

УДК 612.833.8

СУТОЧНАЯ РИТМИКА ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КРЫС СО СПОНТАННОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ - ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ СИНДРОМА ДЕФИЦИТА ВНИМАНИЯ С ГИПЕРАКТИВНОСТЬЮ У ДЕТЕЙ

Н.З. Клюева, Ю.С. Крайнова, Е.Д. Руденко, Ю.И. Чернышев

Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

На экспериментальной модели СДВГ (крысы линии SHR) телеметрическим методом исследовалась суточная ритмика двигательной активности. Было показано, что по сравнению с контролем (крысы линии WKY) такие животные значительно активнее в дневное время и их суммарная активность за сутки также значительно выше. У крыс линии SHR суточная ритмика двигательной активности отражает их гиперактивность.

***Ключевые слова:** синдром дефицита внимания с гиперактивностью (СДВГ), экспериментальная модель СДВГ, крысы со спонтанной гипертензией (линии SHR), суточная ритмика двигательной активности*

Введение. СДВГ – это стойкое, хроническое неврологическо-поведенческое расстройство развития, которое проявляется с раннего детского возраста и выражается в нарушениях концентрации внимания и гиперактивности (встречается примерно у 5% детского населения, Заваденко, 2014), у взрослых может перерасти в снижение интеллекта и трудности с восприятием информации. Оно широко распространено во всём мире, но в настоящее время нет общепринятого эффективного способа лечения этого синдрома.

Самой распространённой моделью СДВГ являются крысы со спонтанной гипертензией (линии SHR) (Sagvolden, Johansen, 2011). Для них характерны генетически детерминированные нарушения обмена кальция в клетке, проявляющиеся в изменении структуры и функционирования кальциевых каналов разных типов (Cox, Rusch, 2002), приводящие к перегрузке цитозоля клеток несвязанными ионами Ca²⁺. Доказано, что это приводит к развитию спонтанной гипертензии. Однако механизм влияния таких молекулярных и клеточных изменений на процесс развития СДВГ остаётся неизученным. Исследования на животных расширяют экспериментальные возможности для получения ответа на этот вопрос, в частности дают возможность детально исследовать один из ведущих симптомов СДВГ, а именно

гиперактивность, а также какие именно структуры ЦНС вовлечены в её формирование.

Для оценки степени гиперактивности крыс линии SHR через суточную ритмику их двигательной активности нами были разработаны специальные методические подходы, основанные на биотелеметрических методах. Мы полагаем, что данная динамика должна по разному проявляться в светлое и тёмное время суток, что даёт нам возможность проанализировать задействованы ли в этом процессе структуры ЦНС, регулирующие циркадные ритмы и выявить роль адренэргических структур.

Методика. Исследование было проведено на 6 взрослых самцах линии SHR массой 180-250 граммов и на 6 взрослых самцах линии WKY такой же массы (в качестве контроля) в возрасте 12-14 недель. Выбор самцов был обусловлен тем, что у людей данный синдром встречается преимущественно у мальчиков (в соотношении 2:1) (Заваденко, 2014). В опыт брали животных с артериальным давлением не ниже 170 мм рт. ст. (крысы линии SHR) и не выше 125 мм рт. ст. (крысы линии WKY) (при измерении его манжеточным методом в хвосте).

Для проведения исследования был разработан специальный биотелеметрический комплекс (БТК), состоящий из двух камер. В каждой камере размещалось четыре клетки, в каждой из которых содержалось по одному животному. В процессе опыта поддерживалась постоянная температура 20°C, длительность светового дня составляла 12 часов (с 10:00 до 22:00). Все клетки были сконструированы согласно санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию вивариев от 6 апреля 1973 года со свободным доступом к еде и воде, то есть оборудованы отдельной кормушкой и поилкой. Они получали сухой корм производства ЗАО «Гатчинский комбикормовый завод» (рецепт № ПК-120 сх_1492 для лабораторных животных) и обычная питьевая вода.

Двигательная активность крыс регистрировалась методом телеметрии с использованием оптических датчиков барьерного Т типа (приёмник луча расположен отдельно от излучателя). Они были установлены по бокам клеток, и фиксировали прерывание луча при перемещении крысы из одной части клетки в другую. Датчики были жёстко закреплены с наружной стороны клетки, стенки которой были выполнены из металлической сетки с ячейкой в 1 см², высота их расположения и чувствительность были рассчитаны таким образом, чтобы фиксировать перемещение корпуса животного, по возможности исключая ложные срабатывания. Сигналы от всех датчиков собирались аппаратно и обрабатывались на компьютере. Число пересечений луча суммировалось по 5-минутным интервалам, затем данные были

усреднены по интервалам в 1 час и обработаны статистически.

Было проведено две серии опытов, каждая из которых длилась трое суток. Каждая серия опытов включала в себя регистрацию двигательной активности у двух пар испытуемых животных (две крысы линии SRH и две – WKY). Кормушка и поилка в каждой клетке были рассчитаны таким образом, чтобы запаса в них хватало более, чем на три дня, чтобы эксперимент проводился непрерывно.

Работа выполнена с использованием животных из Биокolleкции ИФ РАН, при её проведении экспериментов соблюдались все требования комиссии по контролю по содержанию и использованию лабораторных животных при Институте физиологии им И.П. Павлова РАН.

Результаты и обсуждение. На рисунке 1 представлен пример двигательной активности в течение одних суток (одного светлого и одного тёмного периода) двух крыс линии SHR и двух крыс линии WKY, участвовавших в эксперименте. Из рисунка 1А видно, что в дневное время крысы со спонтанной гипертензией демонстрировали большее количество движений, чем крысы линии WKY. Эта же закономерность сохранялась и в ночной период, хотя и была слабее выражена (рис. 1Б).

При дальнейшем анализе характера суточной ритмики двигательной активности было статистически обработано общее количество движений оценено среднее количество движений у крыс обеих линий в дневное время, в ночное время и в течение суток за две серии экспериментов по трое суток. На рисунке 2, видно, что крысы линии SHR в дневной период в среднем в несколько раз более подвижны, чем крысы линии WKY. В ночной период тенденция сохранялась, и была особенно убедительной при анализе общей суточной ритмики двигательной активности крыс двух линий. Межлинейные различия были достоверны ($p < 0,05$ при обработке по критерию Стьюдента).

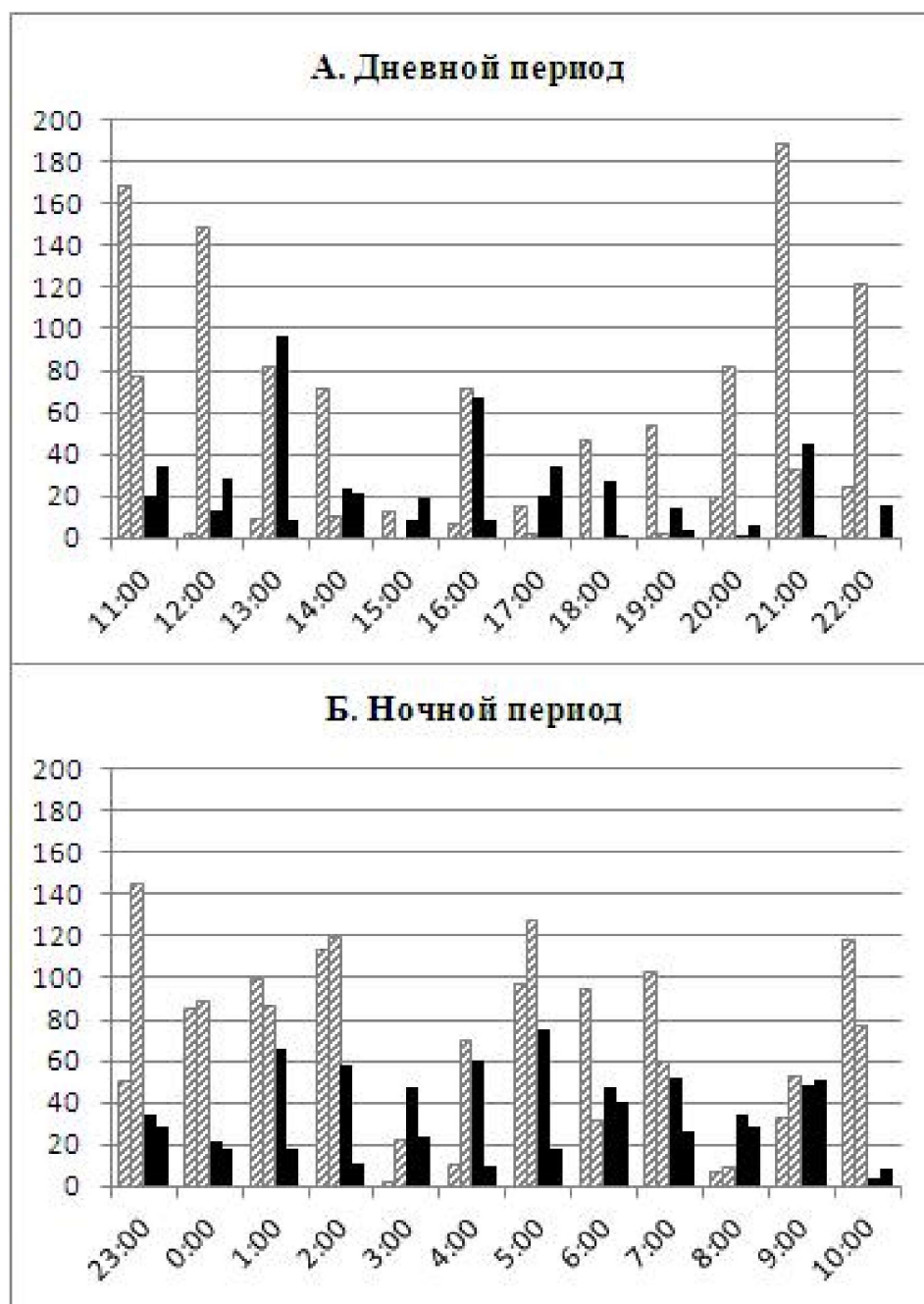


Рис. 1. Уровень двигательной активности у двух крыс со спонтанной гипертензией (линия SHR) и двух крыс линииWKY их нормотензивного контроля в дневной период (А) и в ночной период (Б): по оси ординат отложено общее количество движений за 1 час: по оси абсцисс отложено время суток. Здесь и на следующем рисунке показатели крыс линии SHR обозначены серой штриховкой, а линии WKY чёрным цветом.

Среднее количество движений крыс двух линий за две серии экспериментов

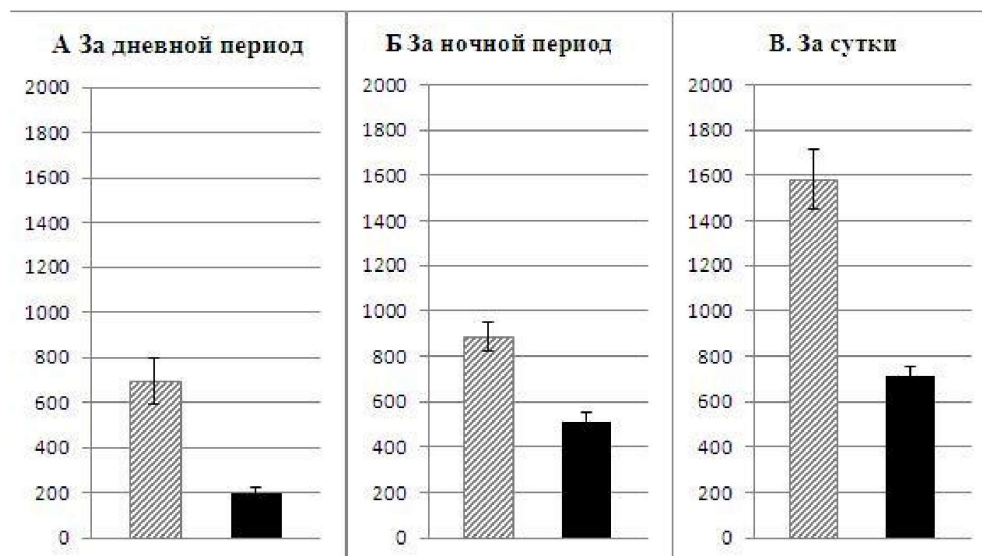


Рис. 2. Среднее количество у крыс линий SHR и WKY за две серии экспериментов (каждая по трое суток). В дневное время (А), в ночное время (Б), в целом за сутки (В): по оси ординат отложено усредненное количество движений, представленное в виде средних значений и ошибок среднего ($M \pm m$).

Таким образом, мы показали, что у крыс линии SHR действительно проявляются симптомы гиперактивности по сравнению с нормотензивным контролем (крысы линии WKY). Они хуже спят в дневное время и значительно больше двигаются суммарно за сутки. Встаёт вопрос, какие физиологические механизмы могут лежать в основе наблюдаемых эффектов.

Известно, что у крыс со спонтанной гипертензией наблюдаются генетически детерминированные нарушения обмена кальция не только в структурах ГМК сосудистой стенки (Cox, Rusch, 2002; Cox, Fromme, 2015), но и других типах клеток, включая нейроны (Антонова и др., 2011), что может затрагивать различные каскады передачи внутриклеточного сигнала.

Повышенный уровень кальция в плазме крови спонтанногипертензивных крыс запускает выработку в паращитовидных железах специального фактора – паратиреоидный гипертензивный фактор (ПГФ) (Sutherland, Benishin, 2004), представляющего собой септапептид, связанный с фосфолипидом.

Этот фактор специфически воздействует на систему адренорецепторов. Он является пролонгированным вазопрессором, повышает чувствительность к экзогенным катехоламинам, и, возможно, замедляет их катаболизм (Чурина и др., 2014).

Заключение. Полученные нами данные позволяют утверждать, что динамика распределения двигательной активности у крыс линии SHR (общепринятая модель СДВГа) может быть использована в качестве объективного показателя уровня гиперактивности. Нельзя исключить, что такие эффекты являются следствием изменений функционирования адренэргической системы в тех структурах ЦНС, которые отвечают в частности за циркадные ритмы.

Список литературы

- Антонова О.С., Плеханов А.Ю., Петрова Е.И., Резник С.Я., Клюева Н.З.* 2011. Структурные изменения белка пар-22 основного субстрата протеинкиназы с при кальций-зависимых формах артериальной гипертензии // Артериальная гипертензия. Т. 17. № 4. С. 342-346.
- Заваденко Н.Н.* 2014. Синдром дефицита внимания и гиперактивности: новое в диагностике и лечении // Вестн. Северного (Арктического) федерального ун-та. Сер.: Медико-биологические науки. № 1. С. 31-39.
- Чурина С.К., Клюева Н.З., Антонова О.С., Руденко Е.Д., Петрова Е.И., Макаров В.Л., Борисова И.Ю.* 2014. Генетически детерминированные механизмы развития артериальной гипертензии при дефиците экзогенного кальция (паратиреоидный гипертензивный фактор) // Артериальная гипертензия. Т. 20. № 5. С. 342-348.
- Cox R.H., Rusch N.J.* 2002. New expression profiles of voltage-gated ion channels in arteries exposed to high blood pressure // Microcirculation. V. 9. № 4. P. 243-257.
- Cox R.H., Fromme S.* 2015. Expression of calcium channel subunit variants in small mesenteric arteries of WKY and SHR // American journal of hypertension. V. 28. № 10. P. 1229-1239.
- Sagvolden T., Johansen E.B.* 2011. Rat models of ADHD // Behavioral neuroscience of attention deficit hyperactivity disorder and its treatment. Springer Berlin Heidelberg. P. 301-315.
- Sutherland S.K., Benishin C.G.* 2004. Regulation of parathyroid hypertensive factor secretion by Ca²⁺ in spontaneously hypertensive rat parathyroid cells // American journal of hypertension. V. 17. № 3. P. 266-272.

**CIRCADIAN RHYTHMS IN LOCOMOTOR ACTIVITY
OF SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS
(EXPERIMENTAL MODEL OF ATTENTION-DEFICIT
HYPERACTIVITY DISORDER)**

N.Z. Klyueva, Y.S. Kraynova, E.D. Rudenko, Y.I. Chernyshev
Pavlov Institute of Physiology RAS, Saint-Petersburg

We telemetrically investigated circadian rhythms of locomotor activity of spontaneously hypertensive rats (SHR). SHR rats were used as an experimental model of attention-deficit hyperactivity disorder. We showed that locomotor activity of SHR rats was significantly higher than that of WKY rats (their normotensive control). The results of our study confirm the hyperactivity of SHR.

Keywords: *ADHD, experimental model of ADHD, SHR, circadian rhythms in locomotor activity.*

Об авторах:

КЛЮЕВА Наталия Зиновьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий группой экспериментальной кардиологии ФБГУН Института физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6; e-mail: natklueva@mail.ru.

КРАЙНОВА Юлия Сергеевна – исполняющий обязанности младшего научного сотрудника без степени в группе экспериментальной кардиологии ФБГУН Института физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6; e-mail: kardio_lab@mail.ru.

РУДЕНКО Егор Дмитриевич – младший научный сотрудник группы экспериментальной кардиологии ФБГУН Института физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6; e-mail: kardio_lab@mail.ru.

ЧЕРНЫШЕВ Юрий Игоревич – младший научный сотрудник без степени группы экспериментальной кардиологии ФБГУН Института физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6; e-mail: kardio_lab@mail.ru.

Клюева Н.З. Суточная ритмика двигательной активности крыс со спонтанной гипертензией – экспериментальной модели синдрома дефицита внимания с гиперактивностью у детей / Н.З. Клюева, Ю.С. Крайнова, Е.Д. Руденко, Ю.И. Чернышев // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2018. № 2. С. 35-41.