

УДК 616.72-002.77+599.323.4].085

© Д. Ю. Кустов, П. Я. Кравцов, І. В. Кокіна, Н. В. Сюсюк  
**ГРУМІНГОВА АКТИВНІСТЬ САМЦІВ БІЛИХ ЩУРІВ З МОДЕЛЛЮ  
РЕВМАТОЇДНОГО АРТРИТУ**

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

**Кустов Д. Ю., Кравцов П. Я., Кокіна І. В., Сюсюк Н. В. Грумінгова активність самців білих щурів з моделлю ревматоїдного артрити.** – Стаття присвячена дослідженню грумінгової поведінки у щурів після моделювання ревматоїдного артрити. На підґрунті отриманих результатів було зроблено висновки про суттєве зниження грумінгової і взагалі рухової активності у щурів з моделлю ревматоїдного артрити, що дає можливість запропонувати ці поведінкові тести для оцінки вираженості та перебігу системних аутоімунних розладів.

*Ключові слова:* грумінг, ревматоїдний артрит.

### **Вступ**

Погіршення екологічних умов у техногенних зонах, зокрема в Донбасі, підвищення радіаційного фону в шахтарських регіонах та Україні в цілому призводять до дисбалансу в нейроімуноендокринній системі, зокрема її імунній ланці. Одним з клінічних проявів цього дисбалансу є ревматоїдний артрит (РА) – хронічне аутоімунне системне запальне захворювання сполучної тканини з переважним пошкодженням суглобів за типом ерозивно-деструктивного прогресивного поліартрити [1]. Поширеність РА в промислово розвинених країнах досягає 2% від загальної чисельності населення [2, 3], що робить украй важливим всебічне дослідження цієї патології.

Серед мешканців України на РА хворіє понад один відсоток населення, переважно жіночої статі. Незважаючи на значну кількість теорій етіопатогенезу, жодна з них не отримала загального визнання, що відповідно зумовлює й відсутність ефективних та безпечних засобів базисного лікування. При цьому загальноприйнята терапія, яка передбачає довгострокове призначення гормонів, з одного боку, не попереджує віддалених наслідків захворювання, а з іншого – сама по собі призводить до припинення роботи власних наднирників реципієнта, стає причиною розвитку вторинної недостатності системи імунітету, ендокринопатій, а в майбутньому – остеопорозу та гормональної залежності (формуванню вторинної наднирникової недостатності). Для компенсації вторинної наднирникової недостатності перспективним є включення до комплексу лікування трансплантації культур наднирників [4-6].

Доведено, що в основі патогенезу РА лежать аутоімунні процеси. Це зареєстровано морфологічно та виражається змінами місцевого імунітету в суглобах, де реєструється інфільтрація синовіальної оболонки Т-лімфоцитами CD4+, плазматичними клітинами, макрофагами. Інколи у хворих на РА в крові виявлялись аутоантитіла до ДНК, ядер клітин, формених елементів крові, колагену II типу та ін. Ознаки імунного запалення виявляються і в крові хворих на РА. За даними багатьох досліджень це виявляється збільшенням вмісту субпопуляції Т-лімфоцитів хелперів, дефіцитом Т-лімфоцитів супресорів, збільшенням рівня циркулюючих імунних комплексів [7-9]. На противагу цьому останнім часом з'явилися публікації щодо розвитку недостатності системи імунітету в разі аутоімунного процесу у хворих на РА [10].

При розвитку РА можливі значні розлади в роботі центральної нервової системи (ЦНС). Таким чином, перспективним є вивчення механізмів впливу РА на ЦНС, а також пошук інформативних критеріїв оцінки перебігу РА.

Грумінг – це складний комплекс поведінкових реакцій, спрямованих на очищення шкіри тварини, який складається з моторного та психічного компонентів. Тому можливо припустити, що РА призводитиме до його суттєвих змін. Виходячи з цього, за мету даної роботи було поставлене дослідження грумінгу у щурів зі змодельованим РА.

### Матеріал і методи дослідження

Дослідження проводились у лабораторії клінічної і прикладної нейрофізіології ДонНМУ на 20 самцях безпорідних білих щурів масою від 180 до 300 г, випадковим чином розподілених на експериментальну та контрольну групи по 10 особин у кожній.

Моделювання РА здійснювали за методикою Ікуо Като [11] у власній модифікації із застосуванням бичачого сироваточного альбуміну (БСА) та пікрілхлориду.

Спостереження за реакціями самоочищення проводили в різний час протягом всієї доби на 30 день експерименту. Для реєстрації показників грумінгу щурів поміщали до біоритмокамери розробки лабораторії «Клінічної і прикладної нейрофізіології» ДонНМУ сумісно з ТОВ «Медтехприбор». Перші 15 хвилин відводились для адаптації до умов камери, після чого протягом подальших 15 хвилин проводили візуальне спостереження і підрахунок 4-х різних видів спонтанних рухів очищення шкіри (умивання, лизання, чухання і обтрушування) [12]. Крім того, ми фіксували загальну кількість рухів самоочищення і загальний час, що тварина витрачає на грумінг за період спостереження, обчислювали інтенсивність грумінгу та відсоток часу грумінгу як додаткові показники [13]. Один рух самоочищення приймався за один елементарний грумінговий акт (е.г.а.).

Фіксувалась також загальна рухова активність (тобто переміщення по клітці) щурів, яка була виражена в процентному відношенні до загального часу спостереження.

Аналіз результатів спостережень проводили у середовищі пакетів статистичного аналізу MedStat і Statistica.

Для обробки даних, отриманих у процесі дослідження, застосовувались методи описової статистики, обчислювались значення середнього арифметичного ( $x_{cp}$ ) і довірчого інтервалу (ДІ) за  $\alpha=0,05$ . Коли розподіл ознак не відрізнявся від нормального, для порівняння середніх використовувався критерій Стьюдента, якщо ж розподіл відрізнявся від нормального, – критерій Вілкоксона.

### Результати та їх обговорення

У таблиці наведено дані щодо елементарних компонентів грумінгу та загального часу, який тварини витрачають на грумінг за період спостереження (табл. 1).

Таблиця 1

#### Основні грумінгові показники у щурів різних експериментальних груп

Групи	Показники грумінгу				
	умивання, е.г.а.	лизання, е.г.а.	чухання, е.г.а.	обтрушування, е.г.а.	час, с
Інтактні	9,20±0,30	7,50±0,20	6,80±0,19	5,00±0,15	160,27±3,08
РА-модель	4,50±0,15*	3,77±0,12*	5,80±0,13	2,30±0,11*	76,33±1,44*

Примітка. \* –  $p \leq 0,05$  при порівнянні з інтактними тваринами.

Як бачимо, у щурів з моделлю РА вірогідно знижувались кількість актів умивання, лизання та обтрушування, а також час грумінгу. При цьому чухальна активність істотних змін не зазнавала. Підраховуючи кількість усіх грумінгових актів за період спостереження, ми визначаємо, що при РА загальна грумінгова активність знижалась майже вдвічі (16,37±0,28 е.г.а.) у порівнянні з інтактними тваринами (28,50±0,35 е.г.а.).

Аналізуючи інтегративні показники грумінгової активності (рис. 1), тобто інтенсивність та відсоток часу грумінгу, ми відмітили, що у щурів з РА інтенсивність грумінгу дещо підвищувалась (з (19,91±0,35)% до (22,32±0,31)%), а відсоток часу грумінгу, навпаки, зазнавав зниження (з (17,81±0,34)% до (8,48±0,16)%). Загальна рухова активність також була зниженою: якщо в інтактних тварин вона склала (3,89±0,09)%, то у щурів зі змодельованим РА – находилась на рівні (1,77±0,06)%.

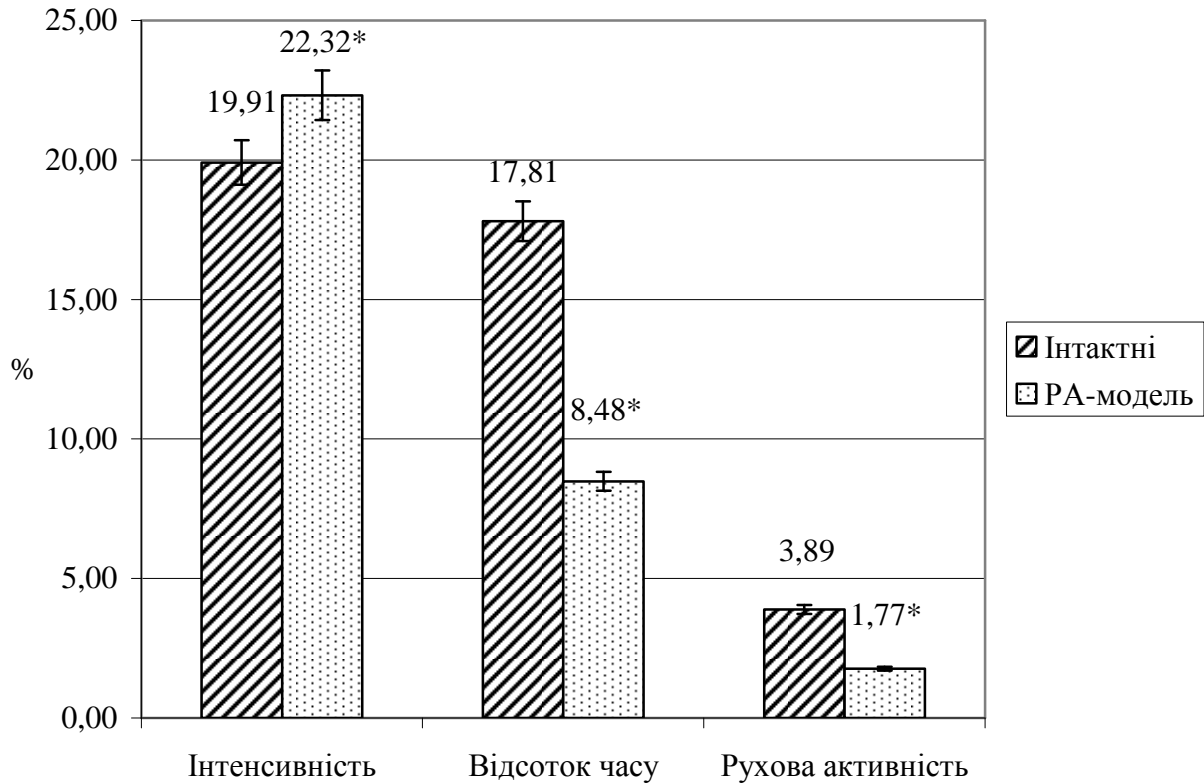


Рис. 1. Зміна інтегративних показників грумінгу (інтенсивності та відсотка часу грумінгу), а також показника загальної рухової активності в інтактних щурів та тварин з моделлю РА.

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

Вищенаведені результати доводять суттєвий вплив моделі РА на поведінку. Вибір саме безпорідних, тобто генетично та фенотипічно гетерогенних, а не лінійних інбредних щурів, для цієї роботи зумовлено необхідністю нівелювання вираженої залежності сприйнятливості до ад'ювант-артриту та пов'язаних з ним поведінкових реакцій від належності тварини до тієї чи іншої лінії [14].

Зниження значень майже всіх вивчених нами показників при розвитку РА може бути пов'язане із загальним дискомфортом, спричиненим запальним процесом, тобто з пригніченням психічного стану тварини, що підтверджує думку більшості авторів про належність грумінгу до «поведінки комфорту» [15]. Ймовірно, значну роль у цьому відіграє ноцицептивний ефект медіаторів запального процесу, які активують больові рецептори та знижують больовий поріг відповідних нейронів у ЦНС. Але не слід виключати і механізми прямої інгібіторної дії цитокінів на пригнічення центрів моторної активності грумінгу в гіпокампі.

Дослідники відзначають паралелізм нервово-психічних розладів у людей з РА та порушень поведінки у тварин з експериментальною моделлю РА. Останнім часом з'явилося багато клінічних спостережень, які підтверджують взаємний зв'язок між параметрами імунітету при РА та вищою нервовою діяльністю: різними типами поведінки та психоемоційними станами (стрес, тривога, депресія та ін.) [16]. У багаторічній серії експериментів з моделювання РА Cardinali et al. [17] дійшли висновку, що формування ад'ювант-артриту у щурів супроводжується розладами циркадіанних ритмів, поверхневим сном, зниженням активності тощо, зумовленими цілою низкою нейроімунноендокринних змін. Наведені дані підтримують одержані нами результати вивчення поведінкових тестів та вказують на необхідність подальших досліджень у цьому напрямку.

### Висновки

1. У щурів з моделлю ревматоїдного артриту спостерігається зниження грумінгової та загальної рухової активності.
2. Грумінг-тест є адекватним комплексним критерієм оцінки розвитку системних аутоімунних розладів.

### Список літератури

1. Справочник по ревматологии / Под ред. В. А. Насоновой. – М.: Медицина, 2000. – С. 75–80.
2. *Emery P. Rheumatoid Arthritis* / P. Emery, M. Suarez-Almazor // *Clin. Evid.* – 2003. – Vol. 10. – P. 1454–1476.
3. Современные стандарты фармакотерапии ревматоидного артрита / [Е. Л. Насонов, Д. Е. Каратеев, Н. В. Чичасова, Н. А. Чемерис] // *Клиническая фармакология и терапия.* – 2005. – Т. 14, № 1. – С. 72–75.
4. Трансплантация органной культуры коркового вещества надпочечников в лечении постадреналэктомического гипокортицизма / [Р. М. Сичинава, С. И. Рыбаков, И. В. Комиссаренко, И. С. Турчин] // *Клин. хир.* – 1997. – № 11–12. – С. 51–53.
5. Експериментальна трансплантація органотипової культури надниркових залоз в ало-та ксеногенній системах / [Н. М. Алабедалькарім, Г. А. Божок, Є. І. Легач, Т. П. Бондаренко] // *Трансплантологія.* – 2004. – Т. 7, № 3. – С. 223–225.
6. Ксенотрансплантація кріоконсервованного ендокринного матеріалу як метод корекції гіпофункції залоз в експерименті / [Т. П. Бондаренко, Г. А. Божок, Н. М. Алабедалькарім, Є. І. Легач, С. В. Луговий, Н. О. Волкова, І. І. Самченко] // *Трансплантологія.* – 2003. – Т. 4, № 4. – С. 60–63.
7. *Славянская Т. А.* Иммунореабилитация больных ревматоидным артритом на амбулаторном и санаторно-курортном этапах лечения / Т. А. Славянская, Р. И. Сепиашвили, М. Н. Вишнякова // *Int. J. Immunorehabil.* – 1999. – № 11. – С. 144–155.
8. Increased expression of CD40 ligand (CD154) in CD4+T cells as a marker of disease activity in rheumatoid arthritis / [Bernier Beate, Wolf Gabriele, Hummel Klaus M., Muller Gerhard A., Reuss-Borst Monika A.] // *Ann. Rheum. Diseases.* – 2000. – V. 59, № 3. – P. 190–195.
9. *Сепиашвили Р. И.* Фенотипические особенности лимфоцитов крови у больных ревматоидным артритом (РА) / Р. И. Сепиашвили, Т. А. Славянская // II Съезд иммунологов России (г. Сочи, 6–10 сентября 1999 г.) // *Russ. J. Immunol.* – 1999. – 4, Suppl. 1. – P. 143.
10. *Ніколенко Ю. І.* Взаємозв'язані порушення імунітету і пуринового обміну при аутоімунних захворюваннях та процесах: автореф. дис. ... докт. мед. наук / Ю. І. Ніколенко. – К., 1994. – 25 с.
11. *Kato Ikuo.* Suppressive effects of the oral administration of *Lactobacillus casei* on type II collagen-induced arthritis in DBA/1 mice / Ikuo Kato, Kazuko Endo-Tanaka, Teruo Yokokura // *Life Sciences.* – 1998. – Vol. 63, N 8. – P. 635–644.
12. *Свидерская Г. Е.* Развитие груминга в онтогенезе крыс и мышей / Г. Е. Свидерская, Л. Е. Дмитриева // *Журн. эвол. биохимии и физиологии.* – 1993. – Т. 29, № 4. – С. 36–39.
13. 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.
14. *Dimitrijevic M.* Behavior and severity of adjuvant arthritis in four rat strains / M. Dimitrijevic, O. Laban, V. J. Djuric // *Brain Behavior and Immunity.* – 2001. – Vol. 15, Iss. 3. – P. 255–265.
15. *Калуев А. В.* Стресс, тревожность и поведение / А. В. Калуев. – К.: Энигма, 1998. – 92 с.
16. *Лещинская В. В.* Характеристика психосоматических механизмов при бронхиальной астме и ревматоидном артрите / В. В. Лещинская // Тез. докл. VII междисц. конф. по биологической психиатрии «Стресс и поведение». – М., 2003. – С. 34.

17. *Cardinali D. P.* Circadian disorganization in experimental arthritis / *D. P. Cardinali, A. I. Esquifino* // *Neurosignals*. – 2003. – Vol. 12, Iss. 6. – P. 267–282.

**Кустов Д. Ю., Кравцов П. Я., Кокина И. В., Сюсюк Н. В.** Груминговая активность самцов белых крыс с моделью ревматоидного артрита. – Статья посвящена исследованию грумингового поведения у крыс после моделирования ревматоидного артрита. На основе полученных результатов были сделаны выводы о существенном снижении груминговой и вообще двигательной активности у крыс с моделью ревматоидного артрита, что дает возможность предложить эти поведенческие тесты для оценки выраженности и протекания системных аутоиммунных расстройств.

*Ключевые слова:* груминг, ревматоидный артрит.

**Kustov D. Yu., Kravtsov P. Ya., Kokina I. V., Syusyuk N. V.** Grooming activity in male white rats with rheumatoid arthritis model. – The article describes grooming behavior in rats after rheumatoid arthritis modelling. The results obtained demonstrate expressed decrease of grooming and general motor activity in rats with rheumatoid arthritis model, thus making the background for these behavioral tests being used in estimation of degree and course of systemic autoimmune disorders.

*Key words:* grooming, rheumatoid arthritis.