

## ВПЛИВ МЕМАНТИНУ НА РУХОВІ ПОВЕДІНКОВІ ФЕНОМЕНИ У ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

Надійшла 27.05.2014

Хвороба Альцгеймера є одним із нейродегенеративних захворювань, для яких є характерними істотне погіршення пам'яті, розлад емоційної сфери, порушення когнітивних і рухових функцій. Як потенційні терапевтичні агенти для корекції цих порушень використовуються антагоністи NMDA-рецепторів, одним із яких є мемантин. Даний препарат уповільнює прогресування нейродегенеративних процесів і зумовлює нейромодулюючу дію. Ми оцінювали рухові поведінкові феномени у щурів у віці два і 13 місяців, поміщених у нові умови вільної поведінки, до та після введення орально 10 мг/кг мемантину. В експериментах використовувалася відеореєстрація поведінки тварин з подальшим аналізом відеозаписів. Згідно з отриманими даними, мемантин зменшував рухову активність щурів і збільшував час їх перебування в спокійному нерухомому стані. Вікові відмінності полягали в інтенсивнішому пригніченні рухової активності у старіших тварин. Отримані результати свідчать про те, що мемантин послаблює стани страху і тривоги, викликані потенційними загрозами при незнайомому оточенні, сприяє прояву дослідницького рефлексу та швидкій адаптації щурів до нових умов.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** щури, рухова поведінка, відеореєстрація, мемантин.

### ВСТУП

Хвороба Альцгеймера (ХА) – одне із нейродегенеративних захворювань, яке супроводжується поступовим розвитком дегенерації різних структур мозку, пов'язаної з масовою загибеллю нейронів та гліальних клітин. Це призводить до погіршення пам'яті, розладу емоційної сфери, порушенню когнітивних та рухових функцій [1]. Щодо патогенезу ХА найбільш поширеною є гіпотеза про ключову роль порушень процесів протеїногенезу, які призводять до продукції в ЦНС патологічної форми амілоїдного білка та його агрегації у вигляді скупчень амілоїду  $\beta$ -42. Одним із механізмів нейротоксичності останнього є посилення в його присутності ексайтотоксичності збуджуючих нейротрансмітерних амінокислот – глутамату та аспартату [2–4]. Існує думка, що аномальні впливи глутамату, зокрема на NMDA-рецептори, є важливим фактором,

який задіяний у патогенез ХА. У зв'язку з цим при створенні засобів нейропротективного лікування гострих та хронічних нейродегенеративних захворювань доцільним є пошук антагоністів NMDA-рецепторів. Одним із таких агентів виявився препарат мемантин – неконкурентний низькоафінний антагоніст даних рецепторів. У низці доклінічних досліджень з використанням моделей нейродегенерації був показаний протективний ефект мемантину щодо пошкодження  $\beta$ -амілоїдом клітин гіпокампа – структури, безпосередньо залученої в процеси формування пам'яті та навчання [5, 6]. Беручи до уваги те, що ХА супроводжується психопатичними розладами (емоційні розлади, підвищена тривожність, неспокій, депресія, дезорієнтація, апатія) щодо навколишнього середовища, проблеми з руховою активністю, втрата здатності до самостійного мислення, використання експериментальних ситуацій із вимірюванням відповідних показників може бути одним із методів у пошуку ефективних засобів корекції феноменів, пов'язаних із нейродегенерацією. Доведено, що характер рухової активності та інших поведінкових феноменів щурів, поміщених у незнайоме оточення, значною мірою зумовлений їх психоемоційним статусом [7]. Від-

<sup>1</sup>Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).

<sup>2</sup>Міжнародний центр молекулярної фізіології НАН України, Київ (Україна).

<sup>3</sup>Київський національний університет ім. Тараса Шевченка (Україна).

Ел. пошта: elena@biph.kiev.ua (О. О. Лук'янець)

повідні тести можуть бути використані для оцінки ефективності впливу різних фармакологічних речовин на окремі форми виявлення психоемоційних розладів.

У наших експериментах було досліджено особливості впливу мемантину на основні форми рухової та дослідницької поведінки щурів різного віку.

## МЕТОДИКА

Досліди були проведені на самицях щурів лінії Вістар (вік два або 13 місяців, середня маса тіла 200 та 300 г відповідно). Двомісячні тварини класифікувались як молоді, а 13-місячні – як зрілі. Тварин утримували в стандартних умовах віварію по п'ять особин у клітках при вільному доступі до їжі та води. Тестування поведінкових феноменів проводили за допомогою поміщення тварини в непрозорий бокс з верхнім освітленням. Різні поведінкові феномени фіксували із застосуванням відеокамери, розташованої над боксом. Використаний нами метод відеореєстрації поведінки є певним аналогом широко використовуваного тесту „відкрите поле”. Цей підхід дає можливість фіксувати в часі та аналізувати кількісні показники окремих поведінкових актів, притаманних щурам, – горизонтальну рухову активність (локомоцію) та вертикальну активність (стійки), стан нерухомості, грумінг та інші можливі форми. Відсутність безпосереднього спостереження поведінки тварин експериментатором сприяє

об'єктивізації отримуваних результатів, знижуючи вірогідність впливу сторонніх факторів на поведінку тварини. Аналіз відеозображень проводили з використанням програмного забезпечення «SitAndWait» (П. Сабо і Я. Кіц, Угорщина). Програма дозволяє здійснювати автоматизований аналіз характеристик поведінкових проявів. На початку тестування щура вміщували в центр боксу; відеореєстрацію проводили протягом 10.4 хв (624 с). Визначали кількість кожного поведінкового прояву (стійок, грумінгу, завмирань та локомоції) протягом періоду спостереження та їх тривалість. Контролем слугували щури віком два та 13 місяців, яких вперше вміщували в бокс та не піддавали жодним спеціальним впливам. Тваринам дослідної групи попередньо вводили перорально акатінол мемантин (“Merz Pharma”, ФРН) у дозі 10 мг/кг; реєстрацію поведінкових актів у боксі починали через 60 хв. Статистичну обробку числових даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення „Origin Pro 8.0”.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Щури двох різних вікових груп у контролі демонстрували певну специфіку окремих поведінкових реакцій. Молоді щури були більш рухливими, ніж 13-місячні (див. таблицю). Їх локомоторна активність приблизно втричі перевищувала за інтенсивністю активність щурів зрілого віку ( $P < 0.05$ ). У молодих тварин спостерігалось дещо більше стійок, а час перебування в стані завмирання про-

### Вплив мемантину на поведінкові феномени у щурів

Поведінковий феномен	Кількість поведінкових подій даного типу протягом періоду спостереження			
	контроль ( $n = 10$ )		після введення мемантину ( $n = 10$ )	
	молоді тварини ( $n = 5$ )	зрілі тварин ( $n = 5$ )	молоді тварини ( $n = 5$ )	зрілі тварини ( $n = 5$ )
Сійки	48.6 ± 19.2	30.0 ± 9.2 <sup>x</sup>	129 ± 12.7 <sup>**</sup>	4.4 ± 0.9 <sup>**xx</sup>
Грумінг	150.2 ± 36.8	75 ± 36.0	145.7 ± 107.7	119.0 ± 44.2
Завмирання	41.6 ± 14.4 <sup>*</sup>	73.3 ± 10.1 <sup>***x</sup>	405.7 ± 94.4 <sup>**</sup>	1128 ± 92.3 <sup>***xx</sup>
Рух	163.4 ± 17.3 <sup>*</sup>	48.5 ± 6.7 <sup>xx</sup>	86.7 ± 19.2 <sup>*</sup>	59.6 ± 22.4

Примітки. Вказані середні значення та похибки середнього. Один, два та три символи позначають випадки вірогідних відмінностей з  $P < 0.05$ ;  $P < 0.01$  та  $P < 0.001$  при міжгруповому порівнянні тварин у контролі та після введення мемантину (зірочки) та молодих та зрілих тварин (хрестики).

тягом періоду спостереження був вдвічі меншим, ніж у зрілих щурів; удвічі більшою була середня кількість епізодів грумінгу. Треба, проте, вказати, що відмінності в трьох останніх типах поведінки були статистично невірогідними (що було, очевидно, пов'язане з високою інтеріндивідуальною варіабельністю показників). Для щурів зрілого віку характерною була відповідно короткочасна локомоторна активність, яка переривалася не дуже частими, але довготривалими епізодами завмирання.

Мемантин чинив в основному заспокійливий вплив на поведінку щурів обох вікових груп, про що свідчило збільшення тривалості епізодів нерухомості. У молодих тварин кількість завмирань була більшою, ніж у контролі, майже на порядок, а у старших щурів – у 15 разів. У молодих тварин під впливом мемантину також ставала більшою кількість стійок (у 2.6 разу). Ці поведінкові феномени вважаються показником дослідницької активності, чутливим до рівня тривожності [8]. У той же час у старших тварин даний показник під дією мемантину драматично зменшувався (у 6.8 разу). На тлі дії мемантину відбувалася зміна якісних характеристик процесу грумінгу. В контрольній групі він частіше був короткочасним, переривчастим, що розглядається як показник збудженого стану тварини, прояв стану напруги або конфлікту дослідницької мотивації та страху. Довготривалі акти грумінгу, що превалювали в даній віковій групі на тлі дії мемантину, дослідники оцінюють як елемент комфортної поведінки [9, 10]. У кількісному відношенні відповідні відмінності згаданого показника виявилися статистично невірогідними, що було пов'язане зі значними індивідуальними варіаціями проявів поведінки цього типу. У щурів старшої вікової групи мемантин значно загальмовував вертикальну рухову активність. Після короткочасної інтенсифікації дослідницької поведінки протягом початкового періоду після поміщення в бокс надалі тварини в основному перебували в малорухомому спокійному стані до кінця експерименту. Згідно з результатами дослідів із примусовим плаванням та в умовах „класичного” тесту «відкрите поле» [11–13] мемантин також виявляв ефекти, котрі можна кваліфікувати як антидепресивні.

Таким чином, збільшення часу перебування щурів обох вікових груп у спокійному нерухомому стані та модифікації інших поведінкових феноменів під впливом мемантину свідчать про послаблен-

ня страху та тривоги у таких тварин. Це сприяє їх швидшій адаптації до нового оточення. Отже, неконкурентний антагоніст НМДА-рецепторів досить істотно впливає на моторні та емоційнозалежні поведінкові феномени у щурів.

Дослідження виконувалися згідно з положеннями Міжнародної конвенції із захисту тварин, яких використовують в експериментах (Страсбург, 1986), а також відповідно до положень Комітетів з біоетики Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, а також Київського національного університету ім. Тараса Шевченка.

Автори даної роботи – Ж. О. Крученко, В. А. Горбаченко, І. С. Черета та О. О. Лук'янець – підтверджують, що в них немає конфлікту інтересів.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Н. Н. Яхно, В. В. Захаров, А. Б. Локшина и др., *Деменции: Руководство для врачей*, МедПресс-Информ, Москва (2013).
2. S. M. Rothman and J. W. Olney, "Excitotoxicity and the NMDA receptor-still lethal after eight years," *Trends Neurosci.*, **18**, 57-58 (1995).
3. Z. C. Wang, J. Zhao, and S. Li, "Dysregulation of synaptic and extrasynaptic N-methyl-D-aspartate receptors induced by amyloid-beta," *Neurosci. Bull.*, **29**, 752-760 (2013).
4. S. I. Mota, I. L. Ferreira, and A. C. Rego, "Dysfunctional synapse in Alzheimer's disease - A focus on NMDA receptors," *Neuropharmacology*, **76**, Part A, 16-26 (2014).
5. G. L. Wenk, W. Danysz, and S. L. Mobley, "Investigations of neurotoxicity and neuroprotection within the nucleus basalis of the rat," *Brain Res.*, **655**, 7-11 (1994).
6. G. Z. Reus, R. B. Stringari, T. R. Kirsch, et al., "Neurochemical and behavioural effects of acute and chronic memantine administration in rats: Further support for NMDA as a new pharmacological target for the treatment of depression?" *Brain Res. Bull.*, **81**, 585-589 (2010).
7. Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон, *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*, Высш. шк., Москва (1991).
8. J. Bruhwiler, J. F. Liegeois, C. Lejeune, et al., "New dibenzazepine derivatives with disinhibitory and/or antidepressant potential: neurochemical and behavioural study in the open-field and forced swimming tests," *Behav. Pharmacol.*, **6**, 830-838 (1995).
9. В. П. Самохвалов, *Эволюционная психиатрия*, ИМИС НПФ Движение, Москва (1993).
10. A. M. van Erp, M. R. Kruk, W. Meelis, et al., "Effect of environmental stressors on time course, variability and form of self-grooming in the rat: handling, social contact, defeat, novelty, restraint and fur moistening," *Behav. Brain Res.*, **65**, 47-55 (1994).
11. J. J. Miguel-Hidalgo, X. A. Alvarez, R. Cacabelos, et al., "Neuroprotection by memantine against neurodegeneration induced by beta-amyloid (1-40)," *Brain Res.*, **958**, 210-221 (2002).

12. Z. Rogoz, G. Skuza, J. Maj, et al., "Synergistic effect of uncompetitive NMDA receptor antagonists and antidepressant drugs in the forced swimming test in rats," *Neuropharmacology*, **42**, 1024-1030 (2002).
13. G. Skuza and Z. Rogoz, "Sigma1 receptor antagonists attenuate antidepressant-like effect induced by co-administration of 1,3 di-o-tolylguanidine (DTG) and memantine in the forced swimming test in rats," *Pol. J. Pharmacol.*, **55**, 1149-1152 (2003).