

РУХОВА АКТИВНІСТЬ ЩУРІВ ІЗ ВИБУХО-ІНДУКОВАНОЮ ТРАВМОЮ ГОЛОВНОГО МОЗКУ В Ж-ПОДІБНОМУ ЛАБІРИНТІ

Ю.В. Козлова

Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна

Ключові слова: щур, вибухо-індукована травма, мозок, рухливість.

Буковинський медичний вісник. 2024. Т. 28, № 1 (109). С. 35-40.

DOI: 10.24061/2413-0737.28.1.109.2024.6

E-mail: kozlova_yuv@ukr.net

Резюме. Мета дослідження – дослідити особливості пересування щурів з вибухо-індукованою травмою головного мозку в Ж-подібному лабіринті.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на 15 статевозрілих щурах лінії Wistar. Всі тварини були розподілені на три групи – експериментальна (n=5), щурів якої піддавали наркотизації та дії повітряної ударної хвилі з надлишковим тиском 26-36 кПа; контрольна група (n=5), тварин якої тільки наркотизували, та інтактна група (n=5). Дослідження рухової активності проводили за допомогою Ж-подібного лабіринту п'ять діб поспіль, починаючи на 1-шу добу після відтворення вибухо-індукованої травми головного мозку. Графічно зображали маршрут переміщення по лабіринту щурів трьох груп і візуально аналізували.

Результати дослідження. Ж-подібний лабіринт відноситься до складних за рахунок наявності центральної зони та Т-подібних розгалужень праворуч і ліворуч, що закінчуються годівницями. Складність ситуації й завдання призводить до страху з швидкою адаптацією здорових щурів. Проте при порушенні функцій головного мозку, експериментальна тварина втрачає фізіологічні здібності до адаптації і проявляє ознаки тривожної поведінки. Аналіз зображень шляхів пересувань показав, що в 1-шу добу навчання щури експериментальної групи пересувались більш активно, незважаючи на те, що тварини ще не знали, що їх очікує їжа. Виконували одноманітні рухи, частіше заходили в бокові сектори. На 2-гу добу експериментальні щури були активніші і стереотипно за інтактних тварин досліджували лабіринт. На 3-тю та 4-ту добу встановлено чіткі ознаки порушення просторової пам'яті в щурів експериментальної групи за подовженням шляху до годівниці. На 5-ту добу встановлено, що експериментальні щури все ще погано орієнтуються в лабіринті, спостерігається одноманітне обстеження бокових секторів.

Висновки. Таким чином, легка вибухо-індукована травма головного мозку призводить до стійкого порушення просторової пам'яті, а також порушення поведінки у вигляді тривожності. Щури експериментальної групи демонстрували стереотипну рухову активність, про що свідчило обстеження більшою мірою бокових секторів Ж-подібного лабіринту. При цьому пам'ятя щодо харчового підкріплення добре вироблялась і зберігалась.

LOCOMOTOR ACTIVITY OF RATS WITH BLAST-INDUCED TRAUMATIC BRAIN INJURY IN A COMPLEX MAZE

Yu.V. Kozlova

Key words: rat, explosion, injury, brain, locomotion.

Bukovinian Medical Herald. 2024. V. 28, № 1 (109). P. 35-40.

Resume. Aim – to investigate the peculiarities of rats with blast-induced brain injury movement in the complex maze.

Material and methods. The study was carried out on 15 sexually mature Wistar rats. All animals were randomly divided into 3 groups: experimental group (n=5), which was anesthetized and exposed to an air shock wave with an overpressure of 26-36 kPa; sham group (n=5), which was only anesthetized, and intact group (n=5). The study of locomotor activity was performed using a complex maze for 5 consecutive days, starting on the 1st day after the simulation of blast-induced brain injury. The route of rat's movement through the maze of three groups was graphically depicted and visually analyzed.

Results of the study. The complex maze is considered to be complicated due to the presence of a central zone and T-shaped branches to the right and left, ending with

Оригінальні дослідження

feeders. The complication of the situation and task lead to fear with rapid adaptation of healthy rats. However, if the brain functions are impaired, the experimental animal loses its physiological ability to adapt and shows signs of anxiety. The analysis of the images of the movement paths showed that on the 1st day of training, the rats of the experimental group moved more actively, despite the fact that the animals did not yet know that food was waiting for them. They performed monotonous movements and went to the side sectors more often. On 2nd day, the experimental rats were more active and explored the maze more stereotypically than intact animals. On 3rd and 4th days, clear signs of spatial memory impairment in the experimental group were found in terms of lengthening the path to the feeder. On the 5th day, it was found that the experimental rats were still poorly oriented in the maze, with a monotonous examination of the side sectors.

Conclusions. Thus, mild blast-induced traumatic brain injury leads to persistent impairment of spatial memory, as well as behavioral disorders in the form of anxiety. The rats of the experimental group demonstrated stereotypical locomotor activity, as evidenced by the examination of the lateral sectors of the complex maze. At the same time, the memory for food reinforcement was well developed and retained.

Вступ. Вибухова хвиля є головним фактором, що пошкоджує людину, яка знаходиться в зоні вибуху. Вибухова хвиля, як фізичне явище, призводить до травматизації за рахунок надлишкового тиску та інтенсивної енергії, що викликає зміну тиску в середині органа і його зміщення, а також змінюється внутрішньоклітинний тиск і тиск рідин. Внаслідок цього спостерігається ефект кавітації з утворенням пухирців, що пошкоджують [1]. Особливо чутливими до дії вибухової хвилі є органи, насичені рідиною або повітрям, зокрема головний мозок, очі, вуха [2].

Цікавим є дослідження особливостей перебігу вибухо-індукованої травми головного мозку (ВІТГМ) [3]. Це пов'язано з поширеним застосуванням вибухівок у збройних конфліктах, у тому числі й в Україні на сьогоднішній день. Під час аварій на виробництві або терористичних актів впливу вибухової хвилі можуть піддаватись й цивільні [3].

Відомо, що особливо небезпечною є легка ВІТГМ, адже при цьому людина не піддається впливу вторинних факторів вибуху (уламків, термічного, газів), що викликають видимі травми організму. У той час як із легкою ВІТГМ постраждали рідше звертаються за медичною допомогою, не отримують своєчасного лікування, що призводить до прогресування пошкодження головного мозку [4].

Головною ланкою патогенезу ВІТГМ на сьогодні вважається дисфункція гемато-енцефалічного бар'єру (ГЕБ) та встановлено, що, незважаючи на дифузний характер травми, найбільш чутливою до дії вибухової хвилі структурою головного мозку є гіпокамп [3, 5]. Саме із цим більшість дослідників пов'язують порушення поведінки та пам'яті, зокрема просторової [6]. Проте достеменно не встановлені особливості змін поведінки і пам'яті, що не дає цілісного уявлення про можливі особливості клінічного перебігу ВІТГМ у різні посттравматичні періоди.

Мета дослідження - дослідити особливості пересування шурів з вибухо-індукованою травмою головного мозку в Ж-подібному лабіринті.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на 15 статевозрілих шурах лінії Wistar у лабораторії кафедри

Патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету (ДДМУ). Тварин утримували у стандартних умовах і на стандартному раціоні віварію. Всі тварини були розподілені на три групи – експериментальна (n=5), шурів якої піддавали інгаляційному наркозу галотаном (Halothan Hoechst AG, Germany), фіксували в горизонтальному положенні на животі головою до дульного кінця на відстані 5 см та однократно моделювали ВІТГМ шляхом генерації повітряної ударної хвилі з надлишковим тиском 26-36 кПа [7]; контрольна група (n=5), шури, що були тільки наркотизовані галотаном та фіксовані в горизонтальному положенні, та інтактна група (n=5), що не були під дією жодних з вищенаведених чинників. Контрольна та інтактна групи створені для відмежування дії додаткових патогенних факторів (наркоз, фіксування).

Дослідження рухової активності проводили за допомогою Ж-подібного лабіринту (рис. 1), який виготовлено із плексигласу і складається з 9 відділень: стартової зони, двох Т-подібних розгалужень з правого та лівого боку, з'єднаних загальним коридором, та двох бічних відділень, праворуч та ліворуч, для виходу тварин із лабіринту в стартову зону [8].

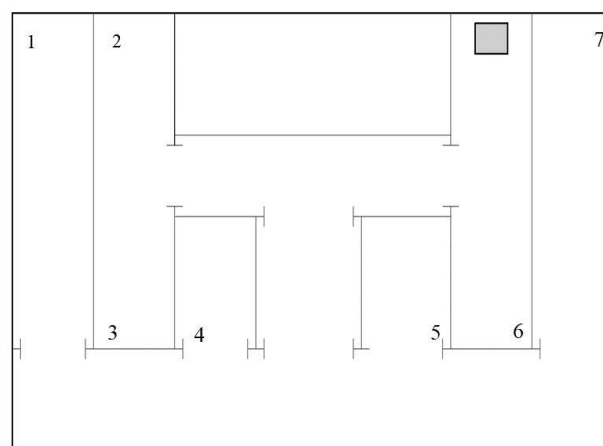


Рис. 1. Схематичне зображення Т-подібного лабіринту з номерами секторів

В одному з Т-подібних лабіринтів завжди знаходилась годівниця з кукурудзою, що допомагало формувати харчове підкріплення. Рухову активність від входу в лабіринт до того моменту, коли шур знаходив годівницю, фіксували камерою iPhoneXR на штативі, щоб не заважати тваринам п'ять діб поспіль, починаючи на 1-шу добу після відтворення ВІТГМ. Надалі графічно зображали маршрут переміщення по лабіринту щурів трьох груп і візуально аналізували, а також підраховували кількість заходів в окремі сектори, що частіше відвідувались, та порівнювали показники експериментальних та інтактних щурів.

Всі дослідження з лабораторними тваринами проводили із дотриманням положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних цілей» (Страсбург, 1986), Ванкуверської декларації про проведення дослідів на тваринах, Постанови Першого Національного конгресу з біоетики (Київ, 2001), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3446-IV від 21 лютого 2003 р., про що свідчить витяг з протоколу засідання Комісії з питань біомедичної етики ДДМУ № 3 від 2 листопада 2021 року.

Статистичну обробку проводили з використанням програми Microsoft Excel-2016 та STATISTICA 6.1 software (StatSoftInc., serial No. AGAR909E415822FA). Обчислювали середні та стандартне відхилення. Міжгрупові відмінності оцінювали за допомогою критерію Манна-Уїтні, вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Ж-подібний лабіринт відноситься до складних за

рахунок розгалуженості. Складність ситуації й завдання призводить до страху з швидкою адаптацією здорових щурів [9]. Проте при порушенні функцій головного мозку, експериментальна тварина втрачає фізіологічні здібності до адаптації і проявляє ознаки тривожної поведінки.

Вхід зі стартової зони в лабіринт здійснюється через прохід, який розташований у центрі загального коридору. Т-подібні розгалуження праворуч і ліворуч закінчуються годівницями. Вироблення складної замкнутої харчової поведінки у щурів здійснювалося методом надання голодним тваринам вільного вибору рухів у лабіринті. Ми не ускладнювали завдання щурам, тому корм знаходився завжди в одній тій же годівниці.

Тварини мали виконати такі етапи: увійти зі стартової зони до лабіринту, дослідити лабіринт, знайти одну з годівниць з кормом та отримати підкріплення.

Аналіз зображень шляхів пересувань показав, що в 1-шу добу навчання (рис. 2) щури експериментальної групи пересувались більш активно, незважаючи на те, що тварини ще не знали, що їх очікує їжа. Виконували одноманітні рухи, частіше заходили в бокові сектори, у той час як щури контрольної та експериментальної груп після дослідження усіх секторів знаходили годівницю. Аналіз кількості заходів в окремі сектори показав, що в 1-шу добу щури експериментальної групи частіше, на 75% ($p < 0,01$), ніж інтактні - у 1-й сектор, на 68% ($p < 0,05$) - у 4-й сектор і на 57% ($p < 0,05$) - у 7-й сектор.

На 2-гу добу посттравматичного періоду (рис. 3) спостерігали підвищену рухову активність у щурів

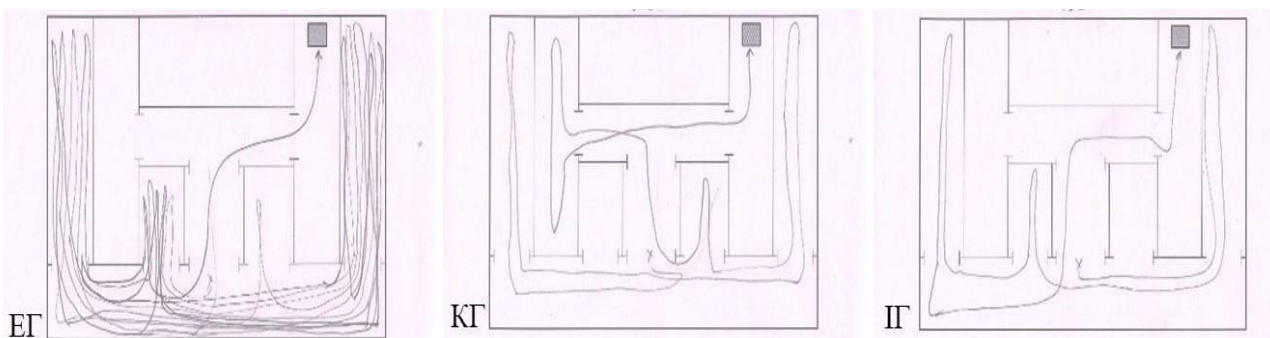


Рис. 2. Шлях пересування тварин у Ж-подібному лабіринті в 1-шу добу

Примітка: EG - експериментальна група, KG - контрольна група, IG - інтактна група.

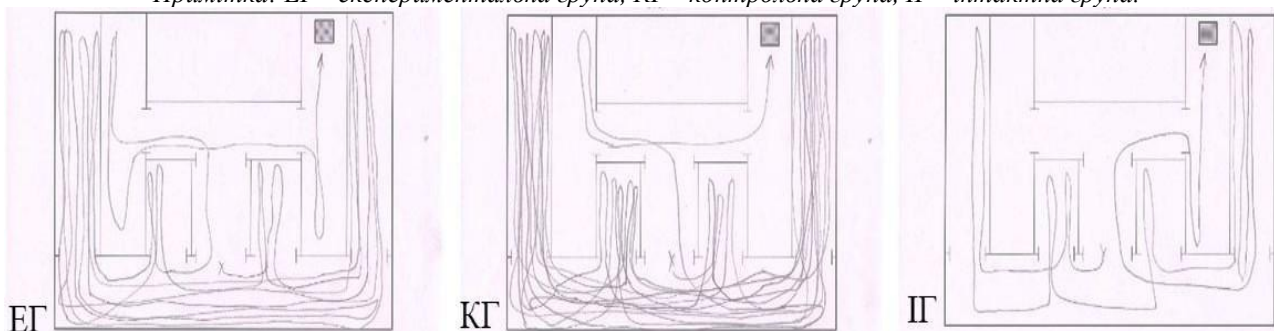


Рис. 3. Шлях пересування тварин в Ж-подібному лабіринті у 2-гу добу

Примітка: EG - експериментальна група, KG - контрольна група, IG - інтактна група.

Оригінальні дослідження

контрольної групи. Вважаємо, що це пов'язано із токсичною дією галотану. Проте в експериментальній групі щури, що також піддавались дії галотану, були менш активними порівняно з контрольними тваринами, але активніше і стереотипно за інтактних тварин досліджували лабіринт. Аналіз кількості заходів в окремі сектори показав, що у 2-гу добу щури експериментальної групи частіше, на 50% ($p < 0,05$), ніж інтактні - у 2-й сектор і на 24% ($p > 0,05$) - у 3-й сектор.

На 3-тю добу (рис. 4) встановлено чіткі ознаки порушення просторової пам'яті у щурів експериментальної групи за подовженням шляху до годівниці. При цьому щури вже пам'ятали про харчове підкріплення, про що свідчило прийняття, рухи щурів чітко вказували на пошук, але маршруту вони ще не запам'ятали. Кількість заходів в окремі сектори на 3-тю добу показав тенденцію до підвищення в

експериментальних щурів на 24% ($p > 0,05$) порівняно з інтактними тваринами - у 4-й сектор.

На 4-ту добу посттравматичного періоду шлях пошуку їжі (рис. 5) скорочується у щурів всіх груп, проте експериментальні щури все ще не можуть відтворити маршрут більш чітко, знову обстежують бокові сектори. При цьому, кількість заходів експериментальних щурів була більшою на 50% ($p > 0,05$) - у 2-й сектор, на 85% ($p < 0,05$) - у 4-й сектор, на 75% ($p < 0,01$) - у 5-й сектор, на 62% ($p < 0,05$) - у 6-й сектор і на 75% ($p < 0,05$) - у 7-й сектор порівняно з показниками щурів інтактною групи.

На 5-ту добу аналіз шляху пересування (рис. 6) тварин показує, що тварини з ВІТГМ все ще погано орієнтуються в лабіринті і навіть гірше, ніж на 3-тю та 4-ту добу, тобто просторова пам'ять порушена. Про це свідчить відновлення одноманітного обстеження

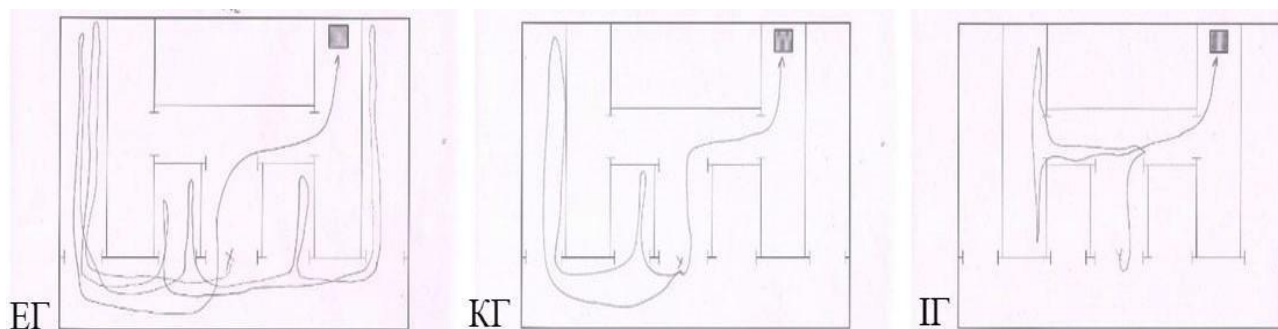


Рис. 4. Шлях пересування тварин у Ж-подібному лабіринті на 3-тю добу

Примітка: ЕГ - експериментальна група, КГ - контрольна група, ІГ - інтактна група.

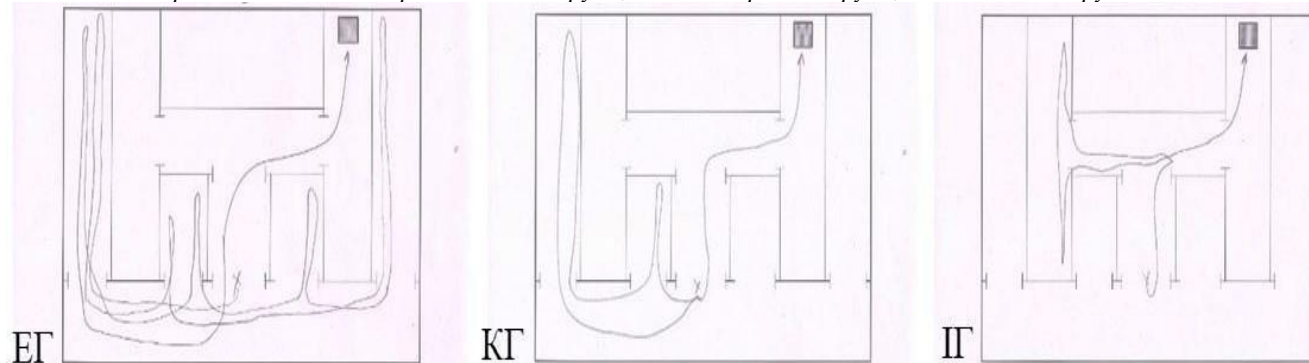


Рис. 5. Шлях пересування тварин у Ж-подібному лабіринті на 4-ту добу

Примітка: ЕГ - експериментальна група, КГ - контрольна група, ІГ - інтактна група.

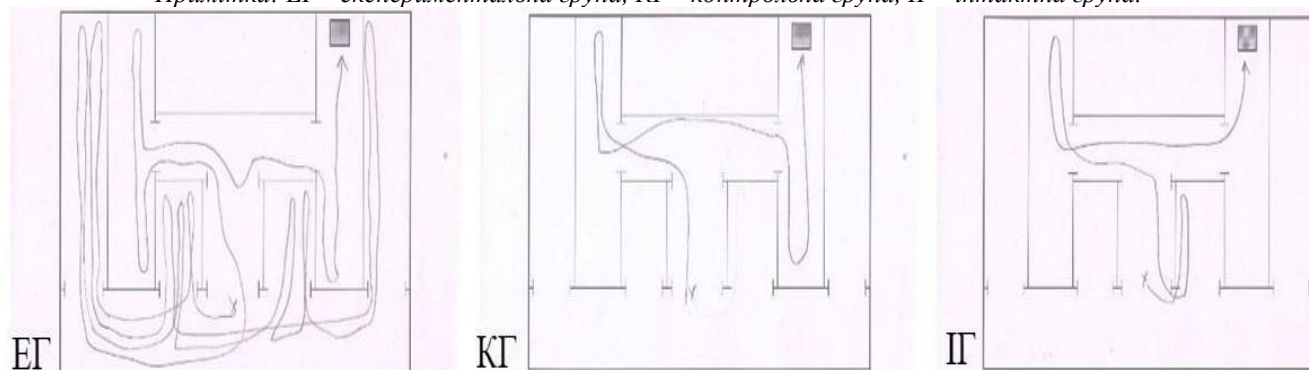


Рис. 6. Шлях пересування тварин у Ж-подібному лабіринті на 5-ту добу

Примітка: ЕГ - експериментальна група, КГ - контрольна група, ІГ - інтактна група.

бокових секторів лабіринту, у той час як тварини контрольної та інтактної груп швидко знаходили годівницю, попередньо впевнившись у безпеці обстановки. Також встановлено, що щури експериментальної групи, при порівнянні з інтактними тваринами, на 100% ($p < 0,01$) частіше заходили у 1-й, 4-й та 7-й сектори і на 91% ($p < 0,01$) частіше заходили у 5-й сектор.

Наше дослідження в Ж-подібному лабіринті дозволило встановити й наявність тривожності, про що свідчили стереотипність поведінки, обстеження одних і тих самих бокових секторів [10]. А також виявлено порушення просторової пам'яті, але пам'ять щодо харчового підкріплення формувалась і зберігалась до 5-ї доби спостереження. При цьому, на 3-тю та 4-ту добу спостереження щури з ВІТГМ демонстрували кращу пошукову діяльність. Це, ймовірно, відбувається за рахунок активізації компенсаторних

механізмів [11]. Але надалі, без отримання лікування, відбувалась декомпенсація.

Висновки. Таким чином, легка вибухо-індукована травма головного мозку призводить до стійкого порушення просторової пам'яті, а також порушення поведінки у вигляді тривожності. Щури експериментальної групи демонстрували стереотипну рухову активність, про що свідчило обстеження більшою мірою бокових секторів Ж-подібного лабіринту. При цьому пам'ять щодо харчового підкріплення добре вироблялась і зберігалась.

Перспективи подальших досліджень. У зв'язку з короткотрасним дослідженням, перспективним є довготривале спостереження за поведінкою щурів у Ж-подібному лабіринті для з'ясування особливостей формування і зберігання пам'яті при вибухо-індукованій травмі.

Список літератури

1. Sundar S, Ponnalagu A. Biomechanical analysis of head subjected to blast waves and the role of combat protective headgear under blast loading: a review. *J Biomech Eng.* 2021;143(10):100801. DOI: 10.1115/1.4051047.
2. Brungart D, Kruger S, Kwiatkowski T, Heil T, Highland KB, Cohen J, et al. The effects of blast-related neurotrauma on aurally aided visual search while standing and walking. *J Neurotrauma.* 2019;36(16):2443-53. DOI: 10.1089/neu.2018.5630.
3. Zhang L, Yang Q, Yuan R, Li M, Lv M, Zhang L, et al. Single-nucleus transcriptomic mapping of blast-induced traumatic brain injury in mice hippocampus. *Sci Data.* 2023;10(1):638. DOI: 10.1038/s41597-023-02552-x.
4. Kozlova Y, Kozlov S. Changes of trace elements in the cerebellum and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in the acute period of mild blast-induced brain injury. *J Trace Elem Med Biol.* 2023;78:127189. DOI: 10.1016/j.jtemb.2023.127189.
5. Schmitt R, Qayum S, Pliss A, Kuzmin AN, Muthaiah VPK, Kaliyappan K, et al. Mitochondrial dysfunction and apoptosis in brain microvascular endothelial cells following blast traumatic brain injury. *Cell Mol Neurobiol.* 2023;43(7):3639-51. DOI: 10.1007/s10571-023-01372-2.
6. Nonaka M, Taylor WW, Bukalo O, Tucker LB, Fu AH, Kim Y, et al. Behavioral and myelin-related abnormalities after blast-induced mild traumatic brain injury in mice. *J Neurotrauma.* 2021;38(11):1551-71. DOI: 10.1089/neu.2020.7254.
7. Козлова ЮВ, Абдул-Огли ЛВ, Кошарний АВ, Китова ІВ, Корзаченко МА. Пристрій для дослідження дії на організм ударної хвилі вибуху. Патент на корисну модель № 146858 У. Бюл. № 12, 24.03.2021.
8. Seo J, Hwang H, Sohn H, Cho E, Jung S, Kim S, et al. Cyclin Y regulates spatial learning and memory flexibility through distinct control of the actin pathway. *Mol Psychiatry.* 2023;28(3):1351-64. DOI: 10.1038/s41380-022-01877-0.
9. Hayashi T, Sato N. Contribution of the retrosplenial cortex to route selection in a complex maze. *Neurosci Res.* 2023;1:S0168-0102(23)00206-7. DOI: 10.1016/j.neures.2023.11.011.
10. Adıgüzel E, Çiçek B, Ünal G, Aydın MF, Barlak-Keti D. Probiotics and prebiotics alleviate behavioral deficits, inflammatory response, and gut dysbiosis in prenatal VPA-induced rodent model of autism. *Physiol Behav.* 2022;256:113961. DOI: 10.1016/j.physbeh.2022.113961.
11. Hosgorler F, Koc B, Kizildag S, Canpolat S, Argon A, Karakilic A, et al. Magnesium acetyl taurate prevents tissue damage and deterioration of prosocial behavior related with vasopressin levels in traumatic brain injured rats. *Turk Neurosurg.* 2020;30(5):723-33. DOI: 10.5137/1019-5149.JTN.29272-20.1.

References

1. Sundar S, Ponnalagu A. Biomechanical analysis of head subjected to blast waves and the role of combat protective headgear under blast loading: a review. *J Biomech Eng.* 2021;143(10):100801. DOI: 10.1115/1.4051047.
2. Brungart D, Kruger S, Kwiatkowski T, Heil T, Highland KB, Cohen J, et al. The effects of blast-related neurotrauma on aurally aided visual search while standing and walking. *J Neurotrauma.* 2019;36(16):2443-53. DOI: 10.1089/neu.2018.5630.
3. Zhang L, Yang Q, Yuan R, Li M, Lv M, Zhang L, et al. Single-nucleus transcriptomic mapping of blast-induced traumatic brain injury in mice hippocampus. *Sci Data.* 2023;10(1):638. DOI: 10.1038/s41597-023-02552-x.
4. Kozlova Y, Kozlov S. Changes of trace elements in the cerebellum and their influence on the rats behavior in elevated plus maze in the acute period of mild blast-induced brain injury. *J Trace Elem Med Biol.* 2023;78:127189. DOI: 10.1016/j.jtemb.2023.127189.
5. Schmitt R, Qayum S, Pliss A, Kuzmin AN, Muthaiah VPK, Kaliyappan K, et al. Mitochondrial dysfunction and apoptosis in brain microvascular endothelial cells following blast traumatic brain injury. *Cell Mol Neurobiol.* 2023;43(7):3639-51. DOI: 10.1007/s10571-023-01372-2.
6. Nonaka M, Taylor WW, Bukalo O, Tucker LB, Fu AH, Kim Y, et al. Behavioral and myelin-related abnormalities after blast-induced mild traumatic brain injury in mice. *J Neurotrauma.* 2021;38(11):1551-71. DOI: 10.1089/neu.2020.7254.
7. Kozlova YuV, Abdul-Ohly LV, Kosharnyi AV, Kytova IV, Korzachenko MA. Prystrii dlia doslidzhennia dii na orhanizm udarnoi khvyli vybukhu [A device for studying the effect on the body of the shock wave of an explosion]. Patent of Ukraine No. 146858 U. Bull. No. 12, 24.03.2021. (in Ukrainian).
8. Seo J, Hwang H, Sohn H, Cho E, Jung S, Kim S, et al. Cyclin Y regulates spatial learning and memory flexibility through distinct control of the actin pathway. *Mol Psychiatry.* 2023;28(3):1351-64. DOI: 10.1038/s41380-022-01877-0.
9. Hayashi T, Sato N. Contribution of the retrosplenial cortex to route selection in a complex maze. *Neurosci Res.* 2023;1:S0168-

Оригінальні дослідження

0102(23)00206-7. DOI: 10.1016/j.neures.2023.11.011.

10. Adigüzel E, Çiçek B, Ünal G, Aydın MF, Barlak-Keti D. Probiotics and prebiotics alleviate behavioral deficits, inflammatory response, and gut dysbiosis in prenatal VPA-induced rodent model of autism. *Physiol Behav.* 2022;256:113961. DOI: 10.1016/j.physbeh.2022.113961.

11. Hosgorler F, Koc B, Kizildag S, Canpolat S, Argon A, Karakilic A, et al. Magnesium acetyl taurate prevents tissue damage and deterioration of prosocial behavior related with vasopressin levels in traumatic brain injured rats. *Turk Neurosurg.* 2020;30(5):723-33. DOI: 10.5137/1019-5149.JTN.29272-20.1.

Відомості про авторів

Козлова Ю.В. – канд. мед. наук, доцент кафедри Патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету, м. Дніпро, Україна. ORCID 0000-0002-1364-1910

Information about the author

Kozlova Yu.V. – PhD, Assistant Professor at the Pathological Anatomy, Forensic Medicine and Pathological Physiology Department, Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine. ORCID 0000-0002-1364-1910

Надійшла до редакції 01.02.24

Рецензент – проф. Ткачук С.С.

© Ю.В. Козлова, 2024