

**Д. Ю. Кустов**

## **ПРИМЕНЕНИЕ ГРУМИНГ-ТЕСТА ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ НЕЙРОЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ**

*Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького  
83003, г. Донецк, пр. Ильича, 16 e-mail: physiolog@mail.ru*

**Кустов Д. Ю. Применение груминг-теста для оценки состояния нейроэндокринной системы.** – Колебания уровня половых гормонов в крови способны вызывать глубокие изменения в деятельности головного мозга и отдельных его структур, приводящие к нарушению высших психических функций. Груминг, как важный элемент психической деятельности млекопитающих, может быть чувствительным к различным формам нейроэндокринной патологии, в частности – к овариальной недостаточности. Были выявлены изменения показателей груминга как после овариэктомии, так и после гормональных и трансплантационных вариантов коррекции гонадефицитного состояния. Показано, что груминг-тест можно с успехом использовать для выявления овариальной недостаточности на ранних её стадиях, и для оценки влияния различных методов коррекции данной патологии на нейроэндокринную систему.

*Ключевые слова:* груминг, овариальная недостаточность, трансплантация овариальной ткани.

### **Введение**

Одной из наиболее важных задач современной физиологии является изучение изменений, возникающих в организме при гормональной дисрегуляции. Комплекс вегетососудистых, обменно-эндокринных и психо-эмоциональных нарушений, вызванных эндокринопатией, приводит к значительному ухудшению качества жизни. В связи с этим особое значение приобретает поиск наиболее чувствительных физиологических тестов, способных выявлять отклонения нейроэндокринной системы от нормы на ранних этапах формирования патологии.

Груминг у грызунов представляет собой чрезвычайно распространенную форму поведения, выполняющую в организме ряд важных прямых биологических функций – уход за кожей и шерстью, терморегуляцию, распределение химических веществ и др. [1, 2]. Помимо этого, груминг часто встречается у грызунов как важный элемент поведения в естественных условиях, представляя собой своеобразный ритуал с определенной последовательностью поведенческих паттернов. У взрослых крыс грумингу принадлежит 40-42% всего времени бодрствования [3]. В последнее время интерес исследователей к грумингу значительно возрос. Было установлено, что груминг является стресс-зависимой, эмоционально лабильной реакцией, свидетельствующей о нейрогуморальных изменениях в организме [22].

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что половые гормоны оказывают существенное влияние на формирование психического статуса, эмоций, памяти и поведения [4-6]. Причём колебания уровня данных гормонов в организме, обусловленные эндо- или экзогенными причинами, способны вызывать глубокие изменения в деятельности головного мозга и отдельных его структур, приводящие к нарушению высших психических функций. Показано, что предменструальный, климактерический и посткастрационный синдромы у женщин сопровождаются ухудшением памяти, снижением способности концентрировать внимание, повышенной эмоциональностью и сильной депрессией [7-10]. Однако при начальных формах изменений гормонального баланса расстройства высшей нервной деятельности (ВНД) менее выражены. Они плохо диагностируются и их распространённость значительно выше [8, 11]. Поэтому актуальным является поиск поведенческих тестов, наиболее чувствительных к колебаниям уровня половых гормонов в крови. Примером таких тестов у животных может служить груминг.

*Цель работы* – изучить изменения показателей груминга у крыс со сформированной овариальной недостаточностью, а также после гормональной или трансплантационной её коррекции, и дать оценку адекватности использования груминг-тестов при определении гонадефицитного состояния.

## **Материалы и методы**

Опыты проводили на 160 самках беспородных белых крыс, массой от 220 до 300 г, с устойчивым 4-5-дневным эстральным циклом. Животных разделили на 7 групп: интактные (И); ложнооперированные (ЛО); крысы, которым осуществляли двустороннюю овариэктомию (ОЭ); самки, которым проводили заместительную гормональную терапию (ЗГТ) гонадефицитного состояния эстрадиол-дипропионатом (ЭД) или препаратом "Дивигель" (Д); животные, которым осуществляли алло- (АТ) или ксенотрансплантацию (КТ) культуры овариальной ткани.

Наблюдение за реакциями самоочистения проводили в разное время в течение всего светового дня на 15-е и 30-е сутки эксперимента. Для регистрации показателей груминга животных помещали в специальную стеклянную камеру размерами 60 x 25 x 40 см. Первые 15 минут отводились для адаптации к условиям камеры, после чего в течение последующих 15 минут проводили визуальное наблюдение и подсчёт 4-х различных видов спонтанных движений очищения кожи (лизания, чесания, умывания и отряхивания) [3]. Кроме того, в качестве дополнительных показателей подсчитывали общее количество движений самоочистения и определяли общее время, затраченное животным на груминг за период наблюдения, высчитывали интенсивность груминга и процент времени груминга [12]. Одно движение самоочистения принималось за элементарный груминговый акт (э.г.а.).

Статистическая обработка данных проводилась в программе Excel с использованием критерия Краскела-Уоллиса.

## **Результаты и их обсуждение**

Как видно из табл. 1, овариэктомия вызывала резкое снижение груминговой активности, проявлявшееся в уменьшении количества актов умывания, лизания, чесания и отряхивания, а также времени, затраченного крысами на процессы самоочистения поверхности тела. Причём в динамике эксперимента это снижение прогрессировало. Также было установлено, что в группе ложнооперированных особей подобного снижения не наблюдалось.

Коррекция гонадефицитного состояния эстрадиол-дипропионатом приводила к активизации груминга. В частности, восстанавливалось время, затраченное на груминг, несколько повышалось количество актов умывания, а количество актов чесания достоверно превышало норму. Однако эти явления были непродолжительными, и уже на 30-е сутки эксперимента груминговая активность снижалась по всем регистрируемым параметрам до уровня крыс с прогрессирующей овариальной недостаточностью. Схожая тенденция наблюдалась при коррекции гонадефицитного состояния препаратом "Дивигель": на 15-е сутки все показатели груминговой активности претерпевали резкое повышение, в некоторых случаях существенно превышая установленную физиологическую норму, а на 30-е сутки груминговая активность падала, хотя и не так резко, как в случае с группой, которой вводили эстрадиол-дипропионат. Такая динамика может быть связана со временем эффективного действия гормона, а различия между двумя вариантами ЗГТ говорят о том, что трансдермальное нанесение препарата "Дивигель" способно продлевать это действие.

Трансплантационные варианты коррекции овариальной недостаточности в целом оказались более эффективны в восстановлении груминговой активности, увеличивая количество различных элементарных актов груминга и его время до уровня интактных крыс или даже выше. Они также показали большую устойчивость к временному фактору, незначительно снижая груминговую активность к 30-му дню эксперимента. Сравнивая между собой эффективность алло- и ксенотрансплантации культуры овариальной ткани, можно отметить, что аллотрансплантация оказывала более интенсивное влияние на поведение груминга в оба срока тестирования.

Таблица 1

**Изменение показателей груминга у крыс после овариэктомии, при гормональных и трансплантационных вариантах её коррекции**

Группы животных		Умывание, э.г.а	Лизание, э.г.а	Чесание, э.г.а	Отряхивание, э.г.а	Общее количество, э.г.а	Время груминга, с
И		11,82±0,65	7,49±0,41	6,13±0,36	6,01±0,39	31,42±1,13	123,79±5,57
ЛО	15-е сут	9,93±1,15	7,20±0,88	5,40±0,64	6,57±0,86	29,10±1,42	98,47±8,34
	30-е сут	9,30±1,05	8,37±1,14	6,70±0,99	7,53±1,06	31,93±2,21	104,23±9,51
ОЭ	15-е сут	4,73±0,61	4,70±0,56	5,27±0,54	5,47±0,71	20,17±1,30	63,20±6,63
	30-е сут	3,83±0,55	4,50±0,61	4,10±0,58	5,20±0,59	17,63±0,88	54,23±4,30
ЗГТ-Э	15-е сут	7,71±1,23	8,64±1,53	11,57±1,51	6,32±0,76	34,25±2,82	122,54±11,01
	30-е сут	5,20±0,56	4,10±0,49	4,03±0,48	6,40±0,69	19,73±1,43	58,50±4,21
ЗГТ-Д	15-е сут	14,29±1,95	15,36±1,94	12,00±1,50	9,61±1,26	51,25±4,30	127,43±10,03
	30-е сут	5,90±0,55	5,43±0,65	5,87±0,80	6,23±0,80	23,43±1,50	85,47±6,23
АТ	15-е сут	10,27±1,38	11,37±1,39	10,47±1,48	8,77±1,07	40,57±2,65	167,00±13,95
	30-е сут	9,87±1,09	11,07±1,21	9,60±1,18	7,33±0,89	37,87±2,39	166,33±12,78
КТ	15-е сут	9,83±1,23	7,13±0,85	7,30±1,31	8,90±1,27	33,17±3,19	110,60±11,68
	30-е сут	7,30±0,89	6,43±0,72	6,03±0,73	6,83±0,83	26,60±1,58	92,60±5,96

Примечание. И – интактные; ЛО – ложнооперированные; ОЭ – крысы, которым осуществляли двустороннюю овариэктомию; ЗГТ-Э – самки, которым проводили заместительную гормональную терапию гонадефицитного состояния эстрадиол-дипропионатом или препаратом "Дивигель" (ЗГТ-Д); АТ – животные, которым осуществляли аллотрансплантацию культуры овариальной ткани; КТ – животные, которым осуществляли ксенотрансплантацию культуры овариальной ткани.

Интенсивность груминга может характеризовать степень возбуждения животного, а, следовательно, быть косвенным показателем "комфортности" поведения.

Ложная операция приводила к незначительному росту интенсивности груминга, в то время как овариэктомия вызывала более существенное увеличение значений данного показателя (рис. 1).

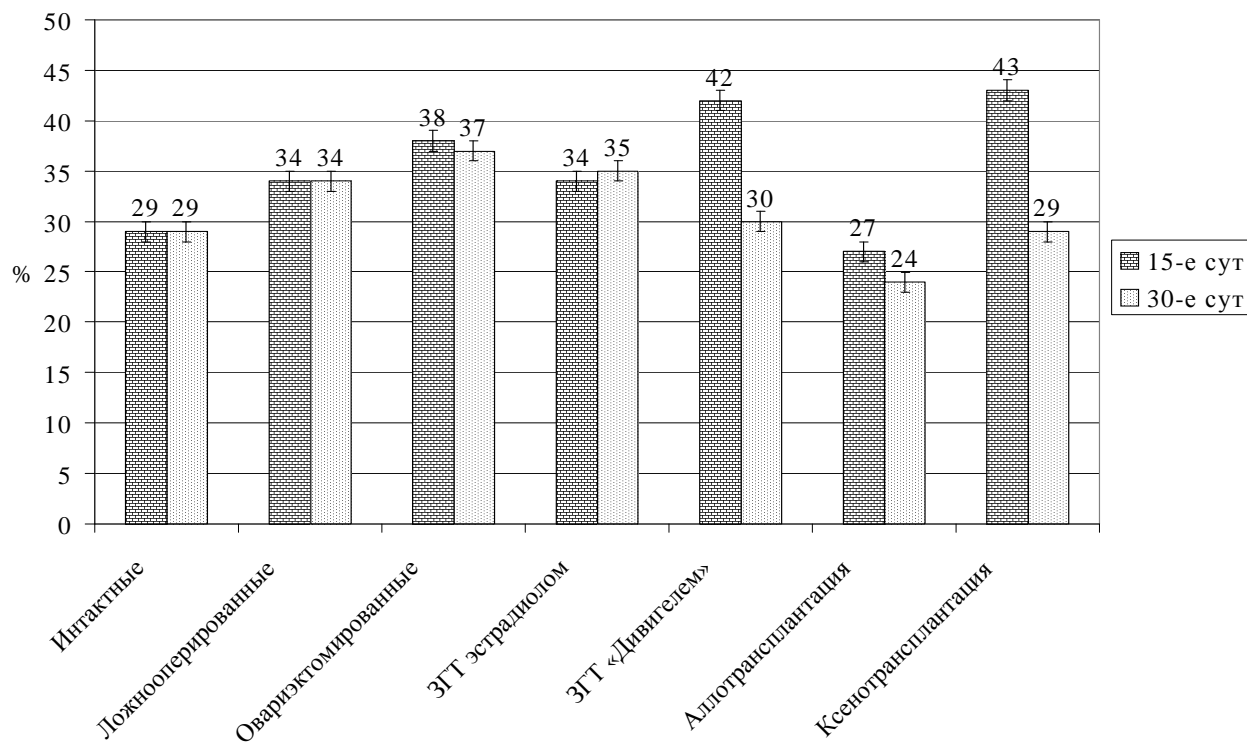


Рис. 1. Изменения интенсивности груминга у крыс разных групп в эксперименте

Введение эстрадиол-дипропионата несколько снижало интенсивность груминга на 15-е сутки эксперимента, но уже на 30-е сутки различие между этой группой и овариэктомированными самками нивелировалось. ЗГТ препаратом "Дивигель" резко повышала интенсивность груминга на 15-е сутки, но к 30-м суткам значение данного показателя восстанавливалось до нормального уровня.

Аллотрансплантация культуры овариальной ткани в динамике вызывала незначительное снижение интенсивности груминга, в то время как после ксенотрансплантации на 15-е сутки наблюдался резкий скачок интенсивности, после чего к 30-м суткам происходило её снижение до уровня интактных животных.

Таким образом, можно говорить, что такой показатель, как интенсивность груминга, является довольно чувствительным к изменению уровня половых гормонов, в частности – эстрадиола, в крови.

Процент времени груминга по сути отражает степень торможения психической деятельности, зоосоциальной активности животного.

Из рис. 2 видно, что если ложная операция приводила к незначительному снижению процента времени груминга, то овариэктомия вызывала падение значений этого показателя более чем в два раза. Большую часть времени наблюдения крысы данной группы были неподвижны.

ЗГТ на некоторое время восстанавливала процент времени груминга, однако её эффект был непродолжителен, после чего животные возвращались к состоянию, характерному для особей с удалёнными яичниками, хотя препарат "Дивигель" удерживал процент времени груминга на более высоком уровне.

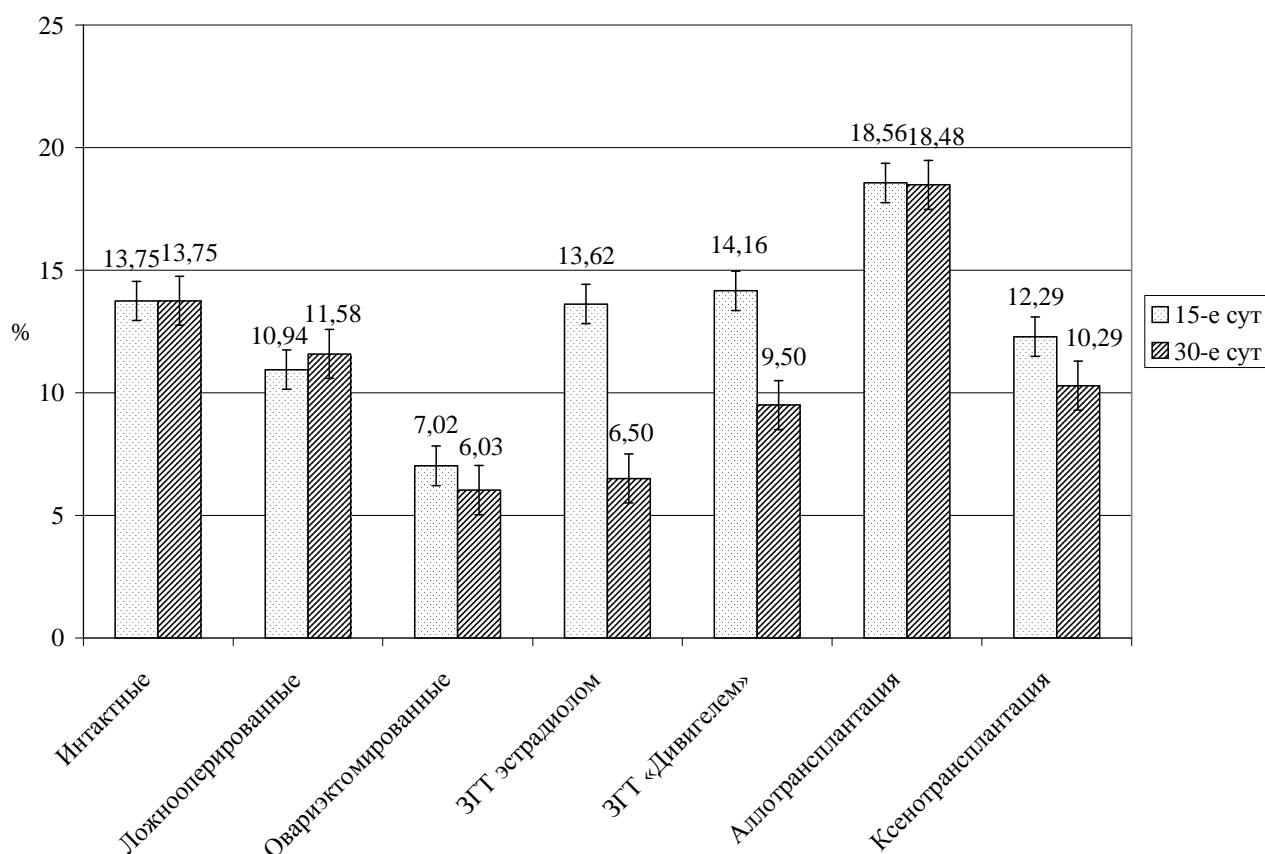


Рис. 2. Изменение процента времени, затрачиваемого на груминг крысами разных групп в эксперименте

Аллотрансплантация культуры овариальной ткани не только восстанавливала процент времени груминга, но и существенно его повышала, причём её эффект практически не изменился в течение эксперимента. Ксенторансплантация оказывала менее выраженное воздействие на процент времени груминга, тем не менее, восстанавливая его практически до уровня интактных самок. В то же время, на более поздних сроках эксперимента, в этой группе животных наблюдалась тенденция к снижению значений данного показателя.

Влияние овариальной недостаточности на поведенческие показатели груминга можно связать с воздействием, которое оказывают половые гормоны на различные мозговые структуры [13, 14]. Рецепторы к половым стероидам выявлены во многих образованиях мозга, в том числе таких, как гипоталамус, гиппокамп, миндалина [15-19]. Гиппокамп, участвуя в формировании моторного компонента сложных двигательных актов, к которым относится и груминг, имеет множественные двусторонние связи как с различными ядрами гипоталамической области, так и с миндалевидным комплексом, отвечающим за эмоциональную окраску поведенческих реакций [3, 20]. Было показано, что количество нейронов в гиппокампе, плотность синаптических контактов и пространственная память у крыс прямо коррелируют с груминговой активностью [21].

Поскольку большинство авторов относят груминг к "поведению комфорта", его показатели могут быть чувствительны к нарушению биологических ритмов, связанному, в данном случае, с изменением гомеостаза половых гормонов [22].

Наши исследования не противоречат литературным данным, показывая выраженное влияние ЗГТ на ВНД, в частности, на груминг [23, 24]. Так, G. Diaz-Veliz с соавторами [25, 26] наблюдали снижение груминговой активности у овариэктомированных крыс и последующее восстановление уровня груминга после введения эстрадиола.

### **Выводы**

Груминг, как комплексный показатель состояния нейроэндокринной системы, оказался довольно чувствителен к колебаниям уровня половых гормонов в крови, и может с успехом применяться в качестве адекватного критерия для выявления и оценки выраженности гонадефицитного состояния на ранних этапах его формирования, а также степени влияния на нервную систему различных методов коррекции овариальной недостаточности.

Поскольку груминг является важной частью поведения млекопитающих, ожидается, что его показатели будут достаточно чувствительны и к другим нарушениям компонентов нервной, эндокринной и иммунной систем.

### **Список литературы**

1. *Celis M. E., Torre E.* Measurement of Grooming Behaviour // *Methods in Neurosciences*, Ed Conn A., San Diego, New York: Academic Press. – 1993. – P. 359-378.
2. *Van Erp A. M. M., Kruk M. P., Meelis W., Willeken-Bramer D.* Effects of environmental stressors on time course, variability and form of self-grooming in the rat // *Behav. Brain Res.* – 1994. – V. 65. – P. 47-55.
3. *Свидерская Г. Е., Дмитриева Л. Е.* Развитие груминга в онтогенезе крыс и мышей // *Журн. эволюционной биохимии и физиологии.* – 1993. – Т. 29, № 4. – С. 36-39.
4. *Stahl Stephen M.* Augmentation of antidepressants by estrogen // *Psychopharmacology bulletin.* – № 34(3). – 1998. – P. 319-321.
5. *Kerr J. E., Beck S. G., Handa R. J.* Androgens selectively modulate c-fos messenger RNA induction in the rat hippocampus following novelty // *Neuroscience.* – 1996. – Vol. 74, Iss. 3. – P. 757-766.
6. *Luine V. N., Richards S. T., Wu V. Y., Beck K. D.* Estradiol enhances learning and memory in a spatial memory task and effects levels of monoaminergic neurotransmitters // *Horm. Behav.* – 1998. – Vol. 34 (2). – P. 149-162.

7. *Lofgren M., Holst J., Backstrom T.* Effects in vitro of progesterone and two 5 alpha-reduced progestins, 5 alpha-pregnane-3,20-dione and 5 alpha-pregnane-3 alpha-ol-20-one, on contracting human myometrium at term // *Clin. Obstet. Gynecol.* – 1992. – Vol. 35. – P. 612-628.
8. *Henderson V. W., Paganini-Hill A., Emanuel C. K. et al.* Estrogen replacement therapy in older women: comparisons between Alzheimer's disease cases and nondemented control subjects // *Arch. Neurol.* – 1994. – Vol. 51. – P. 896-900.
9. *Manly J. J., Merchant C. A., Jacobs D. M., Small S. A., Bell K., Ferin M. et al.* Endogenous estrogen levels and Alzheimer's disease among postmenopausal women // *Neurology.* – 2000. – Vol. 54, N 7. – P. 833-837.
10. *Gandy S., Duff K.* Post-menopausal estrogen deprivation and Alzheimer's disease // *Exp. Gerontol.* – 2000. – Vol. 35, N 4. – P. 503-511.
11. *Kouri E., Halbreich U.* Hormonal treatments of premenstrual syndromes // *Drugs of Today.* – 1998. – N 34. – P. 603-610.
12. *Патент № 16150, UA. МКВ: А61В5/00.* Спосіб оцінки стану організму тварини. Кустов Д. Ю., Ракша-Слюсарєва О. А., Слюсарєв О. А., Друпп Ю. Г. Заява №u200602422 від 06.03.2006. Друк. 17.07.2006. Бюл. № 7.
13. *Бабичев В. Н.* Нейроэндокринология репродуктивной системы // *Проблемы эндокринологии.* – 1998. – Т. 44, № 1. – С. 3-12.
14. *Seale J. V., Wood S. A., Atkinson H. C., Bate E., Lightman S. L., Ingram C. D., Jessop D. S., Harbuz M. S.* Gonadectomy reverses the sexually diergic patterns of circadian and stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in male and female rats // *J. Neuroendocrinol.* – 2004. – Vol. 16, N 6. – P. 516-524.
15. *Шишкина И. В., Бабичев В. Н.* Рецепторы к половым гормонам в гипоталамусе и их роль в половой дифференцировке мозга у крыс-самцов // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* – 1986. – № 4. – С. 55-61.
16. *Kato J., Atsumi Y., Inaba M.* Estradiol receptors in female rat hypothalamus in the developmental stages and during pubescence // *Endocrinology.* – 1974. – 94 (2). – P. 309-317.
17. *Lee T. M., Hummer D. L., Jechura T. J., Mahoney M. M.* Pubertal development of sex differences in circadian function: an animal model // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2004. – Vol. 1021. – P. 262-275.
18. *Von Arnim C. A., Verstege E., Riepe M. W.* Strain dependence of receptor regulation on chemical preconditioning in mice hippocampus // *Neurosci. Lett.* – 2004. – Vol. 365, N 3. – P. 171-175.
19. *Osterlund M. K., Hurd Y. L.* Estrogen receptors in the human forebrain and the relation to neuropsychiatric disorders // *Prog. Neurobiol.* – 2001. – Vol. 64, N 3. – P. 251-267.
20. *Гарибян А. А.* Роль глубинных структур мозга в механизмах целенаправленного поведения. – М.: Медицина, 1984. – 120 с.
21. *Bredy T. W., Grant R. J., Champagne D. L., Meaney M. J.* Maternal care influences neuronal survival in the hippocampus of the rat // *Eur. J. Neurosci.* – 2003. – 18 (10). – P. 2903-2909.
22. *Калуев А. В.* Стресс, тревожность и поведение. – К: Энигма, 1998. – 92 с.
23. *Galeeva A. Y., Tuohimaa P., Shalyapina V. G.* The role of sex steroids in forming anxiety states in female mice // *Neurosci. Behav. Physiol.* – 2003. – Vol. 33, N 4. – P. 415-420.
24. *Scimonelli T., Maruccio M., Celis M. E.* Age-related changes in grooming behavior and motor activity in female rats // *Physiol. Behav.* – 1999. – Vol. 66, N 3. – P. 481-484.
25. *Diaz-Veliz G., Soto V., Dussaubat N., Mora S.* Influence of the estrous cycle, ovariectomy and estradiol replacement upon the acquisition of conditioned avoidance responses in rats // *Physiol. Behav.* – 1989. – Vol. 46, N 3. – P. 397-401.
26. *Diaz-Veliz G., Urresta F., Dussaubat N., Mora S.* Effects of estradiol replacement in ovariectomized rats on conditioned avoidance responses and other behaviors // *Physiol. Behav.* – 1991. – Vol. 50 (1). – P. 61-75.

**Кустов Д. Ю. Можливість використання поведінкових тестів грумінга для оцінки стану нейроендокринної системи.** – Коливання рівня статевих гормонів у крові здатні викликати глибокі зміни в діяльності головного мозку й окремих його структур, що призводять до порушення вищих психічних функцій. Грумінг, як важливий елемент психічної діяльності ссавців, може бути чутливим до різних форм нейроендокринної патології, зокрема – до оваріальної недостатності. Було виявлено зміни показників грумінга як після овариєктомії, так і після гормональних і трансплантаційних варіантів корекції гонаддефіцитного стану. Показано, що грумінг-тест можна з успіхом використовувати для виявлення оваріальної недостатності на ранніх її стадіях, та для оцінки впливу різних методів корекції даної патології на нейроендокринну систему.

*Ключові слова:* грумінг, оваріальна недостатність, трансплантація оваріальної тканини.

**Kustov D. Yu. Possibility of behavioural grooming tests use for neuro-endocrine system status assessment.**

– Fluctuations of the sexual hormones blood levels can cause deep changes in the activity of the brain and its particular structures, which lead to the higher mental functions impairment. As the grooming is an important part of mammals' psychic activity, it can be sensitive to various forms of neuro-endocrine pathology, and ovarian insufficiency in particular. Changes of the grooming parameters were revealed both after ovariectomy and after hormonal and transplantation correction of the gonadal deficiency. It is demonstrated that grooming test can be successfully applied in early ovarian insufficiency diagnostics and for assessment of influence at the neuro-endocrine system of various correction methods of this pathology.

*Key words:* grooming, ovarian insufficiency, ovarian tissue transplantation.