

М. В. Шелковський¹, **О. Г. Ракочі**¹, В. В. Варецький¹, В. В. Крушінський²

¹ ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини АМН України», Київ

² Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ПОКАЗНИКІВ ВИЩОЇ НЕРВОВОЇ ДІЯЛЬНОСТІ НА СТРЕСОВИЙ ВПЛИВ У ПОПЕРЕДНЬО ГАММА-ОПРОМІНЕНИХ ЩУРІВ

Дослідження змін поведінкових реакцій (човникова і скінерівська камери) в одноразово тотально гамма-опроміненних і неопроміненних щурів, які зазнали дії стресу (фут-шок), показали, що реакції на дію стресу показників умовнорефлекторної поведінки в цілому характеризуються достовірним безпосереднім стимуляційним ефектом, який у період після дії стресу може змінюватися пригніченням. Виявлені в опроміненних щурів зміни реакції на дію стресу нелінійно залежать від дози попереднього опромінення - незначне посилення при дозі в 0,5 Гр, достовірне збільшення при 1,0 Гр, незначне зниження при 3,0 Гр і достовірне зниження (до рівня в контролі) при 6,0 Гр. За результатами регресійного аналізу показників умовнорефлекторної поведінки щурів при рівнях опромінення в дозах в 1,0, 3,0 та 6,0 Гр між опроміненням і нерадіаційним стресом знайдена достовірна взаємодія.

Ключові слова: іонізуюче випромінювання, стрес, поведінкові реакції щурів.

Відомо, що як у разі опромінення, що сталося за аварійних ситуаціях, так і в інших випадках, його вплив на організм і, зокрема, на центральну нервову систему найчастіше поєднується із дією низки різних стресових чинників. Такий комбінований вплив призводить до певної невизначеності кінцевого ефекту, що яскраво проявилось в медичних наслідках аварії на ЧАЕС, тяжкість яких при відносно малих дозах опромінення не відповідала очікуваним реакціям: психоневрологічні розлади у людей, які зазнали впливу комплексу її чинників, і нині залишаються важливою медичною і соціально-економічною проблемою [1]. Можливості визначення значущості радіаційних та нерадіаційних чинників та взаємодії їхніх впливів за даними дозиметрії та клінічних досліджень досить обмежені. Однак з'ясувати принаймні деякі ключові питання можна в модельному експерименті з урахуванням фактичної дози опромінення та рівня стресового навантаження. У раніше проведених дослідженнях нами вивчалася залежність реакції показників умовнорефлекторної поведінки щурів на нерадіаційний стрес (фут-шок) від рівня попереднього опромінення при дозах 0,5 та 1,0 Гр [2]. У даній публікації представлено дані продовження цих досліджень з узагальненням даних для всього діапазону застосованих доз: 0,5, 1,0, 3,0 та 6,0 Гр.

Мета роботи – визначити залежність реакцій вищої нервової діяльності щурів на нерадіаційний стрес від рівня попереднього гамма-опромінення в нелетальному діапазоні доз.

Матеріали та методи досліджень

Одним з основних і найпоширеніших методів вивчення стану вищої нервової діяльності лабораторних тварин є вивчення змін їхньої поведінки. У наших дослідженнях для цього було використано човникову камеру (поведінка активного уникання негативне підкріплення) і скінерівську камеру (позитивне підкріплення) [3]. У цілому застосування цих методик давало змогу різнобічної оцінки функціонального стану вищої нервової діяльності. Деталі щодо застосування цих методик описані нами раніше [2]. Дослідження проведено на 125 білих безпородних щурах-самцях з масою тіла на початку дослідження близько 180 г (вік \approx 3 місяці).

Тварин попередньо тестували у човниковій камері і розподіляли на групи, урівноважені за рівнем одержаних показників групи: контроль; дія стресу, опромінення (0,5, 1,0, 3,0 та 6,0 Гр – по групі на кожну дозу), комбінація попереднього опромінення у вказаних дозах із дією стресу – по групі на кожну дозу. Після цього тварин відповідних груп одноразово тотально опромінювали і далі проводили їхнє регулярне тестування в човниковій камері. Емоційно-больовий стрес (електричний струм – фут-шок) завжди безпосередньо передував тестуванню. Протокол дослідження (як для човникової, так і скінерівської камер) передбачав чотири стресування тривалістю 10 хв, два тестування без такого впливу, чотири стресування тривалістю 20 хв і знову два тестування без попереднього фут-шоку. Усього після опромінення проводили по 12 тестувань

(три тестування за два тижні), а загальна тривалість дослідження разом із реєстрацією фонових даних становила понад два місяці. Дію стресу реалізовували у пристрої, в якому тварини зазнавали впливу ударів електричного струму, яких не могли уникнути. Використано скануючий стабілізований постійний електричний струм, що подавався на ґратчасту підлогу та стінки (0,8 мА; тривалість сканування восьми суміжних електродів становила 75 мс).

Гостре тотальне опромінення для всіх доз проводили за допомогою установки «Рокус» (^{60}Co ; 0,63 Гр/хв). Різницю між середніми в різних групах вважали статистично значущою при рівні вірогідності $p < 0,05$. Для визначення взаємодії між впливами врахованих чинників застосували регресійний аналіз.

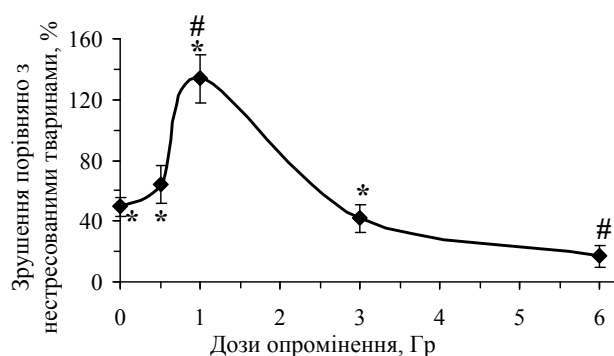
Результати дослідження та їхнє обговорення

Оцінка впливу емоційно-больового стресу на функціональний стан вищої нервової діяльності неопромінених щурів показала, порівняно з контролем, підвищення рівня умовнорефлекторної поведінки, що узгоджувалося з раніше одержаними даними [2, 4]. Так, приміром, за узагальненими за всі серії досліджень даними кількість умовнорефлекторних реакцій активного уникання (човникова камера) становила $40,5 \pm 1,9$ та $50,4 \pm 2,2$ у нестресованих та стресованих тварин відповідно. Аналогічні, хоча й невірогідні, тенденції спостерігалися і для даних, одержаних у скінерівській камері. На відміну від безпосередньої реакції на дію стресу відстрочена реакція характеризувалася протилежною ознаками певного пригнічення умовнорефлекторної поведінки. Слід, однак, відзначити значну варіабельність реакції на дію стресу. При цьому той чи інший характер реакцій для певних тварин залишався сталим упродовж усіх проведених тестувань. Ці спостереження узгоджуються з даними літератури про індивідуальний характер реакції організму на дію стресу [5].

Порівняння реакцій на стрес у опромінених нестресованих та опромінених у тій самій дозі щурів, які піддавалися дії стресу, показало модифікацію реакції, характер якої залежав від дози попереднього опромінення. Виявлено, що в разі доз у 0,5 та особливо 1,0 Гр реакція на дію стресу зростає. З іншого боку, при дозах у 3,0 та 6,0 Гр реакція на дію стресу вірогідно зменшувалася, на що вказували дослідження з використанням як човникової, так і скінерівської камер. Так, приміром, в останньому випадку різниця у відсотках значень показника оперантної активності у стресованих та нестресованих тварин становила

$52,2 \pm 16,0$, $28,9 \pm 8,5$, та $5,0 \pm 10,8$ % при дозах у 0,0, 3,0 та 6,0 Гр відповідно (вірогідно, порівняно неопроміненими тваринами для дози в 6,0 Гр).

Дані, одержані для всіх застосованих доз дали змогу побудувати узагальнену криву залежності реакції на стрес від дози попереднього опромінення. Нижче демонструється така крива, побудована на основі результатів тестування щурів у човниковій камері. Характер залежності для всіх показників умовнорефлекторної поведінки був аналогічним. Для прикладу на рисунку відображено дані для одного показника кількості умовнорефлекторних реакцій за перші 25 спроб тестування (цей показник виявився найбільш чутливим до впливу стресу). Реакція на дію стресу подається як різниця рівня показника у стресованих та нестресованих тварин у відсотках. Рівень зрушень показників у нестресованих щурів прийнято за нуль.



Залежність реакції на стресування від дози попереднього опромінення щурів:
* – реакція вірогідна ($p < 0,05$) порівняно з нестресованими тваринами; # – реакція вірогідна ($p < 0,05$) порівняно з такою у неопромінених тварин.

Як видно з представленого рисунка, залежність реакції на дію стресу від дози попереднього опромінення має чітко нелінійний характер: незначне підвищення при дозі в 0,5 Гр, вірогідне зростання при 1,0 Гр, практична відсутність реакції при 3,0 Гр і вірогідне її зниження при 6,0 Гр.

Важливим питанням комбінованого впливу нерадіаційного стресу та зовнішнього гамма-опромінення є наявність чи відсутність взаємодії цих впливів та її характер. Якщо визначається така взаємодія, то це ймовірно вказує на наявність спільної ланки механізмів реалізації відповідних біологічних ефектів. Значення коефіцієнтів взаємодії одержували за допомогою регресійного аналізу. Для показника умовнорефлекторних реакцій, що розглядався вище, враховані значення коефіцієнта взаємодії для застосованих доз становили $22,6$ ($P > 0,05$), $50,8$ ($P < 0,05$) $-46,6$ ($P < 0,05$) та $-67,1$ ($P < 0,001$) для доз у 0,5, 1,0, 3,0 та 6,0 Гр відповідно. Як видно з цих даних,

характер взаємодії нелінійно залежить від дози опромінення і вказує на зростання реакції в разі менших доз і зменшення у випадку їхнього збільшення. Такою ланкою ймовірно може бути активізація вільнорадикальних процесів, що спостерігається не тільки в разі впливу іонізуючої радіації, але й стресу нерадіаційної природи [6].

Таким чином, за умов даного експерименту з боку показників стану вищої нервової діяльності спостерігається нелінійно залежна від застосованої дози зміна реакції на дію стресу. При відносно малих дозах сумарний ефект дії опромінення і стресу може визначатися підвищеною під впливом попереднього опромінення чутливістю вищої нервової діяльності до стресових агентів. Зниження реакції на стрес при більших дозах (3,0 та 6,0 Гр) може пояснюватися певним ослабленням захисних механізмів. Слід зазначити, що екстраполяція застосованих у цьому експерименті доз на людину (при всій обмеженості й неоднозначності безпосередньої екстраполяції), приміром за відомими значеннями LD₅₀, дають рівні у два-три рази менші. При такому підході дози в 0,5 та 1,0 Гр відповідають дозам для людини в 0,2 - 0,5 Гр, тобто тому рівню опромінення, який здебільшого зазнали ліквідатори аварії на ЧАЕС. Саме при таких дозах виникали найбільші

складнощі у встановленні зв'язку між дозою опромінення і порушеннями з боку тих чи інших систем організму.

Висновки

1. Реакції показників умовнорефлекторної поведінки щурів на дію стресу (фут-шок) є індивідуальними, але в цілому характеризуються вірогідним підвищенням їхнього рівня, що в період після стресу може змінюватися на пригнічення функції вищої нервової діяльності.

2. Умовнорефлекторні реакції на дію стресу в попередньо опромінені у дозі 1,0 Гр щурів перевищують такі в неопромінені тварин як безпосередньо після дії стресу. При дозах у 3,0 та 6,0 Гр спостерігається зниження рівня реакції на дію стресу. У цілому залежність реакцій вищої нервової діяльності щурів на нерадіаційний стрес від рівня попереднього гамма-опромінення має чітко нелінійний характер.

3. За результатами регресійного аналізу даних вивчення умовнорефлекторної поведінки тварин між впливами опромінення та стресу при дозах в 1,0, 3,0 та 6,0 Гр визначено вірогідну взаємодію. Значення визначених коефіцієнтів взаємодії нелінійно залежать від дози опромінення.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Логановський К. М.* Дискусійні питання щодо ролі іонізуючого випромінювання і стресу в генезі нейропсихіатричних наслідків Чорнобильської катастрофи // Журнал АМН України. - 2006. - Т. 12, № 1. - С. 185 - 195.
2. *Варецький В. В. та ін.* Вища нервова діяльність експериментальних тварин за умов впливу іонізуючого випромінювання // Медичні наслідки Чорнобильської катастрофи: 1986 - 2011: монографія / За ред. А. М. Сердюка, В. Г. Бебешки, Д. А. Базики. - Тернопіль: ТДМУ, 2011. - С. 958 - 981.
3. *Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. П.* Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. - М.: Высш. шк., 1991. - 400 с.
4. *Варецький В. В. та ін.* Залежність змін вищої нервової діяльності щурів від рівня стресового навантаження нерадіаційної природи у порівнянні з залежністю від дози γ -опромінення // Проблеми радіаційної медицини та радіобіології: зб. наук. праць. - Вип. 15. - К.: ДІА, 2010. - С120 - 121.
5. *Geerse G.J., van Gurp L.C., Wiegant V.M., Stam R.* Individual reactivity to the open-field predicts the expression of stress-induced behavioural and somatic pain sensitisation // Behav. Brain Res. - 2006. - Vol. 174, No. 1. - P. 112 - 118.
6. *Adaptogenic effect of Morus alba on chronic footshock-induced stress in rats / S. Nade Vandana // Indian J. Pharmacol. - 2009. - Vol. 41, No. 6. - P. 246 - 251.*

Н. В. Шелковский, В. В. Варецкий, А. Г. Ракочи, В. В. Крушинский

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ НА ВЛИЯНИЕ СТРЕССА У ПРЕДВАРИТЕЛЬНО ГАММА-ОБЛУЧЕННЫХ КРЫС

Исследования изменений поведенческих реакций (челночная и скиннеровская камеры) у однократно тотально гамма-облученных и необлученных крыс, подвергшихся действию стресса (фут-шок) показали следующее. Реакции на действие стресса показателей условнорефлекторного поведения в целом характеризуются достоверным непосредственным стимуляционным эффектом, который в период после действия стресса может сменяться угнетением. Выявленные у облученных крыс изменения реакции на действие стресса нелинейно зависят от дозы предварительного облучения: незначительное усиление при дозе в 0,5 Гр, достоверное увеличение при 1,0 Гр, незначительное снижение при 3,0 Гр и достоверное снижение (до уровня в контроле) при 6,0 Гр. По результатам регрессионного анализа показателей условнорефлекторного поведения крыс при уровнях облучения в дозах в 1,0, 3,0 и 6,0 Гр между облучением и нерадиационным стрессом найдено достоверное взаимодействие.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, стресс, поведенческие реакции крыс.

M. V. Shelkovsky, V. V. Varetsky, **A. G. Rakochij**, V. V. Krushinsky

**FEATURES OF CHANGES OF HIGHER NERVOUS PERFORMANCE INDICATORS
ON STRESS INFLUENCE IN PRELIMINARY GAMMA- RADIATION-EXPOSED OF RATS**

Studies of active avoidance behavioral reactions (shuttle box) changes under exposure of stress (foot-shock) in the rats preliminary exposed to single total γ -radiation at doses of 0.5 and 1.0 Gy gave the following results. Reactions of conditioned behavior indices to stress are individual, but in general they are characterized by significant direct effect of activation, which could be followed by depression during time period after stress application. Effects of stress in the rats previously exposed at the dose of 1.0 Gy exceed those in the animals both directly after stress application and during the time periods without stress. Interaction between factors of ionizing radiation and stress were found for the tested indices at the dose of 1.0 Gy. Rats exposed at the dose of 0.5 Gy increase of direct response to stressing was not found, but it was evident in delayed responses.

Keywords: ionizing radiation, stress, rats' behavior.

Надійшла 25.10.2013

Received 25.10.2013