

УДК 591.18 : 599.323.4 – 089.843.47 : 576.3] – 084.1

© В. М. Казаков, М. І. Тарапата, П. Я. Кравцов, Д. Ю. Кустов, І. В. Кокіна  
**ГРУМІНГОВА АКТИВНІСТЬ САМИЦЬ ЩУРІВ З МОДЕЛЛЮ  
ГОНАДЕФІЦИТНОГО СТАНУ ДО ТА ПІСЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ  
ЕМБРІОНАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН**

*Донецький національний медичний університет ім. М. Горького  
83003, м. Донецьк, пр. Ілліча, 16; e-mail: physiolog@mail.ru*

**Казаков В. М., Тарапата М. І., Кравцов П. Я., Кустов Д. Ю., Кокіна І. В.** Грумінгова активність самиць щурів з моделлю гонадефіцитного стану до та після трансплантації ембріональних стовбурових клітин. – Стаття присвячена дослідженню грумінгової поведінки у самиць щурів після двобічного видалення яєчників та подальшої корекції гонадефіцитного стану трансплантацією ембріональних стовбурових клітин кордової крові. Гонадектомія призводила до пригнічення окремих видів грумінгу і грумінгової активності в цілому. Трансплантація стовбурових клітин значною мірою відновлювала початковий рівень грумінгу, що свідчить про її здатність коректувати поведінку щурів з ендокринною дисфункцією, зокрема гонадною недостатністю.

*Ключові слова:* грумінг, гонадна недостатність, трансплантація стовбурових клітин.

### **Вступ**

У зв'язку з погіршенням екологічних умов і надмірним навантаженням інформаційного поля сучасного життя особливого значення набувають дослідження, пов'язані з пошуком адекватних поведінкових критеріїв оцінки стану нейроімуноендокринної системи. На думку більшості дослідників, грумінг у гризунів є стрес-залежною формою поведінки [1] і як такий може бути дуже чутливим до будь-яких ендо- або екзогенних впливів, що призводять до дисбалансу тих або інших компартментів цієї системи, наприклад статевого. Тому метою презентованої роботи є вивчення грумінгу в щурів зі змодельованою оваріальною недостатністю до та після її корекції ембріональними стовбуровими клітинами кордової крові.

### **Матеріал і методи дослідження**

Дослідження проводились на базі лабораторії "Клінічної і прикладної нейрофізіології" ДонНМУ. Досліди проводили на 40 самицях білих щурів, масою від 220 до 300 г.

Формування посткастраційного синдрому спостерігали через 4-5 днів після оваріектомії і підтверджували за допомогою визначення рівня статевих гормонів у крові. Надалі гонадектомованих щурів розділяли на 2 групи: контрольну та експериментальну, щурам якої пересаджували ембріональні стовбурові клітини (ЕСК). Трансплантацію ЕСК здійснювали внутрішньовенним введенням культури, отриманої з кордової крові.

Спостереження за реакціями самоочищення проводили у різний час протягом всього світлового дня. Для реєстрації показників грумінгу тварин поміщали до біоритмокамери розробки лабораторії "Клінічної і прикладної нейрофізіології" ДонНМУ сумісно з ООО "Медтехприбор". Перші 15 хв. відводились для адаптації до умов камери, після чого протягом подальших 15 хв. проводили візуальне спостереження і підрахунок 4-х різних видів спонтанних рухів очищення шкіри (умивання, лизання, чухання і обтрушування) [2]. Окрім того, як додаткові показники ми фіксували загальну кількість рухів самоочищення і загальний час, що затрачує тварина на грумінг, за період спостереження, підраховували інтенсивність грумінгу та відсоток часу грумінгу [3]. Один рух самоочищення приймався за один елементарний грумінговий акт (е.г.а.).

### **Результати та їх обговорення**

Як помітно з рис. 1, окремі елементи грумінгової активності мають різну чутливість до зміни рівня статевих гормонів у крові, пов'язаної з видаленням яєчників. Так, після оваріектомії різко знижується кількість актів умивання з  $(11,8 \pm 2,0)$  е.г.а. до  $(4,7 \pm 0,3)$  е.г.а. і лизання – з  $(7,5 \pm 0,6)$  е.г.а. до  $(4,7 \pm 0,4)$  е.г.а., але невірогідно знижується кількість актів

чесання – з  $(6,1 \pm 0,7)$  е.г.а. до  $(5,3 \pm 0,2)$  е.г.а. і обтрушування – з  $(6,1 \pm 0,6)$  е.г.а. до  $(5,5 \pm 0,5)$  е.г.а. Трансплантація ЕСК відновлювала початковий рівень умивання  $(10,8 \pm 1,2)$  е.г.а., дещо підвищувала рівень лизання  $(6,3 \pm 0,7)$  е.г.а. і чухання  $(6,8 \pm 0,4)$  е.г.а. і практично не впливала на обтрушування  $(5,3 \pm 0,4)$  е.г.а.

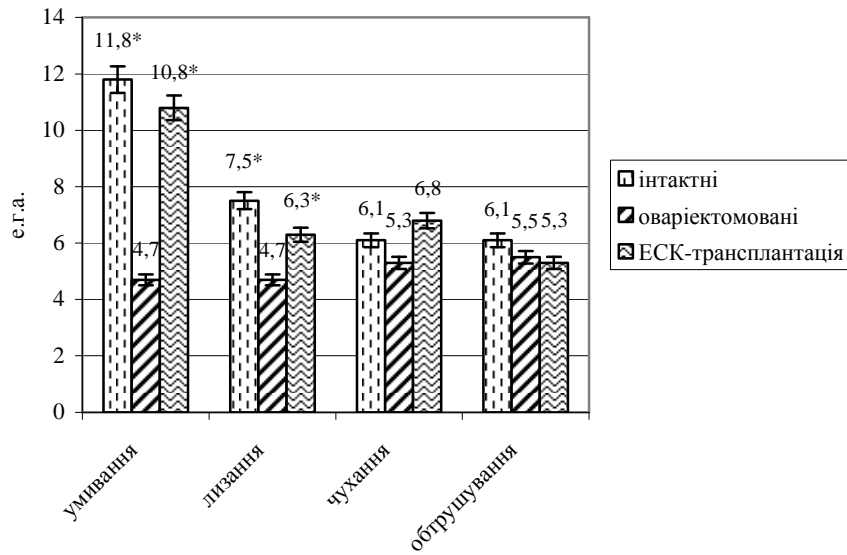


Рис. 1. Зміна кількості різних елементарних актів грумінгу у оварієктомованих самиць щурів до і після трансплантації ЕСК.

Примітка. \* –  $p \leq 0,05$  при порівнянні з гонадектомованими щурами.

Загальна грумінгова активність, яка складала в інтактних самиць  $(31,6 \pm 2,5)$  е.г.а., в оварієктомованих щурів була вірогідно зниженою  $(20,2 \pm 0,7)$  е.г.а., але після введення ЕСК підвищувалась до нормального рівня –  $(29,2 \pm 1,5)$  е.г.а. Суттєві зміни зазнавав і час, який тварини витрачали на грумінг. Після видалення яєчників значення цього показника знижувалось майже вдвічі і складало  $(63,2 \pm 5,4)$  с на відміну від інтактних особин, у яких воно складало  $(123,8 \pm 16,1)$  с. Трансплантація ЕСК також приводила до відновлення часу грумінгу тварин до нормального рівня –  $(130,1 \pm 10,3)$  с (рис. 2).

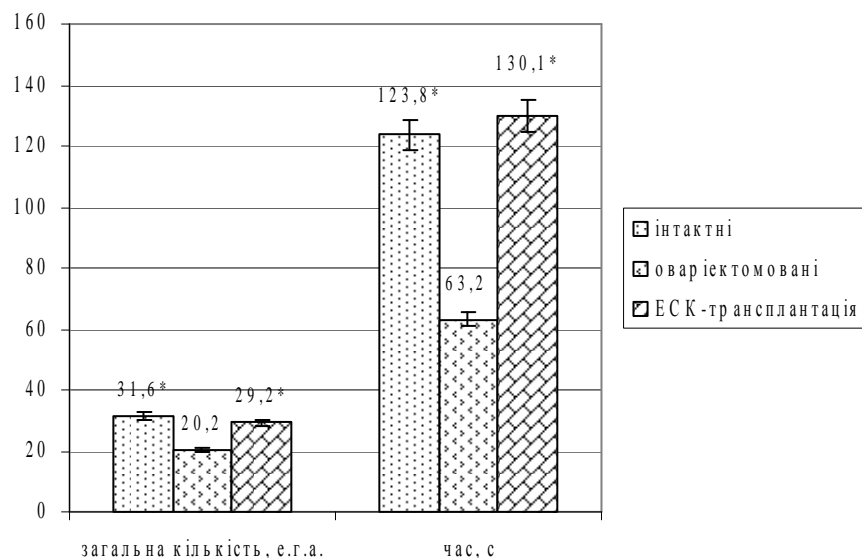


Рис. 2. Зміна загальної кількості грумінгових актів і часу грумінгу у гонадектомованих самиць щурів до і після трансплантації ЕСК.

Примітка. \* –  $p \leq 0,05$  при порівнянні з гонадектомованими щурами.

На рис. 3 наведено зміни інтенсивності і відсотку часу грумінгу – показників, що характеризують міру комфортної поведінки тварини. Якщо в оварієктомованих щурів інтенсивність грумінгу зазнавала невірогідного підвищення (з  $(41,7 \pm 6,1)\%$  до  $(44,9 \pm 6,5)\%$ ), то після введення ЕСК вона ставала майже вдвічі нижчою за встановлену норму і складала  $(24,9 \pm 1,0)\%$ . У той же час показник відсотка часу грумінгу вірогідно знижувався після оварієктомії ( $7,0 \pm 0,6\%$ ) по відношенню до інтактних тварин ( $(13,8 \pm 1,8)\%$ ) та успішно коректувався введенням ЕСК кордової крові ( $(14,5 \pm 1,1)\%$ ).

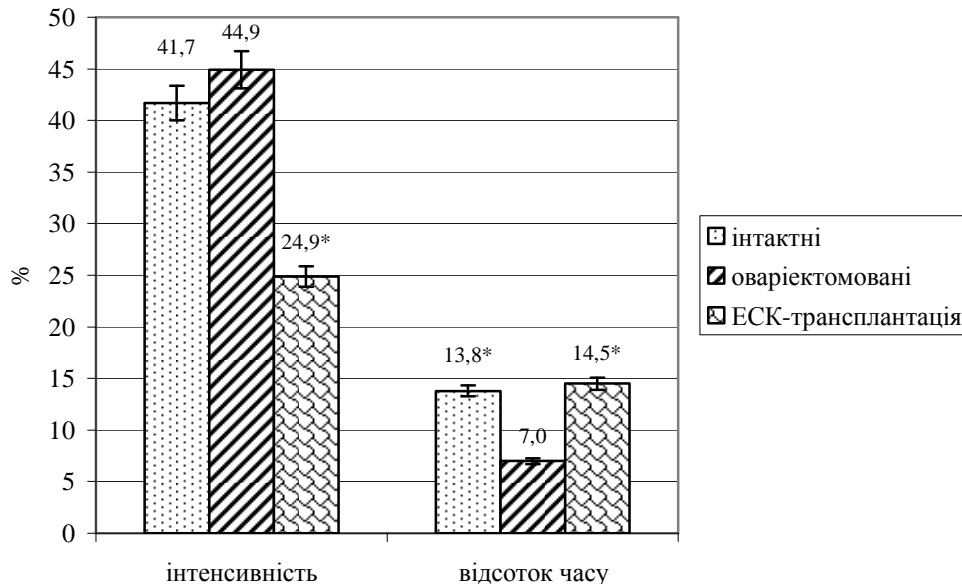


Рис. 3. Інтенсивність та відсоток часу грумінгу гонадектомованих самиць щурів до і після трансплантації ЕСК.

Примітка. \* –  $p \leq 0,05$  при порівнянні з гонадектомованими щурами.

Таким чином, можна говорити про те, що посткастраційний синдром у самиць щурів викликає вірогідне зменшення кількості окремих актів грумінгу і зниження грумінгової активності в цілому. При цьому інтенсивність грумінгу не зазнає істотних змін, але знижується відсоток часу грумінгу. Треба зазначити, що не зважаючи на відновлення початкового рівня окремих видів грумінгової активності після застосування ЕСК, нами спостерігалось зниження інтенсивності грумінгу, що може бути розцінено як відхилення поведінки тварини від комфортного стану.

Як відомо, прогресуюча гонадна недостатність призводить не лише до порушення циклічності продукції та секреції рилізінг-факторів, але й до загального десинхронозу, що розвивається в первинних осциляторах біологічних ритмів, таких як супрахіазматичні ядра гіпоталамуса [4]. Безумовно, це відображається на функціональній активності нейронів гіпокампу, мигдалини та інших мозкових структур, призводячи до численних і різноманітних змін вегетативних і поведінкових реакцій [5].

Оскільки естрогенна недостатність, що розвинулась унаслідок оварієктомії, суттєво знижувала грумінгову активність, цей факт може підтверджувати ідею про участь естрогенів у формуванні елементарних нейрональних мереж на рівні переднього гіпоталамуса і гіпокампа. У той же час не можна виключити зменшення прямого активуючого впливу статевих гормонів на преоптико-супрахіазматичну область гіпоталамуса [6, 7]. Цілком можливо, що обидва ці механізми є тісно поєднаними між собою.

### Висновки

1. Більшість показників грумінгу виявили чутливість до змін, які відбувались в організмі за гонадної недостатності та при її корекції трансплантацією ембріональних стовбурових клітин.

2. Застосування трансплантації ембріональних стовбурових клітин, за оцінкою інтенсивності грумінгу як показника комфортної поведінки, викликало її відхилення від притаманної тваринам у стані комфорту.

### Список літератури

1. *Калуев А. В.* Стресс, тревожность и поведение / А. В. Калуев. – К: Энигма, 1998. – 92 с.
2. *Свидерская Г. Е.* Развитие груминга в онтогенезе крыс и мышей / Г. Е. Свидерская, Л. Е. Дмитриева // Журн. эволюц. биохимии и физиологии. – 1993. – Т. 29, № 4. – С. 36–39.
3. *Патент № 16150*, UA. МКВ: А61В5/00. Спосіб оцінки стану організму тварини. Кустов Д. Ю., Ракша-Слюсарева О. А., Слюсарев О. А., Друпп Ю. Г. Заява № u200602422 від 06.03.2006. Друк. 17.07.2006. Бюл. № 7.
4. *Сравнительный анализ* дипсогенных эффектов системного и внутримозгового введения ангиотензина 2 у крыс после каротидной гломэктомии / [О. Н. Серова, Л. В. Шевченко, А. И. Елфимов и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины: Междунар. науч.-теор. журн. РАМН. – 2006. – Т. 141, № 7. – С. 8–12.
5. *Estrogen receptor-beta in oxytocin and vasopressin neurons of the rat and human hypothalamus: Immunocytochemical and in situ hybridization studies* / [E. Hrabovszky, I. Kallo, A. Steinhauser, I. Merchenthaler, C. W. Coen, S. L. Petersen, Z. Liposits] // J. Comp. Neurol. – 2004. – Vol. 473, № 3. – P. 315–333.
6. *Вивчення* механізмів регуляції та ініціації локомоторних і температурних біоритмів преоптичною ділянкою гіпоталамуса у білих щурів / [Н. Т. Лапенко, В. В. Оленич, В. А. Коноплянко, Д. Ю. Кустов] // Фізіол. журн. – 1998. – Т. 44, № 3. – С. 40.
7. *Владимиров С. В.* Супрахиазматические ядра гипоталамуса: роль в регуляции циркадианных ритмов, старение, нервные связи, развитие в онтогенезе / С. В. Владимиров, Н. В. Угрюмов // Успехи соврем. биологии. – 1995. – Т. 115, вып. 2. – С. 185–197.

**Казаков В. Н., Тарапата Н. И., Кравцов П. Я., Кустов Д. Ю., Кокина И. В.** Груминговая активность самок крыс с моделью гонаддефицитного состояния до и после трансплантации эмбриональных стволовых клеток. – Стаття посвящена исследованию груминга у самок крыс после двустороннего удаления яичников и последующей коррекции гонаддефицитного состояния трансплантацией эмбриональных стволовых клеток кордовой крови. Гонадэктомия приводила к снижению количества отдельных элементов груминга и груминговой активности в целом. Трансплантация стволовых клеток в целом восстанавливала исходный уровень груминга, что свидетельствует о её способности корректировать поведение крыс с эндокринной дисфункцией, в частности гонадной недостаточностью.

*Ключевые слова:* груминг, гонадная недостаточность, трансплантация стволовых клеток.

**Kazakov V. M., Tarapata M. I., Kravtsov P. Ya., Kustov D. Yu., Kokina I. V.** Grooming activity in female rats with gonadal deficiency model prior to and after embryonic stem cell transplantation. – The article describes grooming activity in female rats after bilateral gonadectomy and consequent gonadal deficiency status correction by cord-blood embryonic stem cell (ESC) transplantation. Ovariectomy caused decrease of most elementary grooming acts and general grooming activity. Stem cell transplantation restored the initial grooming activity level significantly, thus proving the method's potentialities of behaviour correction in rats with endocrine malfunction including gonadal insufficiency.

*Key words:* grooming, stem cell transplantation, gonadal deficiency.