиваются определенные структурно-функциональные изменения, которые могут быть причиной развития тяжелых патологических процессов, значительно снижающих адаптационные возможности старых индивидов. Следует отметить, что эмоциональные и когнитивные процессы имеют очень высокую степень интеграции. Вероятно, этим объясняется и комплексность патологии обеих систем: при нарушении в одной в другой также возникают нарушения. В то же время улучшение функционирования в одной из систем вызывает позитивные изменения в другой. Ряд работ демонстрирует, что активация так называемого мозгового резерва [4–6, 9] может замедлять динамику развития таких изменений, или приводить к их обратному развитию. Существуют данные, свидетельствующие о повышении адаптационных возможностей у лиц пожилого и старческого возраста при стимуляции эмоциональной или когнитивной сфер. Работами В. В. Фролькиса и соавт. [3], В. В. Безрукова и соавт. [1], Ю. Е. Рушкевича и Т. А. Дубилей [2] показаны функциональные изменения при старении ряда мозговых структур, играющих важную роль в поддержании гомеостаза, эмоциональной составляющей поведения и адаптации в целом, которые могут служить мишенями для терапевтических вмешательств. Учитывая эффективность влияния стимуляции положительных эмоциогенных зон и опиоидной системы мозга на функциональное состояние старого организма, а также тесную взаимосвязь эмоциональной и когнитивной систем ЦНС, было целесообразно проанализировать эффективность влияния сочетанной эмоционально-когнитивной стимуляции (ЭКС) на функциональное состояние эмоциональной сферы старых крыс. В качестве вещества стимулирующего эмоциональную сферу был выбран трамадолин, который активирует опиатные рецепторы (мю-, дельта- и каппа-) в головном мозге, а также ингибирует обратный захват катехоламинов в синапсах, замедляет их разрушение, проявляя характерные свойства антидепрессантов. Одним из важных аспектов при выборе данного агента в качестве средства активирующего эмоциональную сферу животных являлось то, что использованная доза не приводила к явлениям аддиктивного поведения.

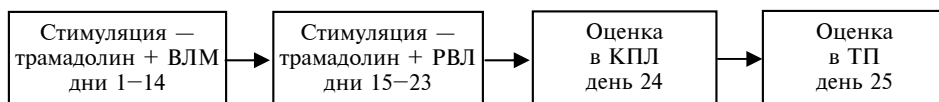
Для стимуляции когнитивной сферы использовали тренировки животных в водном лабиринте Морриса (ВЛМ) и шестилучевом радиальном водном лабиринте (РВЛ). Животному позволялось плавать в бассейне до тех пор пока оно не находило скрытую под водой площадку, но не более

90 с. С каждым животным эту процедуру повторяли в первый день тестирования в лабиринтах 8 раз, а в последующие дни 4 раза.

Целью исследования была оценка влияния ЭКС на функциональное состояние эмоциональной сферы старых крыс.

Материал и методы. Опыты были проведены на 28 месячных самках крыс линии Вистар, которые были распределены на три группы по 20 особей в каждой. Животным основной группы (ЭКС) ежедневно на протяжении всего периода стимуляции (23 дня) за 30 мин до начала тренировок в водных лабиринтах внутривенно вводили трамадолин гидрохлорид из расчета 20 мг/кг. Контролем служили две группы животных: первая из них подвергалась только когнитивной стимуляции (КС) — тренировкам в водных лабиринтах с введением по аналогичной схеме физиологического раствора, вторая представляла группу интактного контроля (К). Начиная с 1-го по 14-й день эксперимента животные с ЭКС и КС тренировались находить в ВЛМ скрытую под водой платформу. Животные группы К помещались в ВЛМ, из которого была убрана скрытая платформа, и просто плавали там в течение 90 с. Начиная с 15-го и по 23-й день животные с ЭКС и КС тренировались находить скрытую под водой платформу в более сложных условиях — в РВЛ [8]. Животные группы К продолжали плавание в РВЛ с удаленной скрытой платформой. По окончании тренировок в РВЛ проводили оценивание состояния эмоциональной сферы: на 24-й день в крестообразном приподнятом лабиринте (КПЛ) и на 25-й день в тесте модели вынужденного плавания Порсолта (ТП) (схема).

Схема эмоционально-когнитивной стимуляции и оценки эмоциональной сферы экспериментальных животных



Тест КПЛ является одним из наиболее общепринятых тестов для характеристики эмоционального состояния экспериментальных животных и позволяет оценить тревожность, параметры оценки риска, исследовательскую активность, эмоциональное состояние, двигательную активность [10]. КПЛ состоит из 4 рукавов длиной 50 см, скрепленных под прямым углом и поднятых на высоту 1 м. Два противоположных рукава открыты, а два других имеют стенки высотой 50 см. Животных помещали на центральную площадку лабиринта и в течение 5 мин регистрировали их поведенческую активность. Учитывали следующие параметры: число заходов в открытые и закрытые рукава лабиринта, количество вертикальных стоек, совершенных животным за весь период тестирования в лабиринте.

Тест вынужденного плавания Порсолта — модель для исследования депрессивных аспектов поведения [7]. Позволяет оценивать эмоциональную составляющую поведения при моделировании ситуации, когда

животное вынуждено плавать, не имея возможности избежать данной ситуации (при отсутствии возможности выбраться из воды). Исследование проводили в стеклянном цилиндре высотой 90 см и диаметром 40 см, который был наполнен водой до уровня 35 см. Температура воды поддерживалась на уровне (26 ± 1) °С. Животное осторожно помещали в емкость с водой и в течение 5 мин оценивали особенности его плавательного поведения: длительность периодов активного плавания, пассивного плавания, периоды полной неподвижности, а также латентный период до наступления первой полной неподвижности, или "зависания" т. е. отсутствия плавательных движений при пассивном удержании головы над водой.

Для определения различий между группами использовали *t*-критерий Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Параметр тревожности является одним из основных при оценке эмоциональной сферы животного в экспериментальных моделях. Модель КПЛ позволяет оценить поведение животного в анксиогенной среде (высота и наличие открытых рукавов и открытой площадки) и таким образом оценить степень уровня его тревоги. Поведение крыс в данной модели оценивали по количеству заходов животных в открытые и закрытые рукава лабиринта (табл. 1). В качестве этологического параметра оценивали количество вертикальных стоек (табл. 2).

Таблица 1

Количество посещений экспериментальными животными открытых и закрытых рукавов крестообразного приподнятого лабиринта за 5 мин

Группа	Открытые рукава	Закрытые рукава
Контроль	$2,4 \pm 0,7$	$6,2 \pm 0,6$
Когнитивная стимуляция	$3,1 \pm 0,2^*$	$4,0 \pm 0,5$
Эмоционально-когнитивная стимуляция	$5,2 \pm 0,5^{*,\#}$	$3,2 \pm 0,2^{*,\#}$

Примечания (здесь и в табл. 2–3): * — $P < 0,05$ по сравнению с контролем, # — $P < 0,05$ по сравнению с группой когнитивная стимуляция

Таблица 2

Количество вертикальных стоек при тестировании экспериментальных животных в крестообразном приподнятом лабиринте за 5 мин

Группа	Вертикальные стойки
Контроль	$10,0 \pm 1,5$
Когнитивная стимуляция	$4,5 \pm 0,2^*$
Эмоционально-когнитивная стимуляция	$2,0 \pm 0,6^{*,\#}$

Анализируя данные поведенческих профилей животных трех групп в КПЛ, отмечено два разных типа эмоционального поведения. Так, животные контрольной группы проявляли признаки преимущественно тревожного паттерна поведения, вызванного помещением их в анксиогенную среду. В то же время, группы с когнитивной и эмоционально-когнитивной стимуляцией в модели КПЛ демонстрировали паттерны с высоким удельным весом исследовательского поведения и значительно

менее выраженным тревожным компонентом, эффект которого был более выражен в группе, где была использована сочетанная стимуляция эмоциональной и когнитивной сфер (см. табл. 1, 2).

Влияние эмоционально-когнитивных тренировок на эмоциональную сферу было оценено в модели выученной беспомощности (*learned helplessness*) — тесте Порсолта, которая позволяет оценить депрессивный компонент в поведенческой активности животных и определенным образом характеризует состояние эмоциональной сферы. Основными параметрами, которые оценивают эмоциональную составляющую поведения в данной модели, являются латентность появления первой иммобильности и общая продолжительность периодов неподвижности животного во время плавания (табл. 3).

Таблица 3

Основные параметры теста вынужденного плавания Порсолта в исследуемых группах экспериментальных животных за 5 мин, с

Группа	Латентный период наступления иммобильности	Общая продолжительность иммобильности
Контроль	61,3 ± 6,1	198,0 ± 15,0
Когнитивная стимуляция	74,5 ± 3,9	148,0 ± 9,0*
Эмоционально-когнитивная стимуляция	81,0 ± 6,6*	58,0 ± 8,0*.#

Результаты эксперимента свидетельствуют о том, что суммарное время иммобильности изменялось однонаправленно как в группе с когнитивной тренировкой, так и в группе с эмоционально-когнитивной стимуляцией. В то же время, величина антидепрессивного эффекта оказалась максимальной в группе с ЭКС. Латентный период появления первого "зависания" выявил достоверные различия только при сравнении группы ЭКС и контроля, хотя имела место тенденция к увеличению латентного периода также при сравнении основной группы и группы когнитивной тренировки.

Анализ характера поведения экспериментальных групп животных в данной модели показал, что тренировки познавательных функций в отдельности, а также их сочетание со стимуляцией эмоциогенных структур мозга, связанных в том числе с генерацией положительных эмоций, позитивно влияют на поведение, что указывает на отчетливый антидепрессивный эффект. Данный эффект может быть реализован как через норадренергические механизмы нейротрансмиссии, так и с вовлечением серотонинергических компонентов, что видно из профиля анализа поведенческой активности в тесте Порсолта (значительное уменьшение периодов иммобильности). Нельзя исключить и того, что в реализации эффекта могут принимать участие и другие механизмы, связанные с процессами нейрогенеза и нейропластичности, индуцированные стимуляционными процедурами.

При анализе эффектов стимуляции мозга старых экспериментальных животных обращает на себя внимание комплексный характер по-

зитивных изменений, наблюдаемый в группе ЭКС. При сравнении с контрольной группой, в результате стимуляционных процедур значительные позитивные изменения наблюдались в эмоциональной сфере, что выражалось в значительном анксиолитическом и антидепрессивном профиле поведения стимулируемых животных.

Таким образом, результаты эксперимента отчетливо демонстрируют преимущества сочетанного воздействия на эмоциональную сферу старых экспериментальных животных. Анализ эффектов ЭКС у животных позволяет предположить, что они реализуются с участием опиоидной, моноаминовой и холинергической систем мозга.

Список использованной литературы

1. Безруков В. В., Дубилей Т. А., Рушкевич Ю. Е. Роль эмоциогенных зон гипоталамуса в геронтогенезе // Пробл. старения и долголетия. — 2008. — 17, № 2. — С. 115–128.
2. Рушкевич Ю. Е., Дубилей Т. А. Адаптогенное действие хронической электрической стимуляции латеральной гипоталамической области у старых крыс // Пробл. старения и долголетия. — 2006. — 15, № 1. — С. 3–12.
3. Фролькис В. В., Рушкевич Ю. Е., Дубилей Т. А. и др. Латеральная гипоталамическая область: особенности старения и влияние хронической электро-стимуляции на продолжительность жизни крыс // Нейрофизиология. — 2000. — 3, № 4. — С. 314–321.
4. Grant A., Dennis N. A., Li P. Cognitive control, cognitive reserve, and memory in the aging bilingual brain // Front. Psychol. — 2014. — 5. — doi: 10.3389/fpsyg.2014.01401.
5. Laks J. Dementia and the protective role of cognitive reserve // Arq. Neuropsiquiatr. — 2015. — 73. — doi: 10.1590/0004-282X20150091.
6. Lojo-Seoane C., Facal D., Juncos-Rabadán O. Does intellectual activity prevent cognitive impairment? Relationships between cognitive reserve and mild cognitive impairment // Rev. Esp. Geriatr. Gerontol. — 2012. — 47, № 6. — P. 270–278.
7. Porsolt R. D., Anton G., Blavet N., Jalfre M. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments // Eur. J. Pharmacol. — 1978. — 47, № 4. — P. 379–391.
8. Shukitt-Hale B., McEwen J. J., Szprengiel A., Joseph J. A. Effect of age on the radial arm water maze — a test of spatial learning and memory // Neurobiol. Aging. — 2004. — 25, № 2. — P. 223–229.
9. Tucker A. M., Stern Y. Cognitive reserve in aging // Curr. Alzheimer Res. — 2011. — 8, № 4. — P. 354–360.
10. Wolf A. A., Frye C. A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents // Nat. Protoc. — 2007. — 2, № 2. — P. 322–328.

Поступила 16.05.2016

ВПЛИВ ПОЄДНАНОЇ ЕМОЦІЙНО-КОГНІТИВНОЇ СТИМУЛЯЦІЇ НА СТАН ЕМОЦІЙНОЇ СФЕРИ СТАРИХ ЩУРІВ

В. О. Холин, В. В. Безруков

Державна установа "Інститут геронтології
ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України", 04114 Київ

Оцінювали вплив емоційно-когнітивної стимуляції (ЕКС), за розробленою авторами методикою, на стан емоційної сфери старих (28 міс) самок щурів лінії Вістар, які були розподілені на три групи по 20 тварин у кожній. Щурам основної групи (ЕКС) внутривенно вводили трамадоліна гідрохлорид (атиповий частковий опіодійний агоніст) з наступними (через 30 хв) тренуваннями у водному лабіринті Морріса та шестипроменевому радіальному водному лабіринті (пошук прихованої під водою платформи). Контрольними були дві групи тварин: першій проводили лише когнітивну стимуляцію (тренування в водних лабіринтах після введення за аналогічною схемою фізіологічного розчину), другій контрольній групі інтактних тварин дозволяли просте плавання у водних лабіринтах без пошуку прихованої платформи. В результаті 23-денної емоційно-когнітивної стимуляції в основній групі відзначалося істотне зменшення вираженості тривожної поведінки тварин, що проявлялося в значному збільшенні відвідувань відкритих рукавів трохи піднятого хрестоподібного лабіринту ($5,2 \pm 0,5$) у порівнянні з контролем ($2,4 \pm 0,7$) і зменшенні кількості вертикальних стійок ($10,0 \pm 1,5$ і $2,0 \pm 0,6$, відповідно). Під впливом проведеної ЕКС за даними тесту вимушеного плавання значно зменшилися прояви депресивної поведінки в основній групі тварин. Результати роботи показали, що розроблена модель ЕКС є валідним інструментом для стимуляції мозку, а також справляла позитивний вплив на стан емоційної сфери старих тварин.

INFLUENCE OF COMBINED COGNITIVE-EMOTIONAL STIMULATION ON EMOTIONAL SPHERE STATE IN OLD RATS

V. A. Kholin, V. V. Bezrukov

State institution "D. F. Chebotarev Institute of Gerontology
NAMS Ukraine", 04114 Kyiv

In article were assessed the impact of the combined emotional and cognitive stimulation (ECS), developed by the authors, on the state of emotional sphere of old (28 months) female Wistar rats, which were divided into three groups of 20 animals each. The rats in the study group (ECS) were injected intraperitoneally with tramadol hydrochloride (atypical opioids partial agonist) followed (after 30 min) by training in Morris and radial water

maze pools (searching hidden under water platform). The controls were two groups of animals: the first was carried out only cognitive stimulation (training in the water maze pool after introduction saline by a similar scheme) and second control group of intact animals, that is allowed swimming in water maze pool without searching for the hidden platform. Thus, 23 day emotional and cognitive stimulation in the study group had a significant reduction in anxiety severity behavior of the animals, which was manifested in a significant increase in visits to the open arms of the elevated plus maze (5.2 ± 0.5) compared to controls (2.4 ± 0.7) and decreasing the number of vertical uprights (10.0 ± 1.5 vs 2.0 ± 0.6 , respectively). The animals performance in Porsolt forced swim test significantly reduced symptoms of depressive behavior in the main group with ECS. The results showed that the developed model ECS is valid instrument of the brain stimulation, as well as having a positive impact on the emotional satate of old animals.

Сведения о авторах:

В. В. Безруков — директор института, зав. лабораторией физиологии, акад. НАМН Украины

В. А. Холин — к.мед.н., с.н.с. лаб. физиологии (victorkholin@yahoo.com)