ISSN 2072-2419

№ 4

Международный вестник ветеринарии

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ- 2013

www.gavm.spb.ru

Международный вестник ветеринарии 4.2013

Редакционный совет
А.А. Стекольников – гл. ред., член-корр. РАСХН, д.в.н., проф., СПб
В.Д. Соколов – зам. гл. ред. д.в.н. проф., СПб
А.И. Ятусевич – зам. гл. ред. д.в.н. проф., Витебск
Редакционная коллегия
А.А. Алиев, д.в.н., проф., СПб.
Н.Л. Андреева, д.б.н., проф., СПб.
Л.М. Белова, д.б.н., проф., СПб.
М.И. Гулюкин, акад. РАСХН, д.в.н., проф. Москва.
Н.В. Зеленевский, д.в.н., проф., СПб.
Л.Ю.Карпенко, д.б.н., проф., СПб.
С.П. Ковалев, д.в.н., проф., СПб.
А.А. Кудряшов, д.в.н., проф., СПб.
В.А. Кузьмин, д.в.н., проф., СПб.
М.Н. Макарова, д.м.н., проф., СПб.
К.В. Племяшов, д.в.н., проф., СПб.
Б.С. Семенов, д.в.н., проф., СПб.
А.М. Смирнов, акад. РАСХН, д.в.н., проф., Москва.
А.А. Сухинин, д.б.н., проф., СПб.
А.Н. Шиков, д.ф.н., проф., СПб.
Редакционно-технический отдел
Соколов В.Д., д.в.н. проф., СПб.
Андреева Н.Л., д.б.н., проф., СПб.
Макарова М.Н., д.м.н., проф., СПб.
Рыбакова А.В. , к.в.н., СПб.
Сдано в набор 13.01.2016
Подписано к печати 13.01.2016
Формат 70×100 1/16.
Бумага глянцевая № 1. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 5,2+1,63 цв. вкл.
Усл. Кр.-отт. 18,2. Тираж 1001 экз.

Адрес редакции: 196084, СПб, ул. Черниговская дом 5, СПбГАВМ, редакция журнала «Международный вестник ветеринарии» (МВВ).

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ

Номер госрегистрации СМИ ПИ № ФС 77-28268 от 18 мая 2007 г. Подписной индекс в агентстве Роспечать 82393.

Учредитель — Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» (ФГОУ ВПО «СПбГАВМ»)

Журнал основан в январе 2004 года в Санкт-Петербурге и входит в список ведущих лицензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук.

Журнал распространяется по всем регионам России и Республике Беларусь (ВУЗЫ, НИИ, ВЕТЕРИНАРНЫЕ ОТДЕЛЫ).

Журнал выходит не менее 4 раз в год. В нем публикуются работы по всем основным вопросам ветеринарии и смежным дисциплинам.

В этот журнал Вы можете поместить рекламу Вашей фирмы. Объявления и коммерческая реклама публикуются после оплаты. Срок исполнения – в течение 3 месяцев.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных объявлений.

При перепечатке ссылка на журнал обязательна.

Мнение авторов и редакции по отдельным вопросам может не совпадать.

Плата с аспирантов за публикацию рукописи не взимается.

Справки и технические возможности типографии, в которой печатается журнал, оговариваются по телефону (812) 387-11-58.

На 1 странице обложки: Норвежская школа ветеринарии или NVH была государственным университетом, который располагался в Осло. Учебное заведение основано в 1936 году и готовит таких специалистов как ветеринарные врачи, ветеринарные фельдшера, специалисты в области безопасности пищевых продуктов. С 6 января 2014 года ветеринарная школа присоединена к Норвежскому университету естественных наук.

СОДЕРЖАНИЕ

Инвазионные болезни	• Биохимические показатели крови индюков при эймериозно-гистомонозной инвазии. *Харив И.И.*	**6**
	• Эффективность иммунизации инактивированной эмульсионной вакциной против респираторного микоплазмоза и ее ассоциированной формы с вирусными антигенами. *Панкратов С.В., Рождественская Т.Н., Придыбайло Н.Д.*	**12**
Незаразные болезни	• Повышение эффективности химиотерапии бронхопневмонии телят с помощью иммунстимуляторов. ***Войтенко В.Д.***	**17**
Хирургия	• Опыт лечения ран у собак. *Слюсар Г.В.*	**22**
	• Клинико-морфологические параллели остеодегенерации в условиях применения имплантов с покрытием на основе сверхтвердых соединений. *Мечов М.П., Шакирова Ф.В.*	**26**
	• Гистологическая оценка эффективности леченпия гнойного остеомиелита у кошек. *Собчишина Т.Н.*	**31**
Фармакология, токсикология, фармация	• Стресс-вызванный кратковременной 3-х часовой иммобилизацией у крыс. *Винникова С.В.*	**35**
	• О безопасности и эффективности применения пищевой добавки Дилактин Форте Плюс в производстве мяса кур. *Шамеко И. В., Андреева Н.Л., Евелева В.В.*	**38**
	• Влияние мезенхимальных стволовых клеток на восстановление выделительной фукции почек у котов при острой экспериментальной почечной недостаточности. *Мазуркевич А.Й., Бобось А.Л.*	**44**
Зоогигиена, санитария, кормление	• Санитарная оценка рыб при триЕнофорозе, в пресноводных водоемах Якутии, с учетом интенсивности инвазии. *Громова М.А., Малтугуева М.Х.*	**51**
Биохимия, анатомия, физиология	• Оценка влияния пивных дрожжей, цеолита на электрическую активность желудка голубого песца при гиповитаминозе В1. *Мантатова Н.В., Тасарунова А.С., Санжиева С.Е.*	**55**
	• Показатели местного иммунитета ротовой полости собак при хроническом катаральном гингивите. *Семанюк Н.В., Хомин Н.М.*	**60**
	• Влияние гена KCNQ3 на содержание жира в молоке коров. *Мукий Ю.В., Смарагдов М.Г.*	**65**
	• Химический состав жира-сырца лосей в условиях Республики Саха (Якутия). *Агеев В.П., Аргунов А.В., Дьячковская Л.С.*	**68**
	• Индикация реовируса методом ПЦР. *Ефимова М.А., Гаффаров Х.З., Фаизов Т.Х., Хамадов Н.И.*	**72**
	• Определение клеточного состава молозива клинически здоровых и больных маститомсвиноматок при лечении антистафилококковым препаратом. *Корзенников С.Ю.*	**76**
Экспериментальная фармакология	• Влияние условий содержания и повторности тестирования на поведение крыс линии Вистар в тесте «Открытое поле». *Шекунова Е.В., Кашкин В.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.*	**80**
	• Особенности состояния гемостаза у крыс. *Кашкин В.А., Соколова А.П., Абрашова Т.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г.*	**88**
	• Перспективы применения диквертина для повышения физической выносливости. *Ковалева М.А., Селезнева А.И., Гущина С.В., Макарова М.Н.*	**94**
	• К механизму противовоспалительного действия комплекса, выделенного из печени трески. Антиэкссудативное действие. (сообщений №1). *Крышень К.Л., Демченко Д.В., Шиков А.Н. Пожарицкая О.Н., Макарова М.Н., Макаров В.Г.*	**100**
	• Методические указания по экспериментальному Моделированию ЛПС индуцированной острой пневмонии у крыс. Сообщение №1. *РыбаковаА.В., Макарова М.Н., Соколов В.Д., Крышень К.Л, Ходько С.В., Макаров В.Г.*	**106**
	Список статей за 2013 год	**117**

CONTENTS

Invasious diseases	• Biochemical indices of turkeys blood by eumoria and histomonosis invasion. *I.I. Chariv.*	**6**
	• The estimation of antigenic activity of inactivated vaccines against respiratory mycoplasmosis and chickens' viral infections. *S.V. Pankratov, T.N. Rozhdestvenskaya, N.D. Pridybailo.*	**12**
Non-communicable disease	• An increase of the efficiency of chemotherapy of bronchopneumonia at calves by means of immunostimulators. *D. Voytenko.*	**17**
Surgery	• Experience treat wounds dogs. *G.V. Slusar.*	**22**
	• Clinical morphological parallels of osteoregeneration under conditions of applying implants with superhard compound-based coating. *M.P. Mechov, F.V. Shakirova.*	**26**
	• Pathological evaluation of the effectiveness of treatment of suppurative osteomyelitis in cats. *T.N. Sobchyshyna.*	**31**
Pharmacology, toxicology, pharmacy	• Stress in rats induced by a short-term at 3 hour immobilization. *S.V. Vinnikova.*	**35**
	• About safety and efficiency of application of a food additive of dilaktin forte plus in production of chicken meat. *I.V. Shameko, N.L. Andreeva, V.V. Eveleva.*	**38**
	• Impact mesenchymal stem cells for renal excretory function recovery in cats by experimental acute renal failure. *A.Y. Mazurkevich, A.l. Bobos'.*	**44**
Zoohigiene, feeding	• Sanitary assessment of fishes at Triaenophorus, in fresh-water reservoirs of Yakutia, taking into account intensity of an invasion. *M.A. Gromova, M.H. Maltuguyeva.*	**51**
Biochemistry, anatomy, physiology	• The analysis of the influence of beer yeast zeolite on electrical activity of the stomach of a polar fox suffering from hypovitaminosis B_1. *N.V. Mantatova, A.C. Tasarunova, S.E. Sanzhieva, Ch. B. Kusheev*.	**55**
	• The ardices of local immugity of cavity in dogs at chronical cataral snhibitis. *N.V. Semaniuk, N.M. Khomyn.*	**60**
	• Association set a marker in the gene KCNQ3 with a fat content in the milk of cows black-and-white breed. *U.V. Muky, M.G. Smaragdite.*	**65**
	• Chemical composition of fat raw of elks in the conditions of the Republic of Sakha (Yakutia) *V.P. Ageev, A.V. Argunov, L.S. Dyachkovskaya.*	**68**
	• PCR detection of reovirus. *M.A. Efimova, H.Z. Gaffarov, T.H. Faizov, N.I. Hammad.*	**72**
	• Detection of the cells content of a colostrum of clinically healthy and suffering mastitis sows. *S. Korennikov.*	**76**
Experimental pharmacology	• Influence of contents and retesting behavior Wistar rats in the test "open field". *E.V. Shekunova, V.A. Kashkin, M.N. Makarova, V.G. Makarov.*	**80**
	• Features of homeostasis in rat. *V. Kashkin, A. Sokolova, T. Abrashova, M. Makarova , V. Makarov.*	**88**
	• Prospects of Diquertin to increase physical stamina. *M.A. Kovaleva, A.I. Selezneva, S.V. Gushina, M.N. Makarova.*	**94**
	• To anti-inflammatory mechanisms of compex derived from the Cod liver. Carrageenan air pouch model in the rat. *K.L. Kryshen, D.V .Demchenko, O.N. Pozharitskaya, M.N. Makarova.*	**100**
	• Guidelines for: Experimental modeling of LPS induced acute PNEUMONIA IN RATS. number 1*A.V. Rybakova , M.N. Makarova, V.D. Sokolov, K.L Kryshen, S.V. Khodko, V.G. Makarov.*	**106**
	• List of articles in 2013	**117**

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК 612.816.2.821.3: 535.6: 591.1

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ СОДЕРЖАНИЯ И ПОВТОРНОСТИ ТЕСТИРОВАНИЯ НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР В ТЕСТЕ «ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ»

Е.В. Шекунова [1,2] , В.А. Кашкин [1,2] , М.Н. Макарова [1] , В.Г. Макаров [1]
[1] – Санкт-Петербургский Институт Фармации, [2] - Институт фармакологии им. А.В. Вальдмана СПГМУ им. акад. И.П.Павлова.

Ключевые слова: доклинические исследования, поведение, крысы линии Вистар, тест «Открытое поле». **Keywords:** preclinical studies, behavior, rats of Wistar, test "open field"

Методика анализа поведения лабораторных животных в «открытом поле» широко используется при проведении доклинических исследований. Тест «открытое поле» используется как для оценки влияния фармакологических препаратов на ориентировочно-исследовательскую активность животных, выявления побочных эффектов препаратов, так и для изучения специфической анксиолитической активности веществ. Существует ряд факторов, которые существенно влияют на поведение грызунов при проведении данного теста. Среди этих факторов – генетически детерминированные, такие как линия и пол экспериментальных животных. Большое значение имеют условия, в которых проводится тест, например, освещенность поля, время суток, сезонность. Повторность тестирований также оказывает влияние на поведенческие параметры: при каждом последующем помещении животного в «открытое поле» происходит снижение ориентировочно–исследовательской активности. Целью данного исследования было определение влияния частоты тестирования на поведение крыс линии Вистар в «открытом поле». Также оценивалось влияние содержания животных (групповое или изолированное) на параметры поведения, регистрируемые в тесте «открытое поле». Было показано, что у самцов, но не у самок, крыс происходит снижение ориентировочно-исследовательской активности при проведении двух последовательных тестов с интервалом в 14 дней. Значимое снижение двигательной активности (и относительная «стабилизация» поведенческих параметров) у самок наблюдалась к третьему тесту при проведении тестирования с интервалом в 2 дня. Содержание в изоляции (две недели до начала эксперимента) привело к увеличению двигательной и ориентировочно-исследовательской активности самок крыс. Таким образом, при проведении повторных тестирований фармакологических веществ на одних и тех же животных следует учитывать тот факт, что предварительное двукратное помещение животных в «открытое

ВВЕДЕНИЕ

Методика анализа поведения лабораторных животных в «открытом поле» широко используется при проведении доклинических исследований. Данный подход позволяет визуализировать даже незначительные отклонения в поведении животных, вызванные действием фарма-

кологических препаратов, что дает возможность оценить как выраженность нежелательных побочных эффектов, так и выявить специфическую активность препаратов.

Несмотря на кажущуюся простоту выполнения, при планировании и проведения данного поведенческого теста необходимо учитывать довольно много факторов, которые могут существенно повлиять на полученные результаты, затруднить их воспроизведение и интерпретацию. Так поведение различных линий лабораторных животных одного и того же вида в «открытом поле» может довольно сильно различаться (Asano et al., 1986; Schmitt, Hiemke, 1998; Carola et al., 2002). Линия животных также часто определяет наличие или отсутствие половых различий в поведении (Paré и Redei, 1993; Meziane et al 2007). В то же время данные, полученные в разных лабораториях, могут противоречить друг другу, что обусловлено различными условиями проведения теста и довольно высокой индивидуальной вариабельностью, (Kawaguchi et al., 2009; Chelaru et al., 2012; Padilla, 2009).

Одним из наиболее существенных и хорошо известных исследователям факторов, влияющим на поведение крыс и мышей в «открытом поле», является освещенность поля (Choleris et al., 2001). Изменение интенсивности освещения позволяет анализировать как нормальное поведение (слабое освещение или освещение, моделирующее сумерки), так и оценивать уровень тревожности (при уровне освещенности, превышающем 400 люкс). Большое влияние на активность животных оказывает время тестирования, так как локомоторная активность лабораторных животных изменяется в соответствии с циркадианными ритмами (Prut , Belzung, 2003).

Первичное помещение животного в «открытое поле» вызывает поведенческий ответ, который во многом определен повышением уровня тревожности, поэтому именно изучение поведения при первом предъявлении «открытого поля» рассматривается как инструмент для изучения специфической анксиолитической активности фармакологических препаратов (Choleris et al., 2001). Также анализ поведения при самом первом помещении животного в «открытое поле» является одним из способов изучения эмоциональной реактивности: оценивается количество дефекаций и выраженность характерного для грызунов позитивного тигмотаксиса, то есть поведения избегания открытых пространств и предпочтения мест в углах поля или у стен (Ramos, Mormede, 1998). Показано, что именно тигмотаксис наиболее чувствителен к действию анксиолитиков (Schmitt, Hiemke, 1998). Повторное многократное помещение животного в одни и те же условия при проведении теста ведет к снижению активности (Walsh, Cummins, 1978), происходит угасание ориентировочно-исследовательского поведения, исчезает эффект «новизны», что может рассматриваться как примитивная форма обучения. Это результат нормальной адаптационной деятельности нервной системы. Нарушения же данной формы обучения, то есть отсутствие «забывания», может свидетельствовать о нарушении когнитивных функций мозга, что является моделью нарушения памяти при определенных воздействиях (Huang et al., 2013).

Угасание реакции на новизну у нормальных животных ведет к изменению поведенческих показателей и необходимости учитывать этот фактор при планировании и проведении эксперимента. В данном исследовании было проанализировано влияние различных временных промежутков между тестами на поведение животных в «открытом поле». Также было изучено влияние условий содержания (изолированное или групповое содер-

жание) на поведение животных в «открытом поле».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные и условия их содержания.

Эксперименты выполнены на самцах и самках крыс линии Вистар массой 200-250 г (питомник «Рапполово», Россия). Животных содержали в условиях 24-х часового фоторежима (12 ч день:12 ч ночь, включение света в 8:00), контролируемой температуры (22ºС+2ºС) и влажности (65%±10%) воздуха при свободном доступе к очищенной воде и стандартному корму (гранулированный комбикорм). Для содержания животных использовали индивидуальные или групповые пластмассовые клетки с проволочной металлической крышкой и подстилом из стружки дерева лиственных пород. Изолированно содержащиеся крысы находились в условиях индивидуального размещения две недели до начала эксперимента. Все животные были приручены к рукам экспериментатора до начала экспериментов.

Дизайн эксперимента

Изучение двигательной и исследовательской активности животных в открытом поле проводилось в два этапа. Целью первой серии экспериментов являлось изучение влияния двухнедельного интервала между повторными тестированиями на поведение самцов и самок крыс в открытом поле». Животные содержались в группах по 8 особей каждого пола. В первой серии было протестировано 9 самцов и 10 самок крыс.

На втором этапе эксперимента изучалась поведение самок крыс, содержащихся либо в группах по 8 особей, либо индивидуально, при повторных тестированиях в «открытом поле». Четыре тестирования проводились с интервалом в 2 дня. Было протестировано 11 групповых и 10 изолированно содержащихся самок. У всех самок на протяжении всего эксперимента для определения стадии эстрального цикла брали влагалищные мазки. В дни тестирований забор материала проводился после теста.

Оборудование

Для изучения активности животного использовалась установка «открытое поле» размером 100см х 100см х 30см, разделенная на 16 квадратов. Эксперименты проводились в дневное время с 13 до 16 часов при искусственном освещении, освещение поле было равномерным, интенсивность освещения была умеренной (200 люкс).

Методология

В начале теста животное высаживалось в центр поля. Время теста составляло 5 минут. Поведение регистрировалось с помощью компьютерной программы “Ethograph” (version 2.07, RITEC, St. Petersburg, Russia). Регистрировались следующие показатели (общая длительность и частота элементов поведения за время наблюдения):

Локомоция (в центре)
Локомоция (вдоль стен)
Сидение (в центре)
Сидение (в углу)
Сидение (у стены)
Сидение с принюхиванием (в центре)
Сидение с принюхиванием (в углу)
Сидение с принюхиванием (у стены)
Подъемы на задние лапы (в центре)
Подъемы на задние лапы (в углу)
Подъемы на задние лапы (у стены)
Груминг (в центре)
Груминг (в углу)
Груминг (у стены)
Заглядывания в отверстия
Отряхивания (частота)
Чесание
Количество дефекаций
Количество уринаций

По окончании теста животное высаживалось обратно в домашнюю клетку, установка «открытое поле» протиралось 3% раствором перекиси водорода.

Статистическая обработка

Для удобства обработки и упрощения представления результатов, полученные значения зарегистрированных параметров были обобщены. В статистическую обработку были взяты следующие показатели: общая продолжительность локомоции за время наблюдения (сумма продолжительности локомоции в центральных квадратах поля и вдоль стен), общая продолжительность сидения (сидение и сидение с принюхиванием), продолжительность пребывания в центре поля, общая продолжительность подъемов на задние лапы, общая продолжительность груминга, количество заглядываний в отверстия, количество пристеночных подъемов на задние лапы (подъемы на задние лапы в углу и у стены). Полученные данные обрабатывались с помощью однофакторного дисперсионного анализа с повторными измерениями (программа SPSS v16). Последующие попарные межгрупповые сравнения осуществлялись при помощи теста Бонферрони.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Поведение самцов и самок крыс при первичном помещении в «открытое поле» существенно не различалось (табл.1). Несмотря на то, что продолжительность локомоции и подъемов на задние лапы у самок была несколько больше по сравнению с самцами, а продолжительность груминга – меньше, эти различия не были статистически значимы. В целом, дисперсионный анализ с повторными изменениями выявил достоверное влияние фактора «пол животного» только на количество пристеночных стоек ($F_{1,17}$= 4,97; $p<0,05$). Фактор «повторность тестирования» был статистически значим при анализе продолжительности локомоции, продолжительности подъемов на задние лапы, пребывания в углу и частоты пристеночных стоек, однако последующие межгрупповые сравнения показали, что поведенческие параметры различались между первым и вторым тестированиями только у самцов (табл.1).

Таблица 1

Продолжительность или количество поведенческих элементов в тесте «открытое поле» у самцов и самок крыс при повторных тестированиях (M±m)

Элементы поведения	Самцы (n=9)		Самки (n=10)	
	1 тест	2 тест	1 тест	2 тест
Продолжительность локомоции (сек)	75,5±12,1	49,2±9,9#	81,1±11,0	69,2±10,1
Продолжительность подъемов на задние лапы (сек)	23,0±3,3	11,7±2,9#	30,5±5,6	26,6±5,2
Продолжительность груминга (сек)	38,4±15,8	26,2±6,9	16,4±5,1	17,6±3,9
Время пребывания в центре (сек)	10,2±3,5	6,3±2,0	11,4±4,3	13,1±3,3
Время пребывания в углах поля (сек)	159,7±21,5	209,4±14,5#	146,6±15,6	164,7±16,0
Количество заглядываний в отверстия	17,8±2,2	11,9±2,6	17,8±3,8	19,7±3,5
Количество пристеночных подъемов на задние лапы	16,6±,2	6,7±1,2#	19,7±1,9	15,0±2,7*

*Примечание: * - $p<0,05$, критерий Бонферрони, достоверные отличия поведения самок по сравнению с самцами, тест 2; # - $p<0,01$, критерий Бонферрони, достоверные отличия при повторном проведении теста «открытое поле» по сравнению с тестом 1 у самцов.*

Повторное проведение теста «открытое поле» с интервалом в две недели между тестами показало, что поведение самцов изменилось по сравнению с первым тестом: ориентировочно-исследовательская активность снизилась. У самок, хотя и наблюдалась тенденция к снижению двигательной и ориентировочно-исследовательской активности при проведении второго теста, однако эти изменения не были статистически достоверными. Таким образом, при интервале в 14 дней между тестами наблюдалось изменение показателей поведения самцов, связанное с повторным помещением в одни и те же условия, в то же время у самок существенно влияния повторного тестирования на поведенческие показатели выявлено не было.

Целью второго эксперимента было изучение динамики изменений поведенческих показателей при повторном тестировании с интервалом в 2 дня. Эксперименты были проведены на самках, содержащихся либо в изоляции, либо в группах.

Поведение в «открытом поле» изолированно содержащихся самок существенным образом отличалось от поведения содержащихся в группе самок (табл.2). При обработке полученных данных с помощью дисперсионного анализа с повторными измерениями подтвердилось влияние фактора «изолированное или групповое содержание» на такие поведенческие параметры как продолжительность локомоции ($F_{1,19}$= 5,39; $p<0,05$), подъемов на задние лапы ($F_{1,19}$=6,70; $p<0,05$), время пребывания в центре ($F_{1,19}$= 5,03; $p<0,05$). Изолированно содержащиеся крысы были более подвижны, проявляли большую исследовательскую активность, меньшую тревожность (табл.2). Эти данные говорят о важном влиянии условий содержания животных на поведенческие показатели. Анализ влияния стадии эстрального цикла на поведенческие параметры не выявил значимости этого фактора в данном эксперименте, что может быть обусловлены небольшим размером выборки и довольно существенной индивидуальной вариабельностью поведения (данные не представлены).

В целом, при каждом последующем повторном тестировании активность как групповых, так и изолированно содержащихся крыс, несколько снижалась, что говорит о постепенной адаптации животных к условиям теста. Наблюдалась тенденция и к снижению времени пребывания в центре поля, однако эта тенденция не была статистически достоверной ни у групповых крыс ($p=0,06$), ни у изолированно содержащихся животных($p=0,07$).

Таким образом, при интервале между тестированиями в 2 дня изменение поведенческих показателей наблюдалось уже ко второму тесту, между третьим и четвертым тестированием не было статистически значимой разницы, что говорит о развитии габитуации (привыкания) к условиям теста, что привело к относительной стабилизации уровня поведенческой активности.

Габитуация к условиям теста ведет к снижению ориентировочно-исследовательской активности крыс. Динамика изменений этой формы поведения также зависит от многих факторов. Так в данном эксперименте повторное тестирование самцов крыс через 14 дней привело к снижению этого вида активности, в то время как поведение самок практически не изменилось. Отсутствие угасания у самок во многом может быть обусловлено флуктуациями гормонального фона. Известно, что во время фаз эструса и/или проэструса, в основном, наблюдается увеличение двигательной активности крыс, изменение уровня тревожности (Frye et al., 2000; Devall et al., 2009). В данном эксперименте во время повторного тестировании количество крыс, находящихся в фазах эструса и/или проэструса, могло

Таблица 2

Влияние условий содержания и повторности тестирований на поведение самок крыс в «Открытом поле». Данные представлены как продолжительность или количество поведенческих элементов (M±m)

Элементы поведения	Условия содержания	1 тест	2 тест	3тест	4 тест
Продолжительность локомоции (сек)	Групповое	68,1±10,2	55,8±10,6	48,1±7,2*	37,6±6,3**
	Изолированное	108,8±11,1##	86,1±10,1#	56,0±10,1**	61,0±9,4**#
Продолжительность подъемов на задние лапы (сек)	Групповое	19,8±3,3	13,2±2,9*	14,7±1,9	12,5±2,6*
	Изолированное	32,8±5,3#	29,8±5,4##	27,1±4,9#	28,9±7,6#
Продолжительность груминга (сек)	Групповое	14,9±4,2	10,6±3,2	9,8±2,6	17,6±5,2
	Изолированное	7,3±2,4	11,6±4,1	16,4±4,9	15,1±4,7
Время пребывания в центре (сек)	Групповое	29,3±6,0	23,7±7,6	11,1±3,3	16,0±3,9
	Изолированное	41,6±7,8	37,6±6,2	26,2±5,6#	24,8±5,1
Время пребывания в углах поля (сек)	Групповое	77,5±23,6	103,0±19,6	133,6±14,1	142,8±16,0
	Изолированное	60,1±11,7	73,4±15,5	113,5±16,9**	97,2±17,5*
Количество заглядываний в отверстия	Групповое	12,5±2,0	13,7±2,1	13,3±2,9	8,9±2,2
	Изолированное	13,4±2,6	14,7±3,1	13,2±3,3	15,1±2,0
Количество пристеночных подъемов на задние лапы	Групповое	11,6±1,5	7,7±1,7	8,8±1,2	7,5±1,3**
	Изолированное	15,8±2,5	13,5±2,1	12,3±1,8	12,1±2,6

*Примечание: * - $p<0,05$, ** - $p<0,01$, критерий Бонферрони, достоверные отличия поведения изолированно содержащихся самок от групповых самок; # - $p<0,05$, ## - $p<0,01$, критерий Бонферрони, достоверные отличия при повторном проведении теста «открытое поле» по сравнению с тестом 1*

превышать таковое во время первого тестирования. Изменение уровня поведенческой активности, обусловленное изменениями гормонального фона, могло привести к тому, что активность крыс через две недели во время второго тестирования не снизилась. В следующей серии экспериментов, где формирование экспериментальных групп происходило с учетом фазы эстрального цикла, при четырех последовательных помещениях самок в «открытое поле» с интервалом в 2 дня значимое угасание реакции произошло, в основном, к третьему тесту, то есть именно к третьему тесту наблюдалась «стабилизация» поведенческих показателей.

Существенное влияние на результаты оказал и способ содержания животных. У животных, содержащихся изолированно, наблюдалось усиление ориентировочно-исследовательской активности, тенденция к снижению уровня тревожности по сравнению с животными, содержащимися в группе. Эффект изоляции был очевиден уже после двухнедельного периода изоляции. Соответственно, если в задачи эксперимента входит оценка анксиолитического действия препарата, то использование изолированно-содержащихся крыс может не дать достоверных результатов. Динамика угасания ориентировочно-исследовательской активности у изолированных и групповых крыс не различалась.

Следует отметить, что, несмотря на максимальную стандартизацию процедуры проведения тестирования и анализа полученных результатов, данные, собранные в различное время года на животных одной линии из одного и того же питомника, могут различаться. Так в данной работе самки линии Вистар, использованные в первом и во втором эксперименте, были получены из одного питомника, но в разное время, эксперименты проводились с интервалом в четыре месяца. Хотя условия тестирования практически идентичны, полученные результаты различаются (см. табл.1 и табл.2). Этот фактор также необходимо учитывать при планировании и проведении экспериментов. Крайне желательно, чтобы, например, эффекты различных доз одного фармакологического препарата или сравнение эффектов двух и более веществ оценивались в пределах одного эксперимента, параллельно, на животных одной партии в одних и тех же условиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повторное помещение самцов крыс линии Вистар в установку «открытое поле» с интервалом в две недели приводит к снижению активности животных. У самок 14–дневный перерыв между повторными тестированиями не привел к значимому снижению двигательной и ориентировочно-исследовательской активности.

Проведение повторных тестирований с интервалом в 2 дня ведет к снижению активности, которое стабилизируется уже к третьему тесту. Таким образом, при необходимости проведения повторных тестирований фармакологических веществ на одних и тех же животных следует учитывать тот факт, что предварительное двукратное помещение животных в «открытое поле» приводит к относительной стабилизации уровня поведенческой активности.

Условия содержания животных (групповое содержание или изолированное) существенно изменяет уровень активности крыс в «открытом поле»: ориентировочно-исследовательская и двигательная активность изолированно содержащихся крыс увеличивается по сравнению с крысами, которые содержатся в группе.

Influence of contents and retesting behavior Wistar rats in the test "open field".

E.V. Shekunova, V.A. Kashkin, M.N. Makarova, V.G. Makarov.

SAMMARY

The open field test has become a very widely used tool in behavioral research. The open field test is normally used to evaluate whether behavior of animal, such as locomotion or exploratory behavior, is affected by drugs. Most typically the open field test is used to evaluate side effects of drug. Also this method can be utilized for the investigation of anxiolitic agent. Behavior of rodents in the open field depends on genetic factors such as strain and sex. A partial list of the factors that can influence results includes: level of illumination, time of day of testing. In addition, upon repeated testing, animals quickly habituate to the open field and their locomotion tends to decrease across testing sessions. The aim of the present study was to estimate the effects of repeated testing and housing conditions (grouped vs isolated) on the open field activity of Wistar rats. It was found that locomotion and exploratory activity of male rats but not female rats decreased when they were re-tested two weeks later. In the second part of this experiment female Wistar rats were exposed to the open field test every 2 days. The third exposure resulted in decreasing of open field activity. Isolated female rats (isolation during two weeks before the experiment) were significantly more active than their grouped counterparts. Therefore, upon two repeated testing Wistar rats habituate to the open field and their activity reaches a stable level. It is important if experimental design imply repeated testing.

ЛИТЕРАТУРА

1. Asano Y. Characteristics of open field behavior of Wistar and Sprague-Dawley rats // Exp Anim. 1986. 35. 505-508

2. Carola V, D'Olimpio F, Brunamonti E, Mangia F, Renzi P. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice // Behav Brain Res. 2002 .134:49-57.

3. Chelaru MI, Yang PB, Dafny N. Sex differences in the behavioral response to methylphenidate in three adolescent rat strains (WKY, SHR, SD) // Behav Brain Res. 2012. 226. 8-17.

4. Choleris E.,Thomas A.W.,Kavaliers M.,Prato F.S. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field // Neuroscience and Biobehavioral Reviews 2001. 25. 235-260.

5. Devall AJ, Liu ZW, Lovick TA. Hyperalgesia in the setting of anxiety: sex differences and effects of the oestrous cycle in Wistar rats // Psychoneuroendocrinology. 2009. 34. 587-96.

6. Frye CA, Petralia SM, Rhodes ME. Estrous cycle and sex differences in performance on anxiety tasks coincide with increases in hippocampal progesterone and 3alpha,5alpha-THP // Pharmacol Biochem Behav. 2000. 67. 587-596.

7. Huang E, Ngo M, Yee S, Held L, Norman K, Scremin AM, Scremin O. Repeated blast exposure alters open field behavior recorded under low illumination // Brain Res. 2013. 1529.125-133.

8. Kawaguchi M, Irie K, Morohoshi K, Watanabe G, Taya K, Morita M, Kondo Y, Imai H, Himi T. The ontogeny of exploratory behavior in male and female adolescent rats (Rattus norvegicus)// Neurosci Res. 2009. 65.136-140.

9. Meziane H, Ouagazzal AM, Aubert L, Wietrzych M, Krezel W. Estrous cycle effects on behavior of C57BL/6J and BALB/cByJ female mice: implications for phenotyping strategies // Genes Brain Behav. 2007. 6.192-200.

10. Padilla E, Barrett D, Shumake J, Gonzalez-Lima F. Strain, sex, and open-field behavior: factors underlying the genetic susceptibility to helplessness. Behav Brain Res. 2009. 201. 257-264.

11. Paré WP, Redei E. Sex differences and stress response of WKY rats // Physiol Behav. 1993. 54. 1179-1185.

12. Prut L., Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs
13.on anxiety-like behaviors: a review // European Journal of Pharmacology 2003. 463. 3 – 33
13. Ramos A, Mormede O. Stress and emotionality: a multidimensional and genetic approach // Neurosci Biobehav Rev 1998.22.33-57.
14. Schmitt U, Hiemke C. Combination of open field and elevated plus-maze: a suitable test battery to assess strain as well as treatment differences in rat behavior // Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatr 1998. 22.1197-215.
15. Walsh RN, Cummins RA. The open-field test: a critical review // Psychol Bull 1976. 83. 482-504.

УДК 615.273.5

ОСОБЕННОСТИ СОСТОЯНИЯ ГЕМОСТАЗА У КРЫС

В.А. Кашкин, А.П. Соколова, Т.В. Абрашова, М.Н. Макарова, В.Г. Макаров (СПб ИФ)

Ключевые слова: гемостаз, коагуляция, тромбоциты, доклинические исследования крысы. **Key words:** hemostasis, coagulation, platelets, pre-clinical studies, rats.

Целью данного исследования была оценка системы гемостаза у крыс (один из самых распространённых видов лабораторных животных), а также сравнительная оценка полученных результатов со справочной литературой и данными из других лабораторий.

Исследование провели на беспородных крысах, в возрасте 30 дней, в количестве 40 самцов и 40 самок.

У опытных всех животных был произведен забор крови из хвостовой вены для оценки показателей гемостаза (количество тромбоцитов, тест на агрегацию тромбоцитов с адреналином, АЧТВ, ПВ, фибриноген тест и определение спонтанной фибринолитической активности цельной крови). Как дополнительный критерий функциональной активности тромбоцитов учитывали такие показатели, как PCT (platelet crit – тромбокрит), PDW (platelet distribution width – ширина распределения тромбоцитов по объему), MPV (mean platelet volume – средний объем тромбоцитов).

В ходе эксперимента были определены нормальные критерии для крыс, как наиболее часто используемых лабораторных животных. Однако необходимо учитывать вариабельность показателей у животных в зависимости от породы, возраста и пола.

Также было показано, что оценка показателей коагуляторной способности крови информативна и должна быть включена в план доклинических исследований лекарственных средств. Причём особую важность эти данные имеют при оценке лекарственных средств, применяющихся для терапии патологий, связанных с гипер/гипокоагуляцией и синдромом тромбообразования. Особый интерес в данном исследовании представляет фибриноген. Стабильность и низкая вариабельность данного показателя дает возможность измерять фибриноген не только как показатель гемостаза, но и как острофазный белок, концентрация которого возрастает при воспалении в 2-5 раз. При этом значения фибриногена, полученные у крыс близки к таковым значениям у человека (1,8 - 3,5 г/л), что позволяет прогнозировать ответные реакции, подтверждая лабораторными методами развитие воспалительных реакций.

Коммерческие тест-системы (кит), которые используются для определения показате-