

УДК 616-073-072.8-092.9

КОМПЛЕКСНАЯ ВАЛИДАЦИОННАЯ ОЦЕНКА НОВОГО МЕТОДИЧЕСКОГО ПОДХОДА К ИЗУЧЕНИЮ ФИЗИЧЕСКОГО И ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО ПЕРЕНАПРЯЖЕНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

¹Воронков А.В., ¹Поздняков Д.И., ²Воронкова М.П.

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт-филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет», Пятигорск, e-mail: prohor77@mail.ru;

²ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет», Волгоград

Проведена оценка нового подхода к изучению физического и психоэмоционального перенапряжения. Исследование проводилось на беспородных мышках-самцах, подвергавшихся 10-дневной физической нагрузке в тесте «принудительное плавание с 20%-й нагрузкой от массы тела животного». Впоследствии оценивали психоэмоциональное состояние и локомоторную активность мышей в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт». Для оценки некоторых показателей общего обмена проводили клинический анализ крови и мочи. В результате исследования установлено значительное снижение работоспособности (продолжительность плавания на 10-й день по сравнению с исходным значением статистически достоверно снизилась на 48,2%, по сравнению с интактными животными – на 53,4%). Оценка психоэмоционального статуса выявила повышение уровня тревожности и снижение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности мышей после перенесенных нагрузок. В периферической крови группы животных, подвергавшихся истощающим физическим и психоэмоциональным нагрузкам, по сравнению с интактной группой наблюдался выраженный лейкоцитоз (содержание лейкоцитов возросло на 46,36%), кроме того, в моче отмечалась выраженная протеинурия (содержание белка в моче составило $0,94 \pm 0,025$ г/л) и кетонурия (обнаружены кетоновые тела $0,325 \pm 0,083$ ммоль/л). Данные, полученные на 10-й день эксперимента, свидетельствуют о перенесенных животными нагрузках, следовательно, новый методический подход к изучению физического и психоэмоционального перенапряжения в 10-дневный период с использованием 20%-й нагрузки от массы тела животного можно считать валидным.

Ключевые слова: физическая нагрузка, психоэмоциональное перенапряжение, открытое поле, приподнятый крестообразный лабиринт, принудительное плавание

COMPREHENSIVE VALIDATION ASSESSMENT OF A NEW METHODOLOGICAL APPROACH TO THE STUDY OF PHYSICAL AND MENTAL STRAIN IN THE EXPERIMENT

¹Voronkov A.V., ¹Pozdnyakov D.I., ²Voronkova M.P.

¹Pyatigorsk medical and pharmaceutical Institute-a branch of state educational institution of higher professional education «Volgograd state medical University», Pyatigorsk, e-mail: prohor77@mail.ru;

²Volgograd state medical University, Volgograd

Evaluated a new approach to the study of the physical and stress strain. The study was carried out on outbred mice -males exposed to 10 daily physical activity in forced swimming test with 20% by mass of the animal body. Subsequently estimated emotional state and locomotor activity of mice in tests of the «open field» and «elevated cross maze». To assess some indicators General exchange of clinical analysis of blood and urine. The study found a significant reduction in health (the duration of the voyage on the 10th day, compared with the baseline value statistically significantly decreased 48,2%, compared with intact animals at 53,4 percent). Assessment of emotional status showed elevated levels of anxiety, and reduced physical and approximately-research activity of mice after suffering loads. In the peripheral blood of animals exposed to debilitating physical and emotional stress, compared to non-treated group showed marked leukocytosis (white blood cell count increased by 46,36 %), in addition to urine marked proteinuria (protein in the urine was $0,94 \pm 0,025$ g/l) and ketonuria (found ketones $0,325 \pm 0,083$ mmol/l). Data obtained on the 10th day of the experiment indicate loads transferred animals, therefore, a new methodological approach to the study of physical and stress strain in the 10-day period using 20% of the load from the body weight of the animal, can be considered valid.

Keywords: physical activity, stress, open field, elevated cross maze, forced swimming

В современных условиях лекарственные средства используются не только для лечения и коррекции патологических состояний, но и практически здоровыми людьми с целью адаптации к изменяющимся условиям среды, улучшения качества жизни [1]. Примером может служить фармакологическое обеспечение спортсменов, людей экстремальных профессий (космонавты, альпинисты, шахтеры, личный состав во-

енизированных формирований и т.д.), профилактика психоэмоциональных и физических нарушений при смене климатических и часовых поясов и т.д. [5].

Для оценки перенесенных физических и стрессовых нагрузок существует большое количество различных методик [4]. Однако ввиду индивидуальных особенностей организма животного в экспериментальных условиях не всегда представляется возмож-

ным адекватно оценить степень перегрузок, поэтому актуальной становится разработка новых методических подходов к изучению психоэмоционального и физического перенапряжения.

Цель работы

Цель данного исследования состояла в комплексной валидационной оценке нового методического подхода к изучению физического и психоэмоционального перенапряжения в эксперименте.

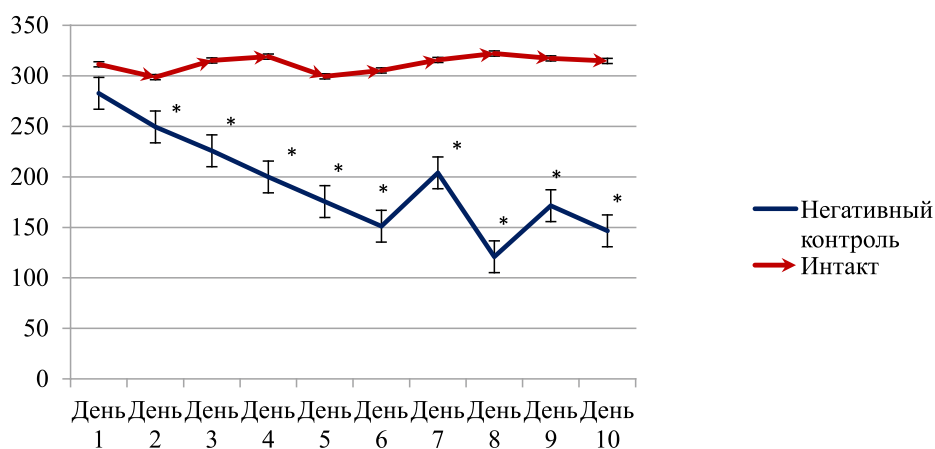
Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на 45 беспородных мышках-самцах, массой 20–25 граммов, разделенных на 2 группы. Первая группа – 30 интактных животных. Вторая группа – 15 мышей (группа негативного контроля), в течение 10 дней подвергалась физическим нагрузкам в тесте «принудительное плавание «до отказа» с модифицированной 20%-й нагрузкой от массы тела животного. Интактные животные также подвергались принудительному плаванию с аналогичной нагрузкой группами по 10 мышей, с периодами отдыха. Плавание осуществлялось в цилиндре диаметром 10 см и высотой 30 см с водой температурой 15 °C (аверсивная среда). Время плавания фиксировалось. Для оценки психоэмоционального статуса использовали тесты «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» в начале эксперимента и по истечении 10-дневного плавания. Для оценки состояния некоторых показателей общего обмена проводили клинический анализ крови с использованием анализатора Mindray BC-2800Vet и клинический анализ мочи на анализаторе CL-50 URINE ANALYZER. Результаты опытов выражали в % к интактной группе. Статистическую обработку данных осуществляли путем проверки данных на нормальность распределения с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. В случае нормального распределения использовали параметрический t-критерий Стьюдента. При ненормальном распределении дальнейшую статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Манна-Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение

В группе интактных мышей исходное время плавания составило $311,32 \pm 17,352$ сек. На протяжении всех 10 дней эксперимента продолжительность плавания интактной группы мышей оставалась практически неизменной (рисунок).

Исходное время плавания группы негативного контроля составляло $282,65 \pm 24,389$ сек. Начиная со второго дня продолжительность плавания данной группы животных уменьшалась практически линейно, до значения $151,15 \pm 16,387$ сек, что соответствует 6-му дню плавания с нагрузкой. Таким образом, на 6-й день эксперимента продолжительность плавания мышей группы негативного контроля уменьшилась на 46,5% относительно исходного значения и на 50,5% относительно интактной группы. Изменения носили достоверный характер ($P \leq 0,05$). На седьмой день в группе мышей, ежедневно подвергавшихся плаванию с 20%-й нагрузкой, наблюдалось увеличение работоспособности. Так, время плавания возросло, до $204 \pm 23,191$ сек, что составляет 125,9% относительно 6-го дня плавания данной группы животных. Однако затем у группы негативного контроля наблюдалось дальнейшее снижение продолжительности принудительного плавания, до $121 \pm 11,801$ сек, т.е. на 40,69% относительно времени 6-го дня плавания данной группы мышей и на 62,4% по сравнению с интактной группой (рисунок). На 10-й день в группе негативного контроля продолжительность плавания статистически достоверно ($P \leq 0,05$) снизилась на 48,2% относительно исходного значения и на 53,4% по сравнению с интактной группой.



Продолжительность плавания интактных животных и группы негативного контроля.

Примечание. * – достоверно относительно интактной группы ($P \leq 0,05$)

При оценке психоэмоционального статуса в тесте «открытое поле» у животных, подвергавшихся ежедневным физическим и психоэмоциональным нагрузкам, было установлено статистически достоверное снижение количества пройденных квадратов на 38,93 % и числа стоек на 184,2 % относительно исходного значения (табл. 1). Относительно интактной группы также было установлено статистически достоверное ($P \leq 0,05$) снижение локомоторной и ориентировочно-исследовательской активности на 40,83 % и 257,9 % соответственно. Полученные в тесте «открытое поле» данные свидетельствуют о значительном уменьшении двигательной и исследовательской активности, причем падение поисковой активности преимущественно произошло за счет снижения вертикальной ее составляющей (число стоек), что может свидетельствовать о значительном перенапряжении скелетной мускулатуры [6] и согласуется с результатами теста принудительного плавания.

В тесте «приподнятый крестообразный лабиринт («ПКЛ»)» у группы негативного контроля произошло снижение количества переходов между рукавами «ПКЛ» на 26,92 % и числа стоек на 25 %, без статистической достоверности относительно исходного значения. В сравнении с интактной группой наблюдалась аналогичная тенденция. Количество переходов достоверно ($P \leq 0,05$) снизилось на 47,37 %, число стоек на 60,78 %, что коррелирует с данными, полученными в тесте «открытое поле» и также может свидетельствовать о снижении поисковой и двигательной активности.

Кроме того, наблюдалось снижение времени пребывания животных, подвергавшихся ежедневным физическим и пси-

хоэмоциональным перегрузкам, в открытых рукавах «ПКЛ» более чем в 7 раз ($\Delta\%$ 614,29 %) и увеличение времени нахождения в центральном квадрате на 270,59 %, по сравнению с исходными показателями. Относительно интактной группы данные показатели изменялись аналогично, так время в открытых рукавах «ПКЛ» снизилось более чем в 5 раз, а продолжительность нахождения в центральном квадрате увеличилась на 88,46 %. Изменения носили достоверный характер. Значительно возросла и продолжительность груминга у группы негативного контроля изменения относительно исходного значения составили 156,41 %, в сравнении с интактной группой время груминга увеличилось на 128,31 % без статистической достоверности (табл. 2).

Приведенные данные позволяют предположить, что перенесенные физические нагрузки способствовали формированию тревожности у животных [3].

Проведенный клинический анализ крови показал, что в группе животных, подвергавшихся длительным физическим нагрузкам наблюдается увеличение количества лейкоцитов на 46,36 % относительно интактной группы мышей, при этом значительно увеличилось содержание моноцитов (61,01 %). Содержание гемоглобина и тромбоцитов незначительно повысилось (табл. 3). Возникшие изменения состава периферической крови у группы негативного контроля, вероятно, связаны с возросшей активностью симпатно-адреналовой системы, а также усиленной деятельностью коры надпочечников, что в свою очередь является следствием стресса, во время перенесенных физических и психоэмоциональных нагрузок [2].

Таблица 1
Изменение физического и психоэмоционального статуса животных в тесте «открытое поле»

Открытое поле		Число пройденных квадратов	Число стоек	Число заглядываний	Груминг	Время в центральном квадрате
Исходное значение	Ср. знач.	97,75	10,8	2,5	2,55	2,55
	+/-	6,231	1,358	0,494	1,225	1,148
После 10 дней плавания	Ср. знач.	59,7	3,8	2,6	1,75	1,6
	+/-	5,13	0,863	0,386	0,691	0,892
$\Delta\%$		- 38,93 % ^δ	- 184,2 % ^δ	4 %	- 45,71 %	- 59,38 %
Интактная группа	Ср. знач.	100,89	13,6	2,3	3,11	2,9
	+/-	4,348	2,541	0,657	1,755	1,523
$\Delta\%$		- 40,83 %*	- 257,9 %*	8,7 %	- 77,71 %	- 81,25 %

Примечания. * – достоверно относительно интактной группы ($P \leq 0,05$), δ – достоверно относительно исходного значения ($P \leq 0,05$).

Таблица 2

Изменение физического и психоэмоционального статуса животных в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт»

ПКЛ		Время в закр. рук.	Время в центр. квадр.	Время в откр. рук.	Стойки	Груминг	Число переходов
Исходное значение	Ср. знач.	100,6	11,9	67,5	3,4	1,95	3,9
	+/-	11,881	1,633	11,743	0,741	0,977	0,684
После 10 дней плавания	Ср. знач.	126,45	44,1	9,45	2,55	5	2,85
	+/-	8,099	5,894	3,908	0,573	1,988	0,35
$\Delta \%$		20,44 %	270,59 ^δ	- 614,29 % ^δ	- 25 %	156,41 %	- 26,92 %
Интактная группа	Ср. знач.	109,3	23,4	47,3	4,1	2,19	4,2
	+/-	13,852	2,658	6,337	0,169	1,011	0,844
$\Delta \%$		15,69 %	88,46 %*	- 400,53 %*	- 60,78 %	128,31 %	-47,37 %

Пр и м е ч а н и я . * – достоверно относительно интактной группы ($P \leq 0,05$), δ – достоверно относительно исходного значения ($P \leq 0,05$).

Таблица 3

Изменения состава периферической крови, после перенесенных физических и психоэмоциональных нагрузок

Показатель		WBC* 10 ⁹ /L	LYM* 10 ⁹ /L	MON* 10 ⁹ /L	GRAN* 10 ⁹ /L	RBC* 10 ¹² /L	HGB, g/L	PLT* 10 ⁹ /L
Негатив. Контроль	Ср. знач.	8,352	3	0,59	4,76	5,799	108,8	519,3
	+/-	0,493	0,296	0,106	0,574	0,187826	3,002	36,775
Интакт	Ср. знач.	4,48	1,765*	0,23*	2,8*	5,59	100,6	466,75
	+/-	0,448	0,342	0,036	0,381	32,825	2,5602	25,617
$\Delta \%$		+ 46,36%*	+ 41,76%*	+ - 61,01 %*	+ 41,17%*	- 3,6%	+ 7,54%	+ 10,12%

Пр и м е ч а н и е . * – достоверно относительно интактной группы ($P \leq 0,05$).

Таблица 4

Изменения состава мочи после перенесенных физических и психоэмоциональных нагрузок

Показатель		Лейкоциты кл/мкмоль	Кетоны ммоль/л	Белок г/л	Глюкоза ммоль/л	Эритроциты кл/мкл	pH
Опыт	Ср. знач	84,25	0,325	0,94*	0	22,5	6,475
	+/-	33,441	0,083	0,280	0	10,8002	0,236
Интакт	Ср. знач	0	0	0,025	0	0	6,6
	+/-	0	0	0,0170783	0	0	0,305505

Пр и м е ч а н и е . * – достоверно относительно интактной группы ($P \leq 0,05$).

При анализе мочи в группе животных, подвергавшихся ежедневному принудительному плаванию, наблюдалась выраженная протеинурия, содержание белка возросло в 37,6 раз относительно значения интактной группы. Обнаружены кетоновые тела в количестве $0,325 + 0,083$ ммоль/л. Ввиду изменения состава периферической крови у данных животных наблюдались лейкоцитурия и микрогематурия (табл. 4).

Полученные данные о составе мочи, в частности протеинурия и кетонурия, также свидетельствуют о значительном физическом и эмоциональном перенапряжении организма животных [2].

Выводы

Продолжительность принудительного плавания с 20%-й нагрузкой от массы тела животного на 10-й день достоверно снизи-

лась на 48,2% по сравнению с исходными данными и на 53,4% относительно интактной группы. При оценке психоэмоционального статуса и локомоторной активности в тесте «открытое поле» было выявлено статистически достоверное снижение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности на 38,93% и числа стоек на 184,2% относительно исходного значения, относительно интактной группы на 40,83% и 257,9% соответственно. В тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» наблюдалось повышение уровня тревожности, о чем свидетельствует достоверное уменьшение времени пребывания животных в открытых рукавах креста более чем в 7 раз, по сравнению с исходными показателями, и более чем в 5 раз, относительно интактной группы, а также увеличение продолжительности гриминга на 156,41%, относительно исходного значения и в сравнении с интактной группой на 128,31%. Определенные показатели состава периферической крови и мочи группы негативного контроля показали наличие выраженного лейкоцитоза (содержание лейкоцитов возросло на 46,36%, относительно интактной группы), а также значительного количества белка ($0,94 \pm 0,025$ г/л) и кетоновых тел ($0,325 \pm 0,083$ ммоль/л) в моче, что может свидетельствовать о перенесенном физическом и психоэмоциональном перенапряжении. Сопоставляя полученные данные, можно сделать вывод, что новый методический подход к изучению физического и психоэмоционального перенапряжения на протяжении 10 дней с 20%-й нагрузкой от массы тела животного является валидным и может применяться в экспериментальной практике.

Список литературы

1. Гаврев А.И., Марышева В.В., Шабанов П.Д. Актопротекторное действие антигипоксантов тиазолоиндольного ряда // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – Т. 73, № 2. – С. 25–30.
2. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 882 с.
3. Леушкина Н.Ф., Федорова А.М., Ахмадеев А.В. Характеристика поведения у предпочитающих алкоголь крыс в установке «приподнятый крестообразный лабиринт» и со-

держания катехоламинов после действия стрессора // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 4.

4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей ред. члена-кор. РАМН, проф. Р.У. Хабриева. – 2 изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.

5. Фармакология спорта. Горчакова Н.А., Гудивок Я.С., Гунина Л.М. и др. – Киев.: Олимп. л-ра, 2010. – 640 с.

6. Цублова Е.Г., Иванова Т.Н. Влияние новых производных пиридина на индивидуальное поведение мышей в обычных условиях и при воздействии физической нагрузки // Электронный научный журнал «Медицинский университет». – 2012. – Вып. 4 (11). Октябрь-декабрь. – С. 9–13.

References

1. Gavrev A.I., Marysheva V.V., Shabanov P.D. Aktoprotekturnoe dejstvie antigipoksantov tiazoloindol'nogo rjada // Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija. 2010. T. 73, no. 2. pp. 25–30.
2. Kishkun A.A. Rukovodstvo po laboratornym metodam diagnostiki. M.: GJeOTAR-Media, 2007. 882 p.
3. Leushkina N.F., Fedorova A.M., Ahmadedev A.V. Harakteristika povedenija u predpochitajushhih alkohol' krysy v ustanovke «pripodnjatij krestooobraznyj labirint» i soderzhanija kateholaminov posle dejstvija stressora // Sovremennye problemy nauki i obrazovanija. 2013. no. 4.
4. Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv / Pod obshhej red. chlena-kor. RAMN, prof. R.U. Habrieva. 2 izd., pererab. i dop. M.: OAO «Izdatel'stvo «Medicina», 2005. 832 p.
5. Farmakologija sporta. Gorchakova N.A., Gudivok Ja.S., Gunina L.M. i dr. Kiev.: Olimp. l-ra, 2010. 640 p.
6. Cublova E.G., Ivanova T.N. Vlijanie novyh proizvodnyh piridina na individual'noe povedenie myshej v obychnyh usloviyah i pri vozdeystvii fizicheskoj nagruzki // Jelektronnyj nauchnyj zhurnal «Medicinskij universitet». 2012. Vyp. 4 (11). Oktjabr'-dekabr'. pp. 9–13.

Рецензенты:

Черников М.В., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой биологии и физиологии ГБОУ ВПО «Пятигорского медико-фармацевтического института-филиала Волгоградского государственного медицинского университета», г. Пятигорск;

Погорелый В.Е., д.б.н., профессор кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ГБОУ ВПО «Пятигорского медико-фармацевтического института-филиала Волгоградского государственного медицинского университета», г. Пятигорск.