

УДК [599.325.1:615.777.9]-08:612.273.2(001.13)

## ИЗУЧЕНИЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ У СТАРЫХ КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ГИПОКСИТЕРАПИИ

**Балабекова М.К., Рыспекова Н.Н., Жукешева М.К.,  
Аскарова А.Е., Нурмухамбетов А.Н.**

*Казахский Национальный Медицинский Университет им. С.Д. Асфендиярова,  
Алматы, e-mail: balabekovamarina@mail.ru*

В работе исследовано влияние гипокситерапии на поведенческие реакции молодых и старых крыс. Проведены 4 серии экспериментов, в каждой серии было по 10 животных. Воздействие нормобарической гипоксии продолжали в течение 21 суток экспозицией один час. Модель нормобарической гипоксии создавали при помощи гипоксикатора, дозирующего поступление атмосферного воздуха с 10% содержанием кислорода. Изучение поведенческих реакций опытных крыс проводили в тесте «открытого поля», в водном лабиринте, а также с помощью РАИ и РПИ. Установлено, что недельное прекондиционирование гипоксией существенно улучшало поведенческие реакции молодых особей в тесте «открытое поле» и оказывало анти-тревожное, антистрессорное действие, повышало горизонтальную двигательную активность, значительно улучшало процессы научения и запоминания вновь приобретенных навыков в реакциях активного избегания. У старых животных под влиянием гипоксии отмечалось более выраженное тревожное состояние и состояние сильного эмоционального беспокойства, ослабевала врожденная реакция избегания яркого света, не изменялись процессы обучения и запоминания энграмм памяти РАИ. Выявлено, что у старых особей под влиянием гипоксии, в отличие от молодых, сохранялась вертикальная двигательная исследовательская активность. Тренировки к гипоксии не оказывали положительного влияния на пространственную память в водном лабиринте, как у молодых, так и у старых животных.

**Ключевые слова:** поведенческие реакции, старые крысы, гипокситерапия, нормобарическая гипоксия, память

## STUDY OF BEHAVIORAL REACTIONS OF OLD RATS TREATED WITH HYPOXIA

**Balabekova M.K., Ryspekova N.N., Zhukesheva M.K.,  
Askarova A.E., Nurmuhambetov A.N.**

*Asfendiyarov Kazakh National Medical University, Almaty,  
e-mail: balabekovamarina@mail.ru*

The effects of hypoxotherapy on the behavioral responses of young and old rats have been investigated in 4 series of experiments. Each series included 10 animals. The influence of normobaric hypoxia continued during 21 days, with one hour exposure. The model of normobaric hypoxia was created by hypoxicator, dosing intake of atmospheric air with 10% content of oxygen. Behavioral reactions of the experimental rats were investigated in the tests of "open field", water labyrinth, and by reactions of active and passive avoidance. It has been established that week hypoxic preconditioning significantly improved behavioral responses of young rats in the test of "open field" and provided anti-anxiety, anti-stress effects, increased horizontal locomotor activity, significantly improved learning and memory processes in reactions of active avoidance. Old animals under the influence of hypoxia showed intensive emotional anxiety, decreased congenital avoidance reaction to bright light. The processes of learning and memory in reaction of active avoidance did not change. Under the influence of hypoxia old rats, in contrast to the young ones, kept vertical motor-research activity. Hypoxic training did not have a positive influence on spatial memory in the water labyrinth in both young and old animals.

**Keywords:** behavioral responses, old rats, hypoxotherapy, normobaric hypoxia, memory

Исследования последних лет доказали возможность использования гипоксической тренировки и гипокситерапии (лечение и реабилитация больных) в клинической практике [3,5,7]. Поскольку гипоксия является ключевым механизмом развития большинства патологических процессов и болезней, тренировка гипоксией с целью увеличения функциональных резервов компенсаторных антигипоксических реакций рассматривается как один из основных немедикаментозных способов адаптационной медицины [1,4]. Сформировавшееся в процессе адаптации к гипоксии новое функциональное состояние охватывает все органы

и ткани организма и обеспечивает повышение резистентности ко многим другим факторам, т.е. развивается эффект перекрестной адаптации [2,6]. Возможности гипоксических тренировок запускать адаптивные реакции организма при тяжелых последствиях ишемических повреждений головного мозга больных, оказывать влияние на кинетику кислородного метаболизма, активизировать деятельность жизненно важных систем организма и т.д. предопределили цель настоящего исследования: изучить влияние нормобарической гипоксии на поведенческие реакции молодых и старых крыс в сравнении.

### Материал и методы исследования

Работа выполнена в рамках международного проекта «Изучение гемотоксического влияния тяжелых металлов и возможности активации защитно-приспособительных механизмов организма при помощи нормо- и гипобарической гипоксии у взрослых и старых животных в сравнении» (научный руководитель проф. А.А. Аканов) при финансовой поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан.

Эксперименты выполнены на 40 белых крысах-самцах массой 180-220 и 280-340 г., содержащихся в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе. Проведены 4 серии экспериментов: 1 серия – молодые интактные животные (контроль); 2 серия – молодые животные, подвергавшиеся воздействию нормобарической гипоксии; 3 серия – старые интактные животные (контроль); 4 серия – старые животные, подвергавшиеся воздействию нормобарической гипоксии. В каждой серии было по 10 животных. Воздействие нормобарической гипоксии продолжали в течение 21 суток экспозицией один час. Модель нормобарической гипоксии создавали при помощи гипоксикатора, дозирующего поступление атмосферного воздуха с 10 % содержанием кислорода. Для этого гипоксикатор присоединяли шлангом к баллону с азотом, второй шланг присоединяли с ящиком (с выходным вентилляционным отверстием), куда помещали опытных животных. Объем ящика был специально рассчитан на количество помещаемых крыс. Изучение поведенческих реакций опытных крыс проводилось в тесте «открытого поля», в водном лабиринте, а также с помощью реакций активного избегания (РАИ) и реакций пассивного избегания (РПИ). Исследования проводились с соблюдением норм и правил проведения экспериментов с участием животных (решение ЛЭК КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова протокол №2 от 18.04.2013г.).

Процедуры статистического анализа выполнялись с помощью ППП SPSS-16. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принималось равным 0,05, либо 0,1. В случае превышения достигнутого уровня значимости статистического критерия этой величины, принималась нулевая гипотеза.

### Результаты и их обсуждение

Оценку эмоционального состояния, двигательную и исследовательскую активность экспериментальных животных изучали по характеру их поведения в тесте «открытого поля». В качестве поведенческих феноменов в открытом поле регистрировали горизонтальную двигательную активность по количеству пересеченных квадратов, вертикальную активность по числу подъемов на задние лапы с опорой и без опоры, эмоциональный статус по количеству дефекационных болюсов и умываний, исследовательский интерес по количеству актов «обнюхиваний».

В ходе проведенных экспериментальных исследований был изучен поведенческий репертуар молодых и старых животных, подвергавшихся гипокситерапии, в сравнении.

У молодых животных, подверженных нормобарической гипоксии, как в первом, так и во втором опытных сеансах практически полностью отсутствовала реакция замирания (фризинг), рассматриваемая как показатель сильного стресса, тогда как у контрольных крыс медиана и интерквартильный размах «времени фризинга» в первом опытных сеансе составляли 124 и 97,2-149,5 ( $p=0,012$ ), а во втором – 52 и 25-63,2 ( $p=0,012$ ). У них во втором опытных сеансе отмечалось увеличение показателя кроссинга в 1,5 раза по сравнению как с первым опытных сеансом ( $p=0,005$ ), так и по сравнению с контролем в 1,3 раза. К этому сроку исследования у опытных крыс статистически значимо повышалось и время нахождения в центре поля на 75 % ( $p=0,049$ ,  $z=-1,973$ ) по сравнению с контролем, что характеризует в поведении этих животных высокую скорость привыкания к новой обстановке. Вместе с тем, у этих крыс отмечалось значимое угнетение суммарной вертикальной двигательной активности в оба срока исследования. Так, они не совершали ни одной попытки стойки на задние лапы, как без опоры, так и с опорой. Под влиянием гипоксии молодые крысы больше времени уделяли гигиеническому ритуалу, о чем судили по увеличению акта груминга, продолжительность которого в оба срока исследования на 67,8 % ( $p=0,012$ ) и 53,6 % ( $p=0,060$ ) соответственно превышала контрольные значения. Исходя из предшествовавшего поведения крыс, как то: низкий уровень тревожности и эмоциональности, нарастание кроссинга, задержка в центре поля, мы вправе придать адаптивное значение акту «груминга», т.к. по характеру поведения он близок к состоянию комфорта и покоя.

Таким образом, анализ поведенческого репертуара молодых особей в тесте «открытого поля» показал, что гипоксическая тренировка, по-видимому, повышает у крыс способность к поведенческой саморегуляции, тем самым оказывая адаптивное влияние.

Исследования реакции пассивного избегания (РПИ) у опытных крыс не выявили существенного различия, по сравнению с контролем, как в первом, так и во втором опытных сеансах, тогда как гипоксическое прекондиционирование значительно улучшало процессы научения и запоминания вновь приобретенных навыков в реакциях активного избегания (РАИ). При этом число правильных реакций более чем в 3,5 раза превышало контрольные значения во время обучения и на 32,3 % ( $p=0,05$ ) во время проверки РАИ. Аналогичные данные описаны [2]. Вместе с тем, у молодых крыс под влия-

нием гипоксии пространственная память в водном лабиринте не улучшалась.

Регистрация поведенческих актов старых крыс в тесте «открытого поля» показала присутствие у них двигательного и исследовательского компонентов поведения в первом опытном сеансе, тогда как во втором отмечались признаки тревожно-депрессивного состояния. У старых крыс отмечалась низкая пространственно-ориентировочная память по сравнению с молодыми животными.

Показатели кроссинга у старых крыс, подвергавшихся воздействию гипоксии, были в 5 раз меньше показателей старых интактных крыс ( $p=0,022$ ,  $z=2,293$ ) (табл.1). Опытные особи совершали в 2,3 раза больше движений на месте, чем контрольные животные ( $p=0,005$ ,  $z=2,803$ ), и они в 5,5 раз дольше находились в центре поля ( $p=0,017$ ,  $z=-2,392$ ). Эти данные позволяют предположить, что у старых особей под влиянием ги-

поксии отмечается более выраженное тревожное состояние. Присутствие в поведенческом репертуаре актов «движения на месте» характеризует состояние сильного эмоционального беспокойства,

Во втором опытном сеансе коррекция гипоксией не улучшала эмоциональное состояние старых крыс (табл.2). Так, количество актов «замираний» превышало показатели интактных старых животных более чем в 3 раза ( $p=0,007$ ,  $z=-2,701$ ), хотя время фризинга сокращалось в 2 раза ( $p=0,028$ ,  $z=-2,193$ ), что свидетельствовало о присутствии у них эмоционально-депрессивного компонента в поведении.

Тем не менее, следует отметить, что у старых крыс под влиянием гипоксии сохранялась вертикальная двигательная активность, тогда как у молодых крыс, подвергавшихся гипокситерапии, она вовсе отсутствовала.

Таблица 1

Основные статистические показатели поведенческих реакций старых интактных крыс и старых крыс с гипокситерапией в первом опытном сеансе теста «открытого поля»

Показатель поведенческого акта	Старые интактные		Старые + гипоксия		Wilcoxon 2 – Sample Test
	Me	25 %-75 %	Me	25 %-75 %	
Кол-во наружных квадратов	43,2	19,8-42,5	8,5	4,5-22,0	0,022** $z=-2,293$
Время в центре	2,0	2,0-2,0	11,0	5,8-14,0	0,017** $z=-2,392$
Движения на месте	22,5	14,0-22,5	56,0	46,0-96,0	0,005** $z=-2,803$
Кол-во болюсов	4,0	1,5-4,0	0,5	0-10	0,031** $z=-2,153$
Кол-во обнюхиваний	318,0	301,0-318,0	299,5	289,2-317,2	0,019** $z=-2,346$

Примечание: \*\* – по Wilcoxon 2 – Sample Test статистическая значимость по отношению к старым интактным

Таблица 2

Основные статистические показатели поведенческих реакций старых интактных крыс и старых крыс с гипокситерапией во втором опытном сеансе теста «открытого поля»

Показатель поведенческого акта	Старые интактные		Старые + гипоксия		Wilcoxon 2 – Sample Test
	Me	25 %-75 %	Me	25 %-75 %	
Кол-во болюсов	3,0	0,8-3,5	0	0-1,0	0,020** $z=-2,322$
Кол-во замираний	55,0	22,5-58,0	168,5	134,5-224,2	0,007** $z=-2,701$
Время фризинга	138,5	98,8-140,0	68,5	55,5-88,8	0,028** $z=-2,193$

Примечание: \*\* – по Wilcoxon 2 – Sample Test статистическая значимость по отношению к старым интактным

Результаты исследований врожденного норкового рефлекса с помощью РПИ показали, что медиана пребывания в освещенном отсеке установки старых животных, подвергавшихся воздействию гипоксии, составила 26,0 с. (интерквартильный размах от 13,5 до 31,0), что было статистически значимо больше времени пребывания старых интактных и

молодых особей с гипокситерапией на 147,6 % ( $p=0,028$ ,  $z=-2,192$ ) и 92,6 % ( $p=0,037$ ,  $z=-2,091$ ) соответственно (табл.3). Эти данные указывают, что под влиянием гипокситерапии у старых крыс ослабевала врожденная реакция избегания яркого света. В то же время процессы закрепления и воспроизведения энграмм памяти РПИ не изменялись.

**Таблица 3**

Распределение средних показателей РАИ у молодых и старых животных, подвергавшихся воздействию нормобарической гипоксии

Показатель РАИ	Молодые с гипокситерапией		Старые интактные		Старые с гипокситерапией		Wilcoxon 2 –Sample Test
	N	Me (25 %-75 %)	N	Me (25 %-75 %)	N	Me (25 %-75 %)	
<b>Выработка</b>							
Число избеганий	10	18,5 (5,8-23,0)	10	4,5 (0,8-13,2)	10	3,5 (1,8-13,5)	0,878** 0,028***** $z=-2,191$
<b>Проверка</b>							
Число избеганий	10	32,0 (23,5-35,2)	10	22,5 (10,2-30,5)	10	21,5 (15,8-34,2)	0,799** 0,221*****

Примечание: \*\* – по Wilcoxon 2 –Sample Test статистическая значимость по отношению к старым интактным, \*\*\*\*\* – по отношению к молодым с гипоксией

Как видно из таблицы 3, в первом опытном сеансе у старых животных с гипокситерапией существенно нарушались процессы обучения РАИ, о чем свидетельствовало уменьшение числа правильных реакций избегания в 5,3 раза по сравнению с молодыми особями ( $p=0,028$ ,  $z=-2,191$ ). Проверка закрепления временных связей РАИ через неделю выявила прирост числа реакций избегания, в 6,1 раза превышавший собственные данные предыдущего срока, однако они ничем не отличались от показателей интактных старых крыс и отставали от показателей молодых особей с гипокситерапией на 48,8 % ( $p=0,221$ ). Таким образом, гипокситерапия у старых особей не оказывала существенного влияния на процессы обучения и запоминания энграмм памяти РАИ.

Исследования у старых животных с гипокситерапией пространственно-ориентировочной памяти в водном лабиринте не выявили выраженного защитного эффекта

**Заключение**

На основании приведенных экспериментальных данных можно заключить, что 3-х недельное прекондиционирование гипоксией существенно улучшало поведенческие реакции молодых особей в тесте «открытое поле» и оказывало антитревожное, антистрессорное действие, повышало горизонтальную двигательную активность, зна-

чительно улучшало процессы научения и запоминания вновь приобретенных навыков в реакциях активного избегания, тогда как у старых животных под влиянием гипоксии отмечалось более выраженное тревожное состояние и состояние сильного эмоционального беспокойства, ослабевала врожденная реакция избегания яркого света, не изменялись процессы обучения и запоминания энграмм памяти РАИ. Тем не менее, следует отметить, что у старых особей под влиянием гипоксии, в отличие от молодых, сохранялась вертикальная двигательно-исследовательская активность. Тренировки к гипоксии не оказывали положительного влияния на пространственную память в водном лабиринте, как у молодых, так и у старых животных.

**Список литературы**

1. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации / Ф.З. Меерсон. – М: Нурохиа Medical Lxd, 1993. – 331 с.
2. Пшенникова М.Г., Попкова Е.В., Покидышев Д.А и др. Влияние адаптации к гипоксии на устойчивость к нейродегенеративному повреждению мозга у крыс разных генетических линий // Вестник Российской Академии медицинских наук. – 2007. – № 2. – С. 50-55.
3. Серебровская Т.В., Никольский И.С., Ишук В.А., Никольская В.В. Адаптация человека к периодической гипоксии: влияние на гемопозитические стволовые клетки и иммунную систему // Вестник международной академии наук (русская секция). – 2010. – № 2. – С. 12-18.

4. Солкин А.А., Белявский Н.Н., Кузнецов И.И., Николаева А.Г. Основные механизмы формирования защиты головного мозга при адаптации к гипоксии // Вестник ВГМУ. – 2012. – Том 11, № 1. – С. 6-14.

5. Цыганова Т.Н., Бобровицкий И.П. Лечение анемии адаптацией к гипоксии в условиях курорта Нальчик и при использовании нормобарической интервальной гипоксической тренировки // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2004. – № 2. – С. 41-42.

6. Dongdong Li, Tao Baj, James R. Brorson. Adaptation to moderate hypoxia protects cortical neurons against ischemia-reperfusion injury and excitotoxicity independently of HIF-1 $\alpha$  // Experimental Neurology. – 2011. – Vol. 230, Issue 2. – P. 302-310.

7. Hmwe Kyu, Katholiki Georgiades, Michael H. Boyle. Biofuel Smoke and Child Anemia in 29 Developing Countries: A Multilevel Analysis // Annals of Epidemiology. – 2010. – Vol. 20, Issue 11. – P. 811-817.

### References

1. Meerson, F.Z. Adaptacionnaya medicina: mexanizmy i zashhitnye e'ffekty adaptacii / F.Z. Meerson. – M: Hypoxia Medical Lxd, 1993.–331 s.

2. Pshennikova M. G., Popkova E.V., Pokidyshev D.A i dr. Vliyanie adaptacii k gipoksii na ustojchivost' k nejrodegenerativnomu povrezhdeniyu mozga u krys raznyx geneticheskix linij // Vestnik Rossijskoj Akademii medicinskix nauk. – 2007, № 2. – С. 50-55.

3. Serebrovskaya T.V., Nikol'skij I.S., Ishhuk V.A., Nikol'skaya V.V. Adaptaciya cheloveka k periodicheskoj gipoksii: vliyanie na gemopoe'ticheskie stvolovye kletki i immunnuyu

sistemu // Vestnik mezhdunarodnoj akademii nauk (russkaya sekciya). – 2010. – № 2.- S. 12-18.

4. Solkin A.A., Belyavskij N.N., Kuznecov I.I., Nikolaeva A.G. Osnovnye mexanizmy formirovaniya zashhity golovnogo mozga pri adaptacii k gipoksii // Vestnik VGMU. – 2012. – Том 11, № 1. – С. 6-14.

5. Cyganova T.N., Bobrovickij I.P. Lechenie anemii adaptaciej k gipoksii v usloviyax kurorta Nal'chik i pri ispol'zovanii normobaricheskoj interval'noj gipoksicheskoj trenirovki // Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoj fizicheskoj kul'tury. – 2004. – № 2. – С. 41-42.

6. Dongdong Li, Tao Baj, James R. Brorson. Adaptation to moderate hypoxia protects cortical neurons against ischemia-reperfusion injury and excitotoxicity independently of HIF-1 $\alpha$  // Experimental Neurology. – 2011. – Vol. 230, Issue 2. – P. 302-310.

7. Hmwe Kyu, Katholiki Georgiades, Michael H. Boyle. Biofuel Smoke and Child Anemia in 29 Developing Countries: A Multilevel Analysis // Annals of Epidemiology. – 2010. – Vol. 20, Issue 11, P. 811-817.

### Рецензенты:

Пичхадзе Г.М., д.м.н., профессор, зав. кафедрой фармакологии КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы;

Шортанбаев А.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой иммунологии КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы.

Работа поступила в редакцию 06.06.2014.