

# ХОЛИНЕРГИЧЕСКАЯ МОДУЛЯЦИЯ И НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВРОЖДЕННОГО ПОВЕДЕНИЯ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЗКОЧАСТОТНЫХ АКУСТИЧЕСКИХ КОЛЕБАНИЙ

УДК 612.8

© **О. В. Торкунова, А. А. Байрамов, П. Д. Шабанов**<sup>1</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург;<sup>2</sup>ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург

## Ключевые слова:

низкочастотное акустическое воздействие; поведение; медиаторы; дофамин; норадреналин; серотонин; гипоталамус; гиппокамп.

## Резюме

Целью этой работы явилось исследование роли холинергической медиаторной системы в нейрохимических механизмах нарушения поведения крыс, подвергнутых воздействию низкочастотных акустических колебаний (НЧАК). Крыс в 1-й группе (НЧАК) подвергали однократному воздействию инфразвука с уровнем звукового давления 150 дБ. 2-й группе животных за 1 ч до тестирования вводили внутривенно атропин (10 мг/кг). Группе НЧАК+А (3-я группа) производили премедикацию атропином за 30 мин до воздействия НЧАК. Функциональное состояние ЦНС у контрольных и подопытных животных оценивали в «открытом поле» с предварительным типированием животных. Оценка уровней нейромедиаторов (дофамина, норадреналина и серотонина и их метаболитов) производили хроматографическим методом. Действие НЧАК на поведение крыс в «открытом поле» выразилось в снижении локомоторно-исследовательской активности, увеличении доли пассивного поведения и ослаблении функции активного исследования пространства. Атропин уменьшал эмоциональную напряженность крыс и восстанавливал локомоторно-исследовательскую активность. Через 24 ч в 1-й группе (НЧАК) исследовательское, ориентировочное и локомоторно-исследовательское поведение восстановилось до исходного уровня. Действие НЧАК уменьшало в гипоталамусе концентрацию норадреналина, не меняло уровень серотонина и повышало концентрацию дофамина. Атропин до воздействия НЧАК нормализовал уровень дофамина в гипоталамусе крыс и снижал степень изменений уровня норадреналина и серотонина, но не нормализовал повышенный уровень дофамина в гиппокампе крыс. Обсуждаются механизмы холинергических влияний на эмоциональное поведение и обмен моноаминов в головном мозге крыс, нарушенных при воздействии НЧАК.

Исследования последних лет показывают, что низкочастотные акустические колебания (НЧАК) как антропогенный фактор окружающей среды оказывают неблагоприятное влияние на организм чело-

века, вызывая структурно-функциональные сдвиги практически во всех органах и системах. В организме людей, длительное время контактирующих с источниками НЧАК, регистрируются патологические изменения, в основе которых лежат сложные нарушения нейрогуморального и нервно-рефлекторного характера [1–4]. Известно, что при воздействии неблагоприятных факторов окружающей среды у экспериментальных животных нарушается воспроизведение как врожденного, так и индивидуально приобретенного поведения, приводящего к дезадаптации в окружающей среде.

Предполагается, что одним из возможных механизмов патологического действия НЧАК является изменение функциональной активности медиаторных систем. Стрессорные факторы внешней среды, к которым можно отнести и НЧАК, оказывают разобщающий эффект на баланс основных нейромедиаторов в структурах мозга. При этом в организме не развиваются, как при реализации стрессового ответа, последовательные изменения в их содержании ни в одной из областей мозга [5–14]. О состоянии холинергической системы при стрессовых ситуациях имеется очень немного работ. Известна способность холинергической системы как наиболее древней медиаторной системы к неспецифическому ответу на любые изменения внутренней и внешней среды организма [5, 6]. В исследованиях [24] было зарегистрировано значительное уменьшение содержания не только норадреналина (НА), дофамина (ДА) и серотонина (СЕ), но и активности ацетилхолинэстеразы в гиппокампе у длительно (21 сутки) стрессированных крыс. В другой работе [20] продемонстрировано снижение уровня ацетилхолина в мозге во время стресса. Существуют сведения о нивелировании возникающего после воздействия НЧАК изменения порогов возбудимости центральной нервной системы (ЦНС) холинолитиками [4].

Участие холинергической системы в реализации ответа на различные стрессогенные воздействия недостаточно исследовано, не изучена и ее причастность к механизмам реализации поведения и взаимодействию с другими медиаторными системами в условиях воздействия НЧАК.

Целью этой работы явилось исследование роли холинергической медиаторной системы в нейрохимических механизмах нарушениях поведения крыс, подвергнутых воздействию НЧАК.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения экспериментов использовались 4 группы животных по 10 особей в каждой. Крыс группы НЧАК подвергали однократному воздействию с уровнем звукового давления 150 дБ. Животным группы А за 1 час до тестирования вводили внутривенно атропин (10 мг/кг). При комбинированном действии факторов животным группы НЧАК+А производилась премедикация атропином за 30 мин до воздействия НЧАК. Функциональное состояние ЦНС у контрольных и подопытных животных оценивали по их поведенческой активности в ситуации новизны обстановки (метод «открытое поле») с предварительным типированием животных. Оценка уровней нейромедиаторов и их turnovers производилась хроматографическим методом.

Для исследования ориентировочной локомоторно-исследовательской активности у крыс использовали «открытое поле» (ОП), которое рассматривается как удобная обстановка для оценки поведенческих тенденций в минимально структурированной среде. В настоящем исследовании для оценки врожденного поведения крыс на периферии и в центре открытого поля (ОП) регистрировали количественные и временные параметры актов: обнюхивания, стойки с упором и без упора, пересечения квадратов с обнюхиванием, повороты, обнюхивания норки, груминг, сидения, дефекации. Пятиминутное тестирование животных в ОП осуществлялось в условиях естественной освещенности и при комнатной температуре. Исследование врожденных реакций крыс в ОП проводили по модернизированной методике электронной фиксации on line 300 количественных и временных параметров поведения животных в режиме реального времени.

Статистическую обработку данных осуществляли общепринятыми методами, оценку различий — с применением непараметрического критерия Манн–Уитни.

**Оценка уровней нейромедиаторов и их turnovers.** Декапитация животных осуществлялась без предшествующей анестезии через 1 час после воздействия НЧАК. Удаленный мозг был немедленно заморожен в жидком азоте. В исследованиях были использованы структуры гипоталамуса, гиппокампа, выделенные при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  и сохраненные в жидком азоте до хроматографического анализа.

Концентрацию НА, ДА, СЕ и их метаболитов — 3-метокси-4-гидроксибензилгликола (МГФГ), дигидроксибензилуксусной кислоты (ДОФУК), 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ГИУК) — в структурах мозга определяли методом ВЭЖХ

на Beckman System Gold с электрохимическим детектором LC-4C. Ткани мозга гомогенизировали в охлажденной 0,1 N хлорной кислоте, центрифугировали при 14000 g в течение 7 минут при  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Слой супернатанта был фильтрован через 0,20-мм Millipore фильтр. Часть супернатанта была введена в систему HPLC-ED. Разделение пиков проходило в хроматографической колонке SperoClone 5 $\mu$  ODS 2 (250 $\times$ 4,60 mm) с предколонкой SecurityGuard (ODS 4 mm L $\times$ 3,0 mm ID) производства Phenomenex. Аналитическое время пробега пробы в хроматографической колонке составляло 18 мин при изократической скорости 1,0 мл/мин. В состав подвижной фазы входил фосфат-цитратный буфер, SOS и ацетонитрил, при pH=3,5.

Идентификацию и чистоту хроматографических пиков, а также их количественную оценку осуществляли по отношению к пикам, полученным от внешних стандартов. Для оценки оборота НА, ДА, СЕ были рассчитаны отношения ДОФУК/ДА, МГФГ/НА и 5-ГИУК/СЕ от измеренных величин этих нейрохимических веществ.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Результаты этологического исследования.** Исследовательская активность крыс через 1 ч после воздействия НЧАК (группа НЧАК) характеризовалась незначимым снижением как количественных, так и временных показателей актов обнюхивания пола и норки. Горизонтальная локомоторно-исследовательская активность (ЛИА) также претерпела незначительное снижение, на 16%. Ослабление функции горизонтального исследования — локомоции — по параметру времени реализации одиночного акта составило 43% ( $p < 0,05$ ). Вертикальная локомоторно-исследовательская активность (СтУ и Ст) количественно изменялась, но только на уровне тенденции. Длительность одиночного акта стоек с упором оставалась без изменений, а длительность акта стоек без упора имела тенденцию к снижению на 39%. Горизонтальная локомоторная (Квд) активность крыс группы НЧАК характеризовалась значимым снижением на 80%. Информативным показателем активного поведения оказалась суммарная длительность всех актов пересечения квадратов без обнюхивания на периферии открытого поля (снижение на 77%). Ориентировочная составляющая ЛИА в ОП имела значимое снижение в числе и времени реализации всех актов поворотов на 61%. Число актов пассивного поведения (Сид.) имело значимое снижение. В то же самое время суммарная длительность всех актов сидения достоверно увеличивалась на 105%. Подобный факт свидетельствует об увеличении доли пассивного поведения и, соответственно, о торможении функции активного исследования. Эмо-

циональный компонент поведения животных, оцениваемый по числу актов дефекации, не претерпел значимых изменений.

Как известно, ЛИА в ОП представляет собой континуум определенной последовательности актов в блоках локомоции. Изменения в порядке следования актов в этих блоках свидетельствуют о перестройке поведенческой активности вследствие воздействия. Для удобства анализа последовательные акты в каждом из блоков локомоции разбивались на пары, которые обозначались как связанные акты поведения. Количественное изменение этих связанных пар актов и является доказательством перестройки поведенческой активности после воздействия. Достоверное уменьшение числа связанных пар обнюхивание-поворот на 74 % указывает на ослабление реализации как функции исследования, так и функции ориентации в пространстве. О снижении уровня локомоторной активности животных в ОП свидетельствует и уменьшение числа пар СИД-КВД на 84 % ( $p < 0,05$ ). Изменение числа остальных пар актов, представленных в таблице, только подтверждает выявленную тенденцию. Таким образом, воздействие НЧАК инициировало ослабление функций

исследования-локомоции-ориентации и превалирование доли пассивного поведения в континууме поведенческих актов подопытных крыс.

Крысы, получившие однократно атропин (группа А), демонстрировали незначительное снижение уровня исследовательской функции. Уровень реализации горизонтальной ЛИА животных группы А оставался неизменным. Применение препарата не оказывало влияния на воспроизведение вертикальной ЛИА как по числу стоек с упором, так и стоек без упора. Горизонтальная локомоторная активность крыс, представленная актами пересечения квадратов без обнюхивания, имела достоверное количественное снижение на 86 %, при значительном сокращении на 87 % длительности одиночного акта. Снижение (на 50 %) числа актов поворотов у крыс данной группы, оказалось не столь значительным, как у особой группы НЧАК, но значимым. Время реализации всех актов поворотов также снизилось на 39 %. Как следует из таблицы 1, время реализации всех актов ориентировочного поведения крысами группы А, оказалось сниженным в меньшей степени, чем у крыс в группе НЧАК (изменение достигало 61 %). Снижение числа сидений на 34 % сопровождалось увеличением об-

■ Таблица 1. Изменение параметров поведения крыс через 1 ч после воздействия НЧАК

Параметры актов	Группы животных			
	Контроль	НЧАК	Атропин	НЧАК+ атропин
N Обн	131,4±37,0	89,2±61,6	84,9±54,3	68,4±35,6 *
T Обн	0,6±0,1	0,6±0,0	0,6±0,1	0,5±0,1 *
T Обн <sub>макс</sub>	2,8±0,8	1,6±0,3 **	2,0±0,3	1,7±0,5 *
T Обн <sub>макс1</sub>	125,4±50,6	78,6±67,6	97,3±60,0	69,6±58,5 *
N Обн П	130,7±36,9	89,2±61,6	84,9±54,3	68,4±35,6 *
T Обн П	78,3±21,6	48,5±33,0 *	41,4±24,0 *	32,6±15,8 **
N Квд	2,8±1,6	0,5±0,7 *	0,4±0,9 *	0,2±0,4 **
T Квд	0,4±0,2	0,2±0,2	0,0±0,1 **	0,0±0,1 **
T Квд <sub>мин</sub>	0,2±0,1	0,1±0,2	0,0±0,0 **	0,0±0,1 **
T_Квд <sub>мин1</sub>	35,8±42,1	45,8±68,1	11,6±26,3 *	29,2±66,0 *
T Квд <sub>макс</sub>	0,7±0,4	0,3±0,3	0,1±0,2 **	0,0±0,1 **
T Квд <sub>макс1</sub>	24,8±31,0	45,9±68,1	11,7±26,4 *	29,2±66,0 *
N Квд П	2,8±1,6	0,5±0,7 *	0,4±0,9 *	0,2±0,4 **
T Квд П	1,5±1,0	0,3±0,4 *	0,2±0,5 *	0,1±0,1 **
N СтУ	2,1±0,5	2,0±1,5	2,0±1,4	1,4±0,4 *
T СтУ	1,1±0,3	0,9±0,1	0,9±0,2	0,7±0,2 *
T СтУ <sub>мин</sub>	0,9±0,3	0,8±0,2	0,8±0,2	0,6±0,2 *
T СтУ <sub>макс</sub>	1,3±0,3	1,1±0,3	1,0±0,3	0,8±0,3 *
T СтУ <sub>макс1</sub>	115,2±81,9	54,8±70,7 *	25,2±30,9	49,9±56,5
N СтУ П	2,1±0,5	2,0±1,5	2,0±1,4	1,4±0,4 *
T СтУ П	2,2±0,6	1,9±1,5	1,8±1,4	1,0±0,4 **
N Стк	1,1±0,5	1,1±1,5	0,9±1,2	0,4±0,4 *
T Стк	0,9±0,4	0,5±0,5	0,4±0,4	0,3±0,3 *
T Стк <sub>макс</sub>	1,1±0,6	0,7±0,7	0,4±0,5	0,3±0,3 *
N Стк П	1,1±0,5	1,1±1,5	0,9±1,2	0,4±0,4 *
T Стк П	1,3±0,8	1,2±1,6	1,0±1,3	0,3±0,3 *
T Сид	4,6±1,3	10,9±4,1 **	11,4±7,0	10,9±4,7
T Сид <sub>макс</sub>	14,1±5,4	41,6±17,2 **	44,0±28,3	47,8±24,5 *

■ Таблица 1. Продолжение

Параметры актов	Группы животных			
	Контроль	НЧАК	Атропин	НЧАК+атропин
N Сид П	13,9±4,5	12,9±1,5	9,2±3,1 *	11,0±2,9
T Сид П	68,4±28,7	140,0±51,4 *	98,9±46,3	115,9±43,3
N Пов	7,6±2,8	3,0±1,7 *	3,8±2,0 *	5,8±4,9
T Пов <sub>мин</sub>	0,5±0,1	1,3±0,7 *	0,7±0,4	1,2±1,0
T Пов <sub>мин1</sub>	159,6±79,2	155,9±76,4	66,7±46,5 *	109,9±66,8
N Пов П	7,6±2,8	3,0±1,7 *	3,8±2,0 *	5,4±4,9
T Пов П	10,3±4,2	4,0±1,7 *	6,3±3,4	9,9±8,5
N Бол	4,0±2,8	4,0±1,6	9,1±4,1 *	5,1±3,3
N Нор	10,0±4,2	5,7±3,5	7,6±5,5	4,3±2,8 *
N Нор П	9,9±4,2	5,7±3,5	7,4±5,6	4,2±2,7 *
N КвО	20,0±5,0	16,8±4,0	19,8±4,0	24,5±6,3
T КвО	1,3±0,2	1,1±0,1 *	2,0±0,3 *	2,0±0,35 **
T КвО <sub>макс</sub>	3,7±1,3	3,5±1,8	6,8±1,7 *	8,7±3,5 **
T КвО П	27,0±6,6	19,1±6,9	38,5±9,1 *	48,1±12,3 **
N Лок	19,9±4,0	15,50±14,1	18,6±3,9	22,0±6,3
T Лок	49,7±13,1	103,5±46,2	91,8±43,3	122,7±36,2 *
Обн-Сид	2,1±1,0	1,7±1,4	0,4±0,5 **	0,7±0,7 *
Обн-Гр	0,9±0,5	0,9±0,9	0,9±1,2	0,2±0,3 *
Обн-Пов	3,0±2,0	0,8±1,0 *	0,4±0,5 **	0,9±1,0 *
Обн-Нор	4,4±3,2	3,0±2,2	2,0±1,8 *	0,8±1,0 **
Квд-Обн	0,9±0,7	0,3±0,4	0,1±0,2	0,10±0,2 *
Сид-Квд	0,7±0,3	0,1±0,2 *	0 **	0 **
Гр-Обн	1,2±0,6	1,2±1,4	1,5±1,5	0,4±0,5 *
Пов-Обн	3,5±2,2	1,0±1,1 *	1,0±0,7 *	1,4±1,1
Бол-КвО	0,8±0,6	1,0±0,7	2,7±1,3 *	2,6±2,2
Нор-Обн	4,2±3,4	2,7±2,1	1,3±1,3 *	1,1±1,4 *

Обозначения параметров актов поведения: Т — время (с), N — количество (раз), Ц — в центре ОП, периф. — на периферии ОП, Бол. — болюсы, Гр. — груминг, Нор. — обнюхивание норки, Пов. — повороты, Сид. — сидение, Ст. — стойки, СтУ — стойки с упором, КвО — пересечение квадрата с обнюхиванием, Обн. — обнюхивание, Лок — блоки локомоций, макс-, мин — обозначает максимальное и минимальное значение параметров актов поведения, соответственно, макс 1 и мин 1 — расположение на оси 5-минутного тестирования в ОП максимального и минимального значения параметра акта. \* —  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$  — в сравнении с контролем

щей длительности актов сидения на 44%. Следует отметить не столь высокий уровень увеличения этого показателя по сравнению с таковым в группе НЧАК. Увеличение числа болюсов на 127% ( $p < 0,05$ ) в контексте настоящего исследования не следует объяснять действием препарата на тонус вегетативной нервной системы. Спектр значимо измененных пар связанных актов поведения крыс в группе А обнаружен значительно более широким, чем у особей группы НЧАК, а изменения в числе пар были однонаправленными. Число пар обнюхивание-сидение уменьшилось на 81% ( $p < 0,01$ ), обнюхивание-повороты — на 87% ( $p < 0,01$ ), обнюхивание-норки на 55%, норки-обнюхивание — на 69%, КВД-обнюхивание — на 89%. Применение препарата спровоцировало исчезновение в континууме поведения крыс пар СИД-КВД. Следует подчеркнуть, что снижение количества пар перечисленных актов оказалось не столь выраженным, как у крыс группы акустики. Общим свойством поведения крыс двух рассмотренных групп явилось увеличение числа пар БОЛ-КВО, однако в группе А это увеличение составило 237% ( $p < 0,05$ ). Таким образом, характеризуя поведение

крыс после введения препарата, можно констатировать его преимущественное влияние на тонус вегетативной нервной системы на фоне незначительного ослабления функции исследования-локомоции.

Воздействие НЧАК на фоне предварительного введения крысам атропина (в группе НЧАК+А) спровоцировало выраженные изменения в широком спектре параметров активного поведения крыс. Так, наблюдалось снижение числа обнюхиваний пола на 48% ( $p < 0,05$ ), а числа обнюхиваний норок на 57% ( $p < 0,05$ ). Наряду с численным снижением обнюхиваний выявлено значимое укорочение времени реализации данного акта на 17%. Соответственно, оказалось наиболее выраженным и снижение времени реализации всех актов обнюхиваний крыс группы НЧАК+А по сравнению с реакциями крыс остальных подопытных групп. Горизонтальная ЛИА характеризовалась тенденцией к усилению на 22,5%. Количество стоек как с упором, так и без упора, наоборот, достоверно снизилось на 33 и на 63% соответственно. В отличие от характеристик вертикальных поведенческих актов животных других групп, особи группы НЧАК+А демонстрировали наименьшую

длительность как акта стоек с упором, так и без упора. Соответственно, обнаружена сниженной и общая длительность реализации всех стоек с упором на 53% ( $p < 0,01$ ). Та же закономерность выявлена и для длительности акта стоек без упора: общая длительность всех стоек снизилась на 78%. Количество локомоторных актов (КВД) снизилось на 75% при сокращении времени реализации одиночного акта на 93%. Общая длительность всех реализованных актов локомоции сократилась на 96%. Количество и длительность локомоторных актов без обнюхивания находятся в отрицательной обратной связи с уровнем мотивации страха. Выявленное значительное снижение как числа реализации, так и временных параметров локомоции может свидетельствовать о более значительном растормаживающем эффекте сочетанного влияния НЧАК и препарата.

В группе НЧАК+А снижение числа актов поворотов только на 24% представляет собой относительное восстановление уровня ориентировочной активности по сравнению с данными крыс других подопытных групп. Минимальная длительность одиночного акта поворота после применения комбинированного воздействия НЧАК+А имела тенденцию к увеличению на 150%. Животные всех подопытных групп демонстрировали увеличение минимальной длительности одиночного акта поворота. При этом наибольшее увеличение наблюдалось у животных группы НЧАК, а наименьшее — у крыс группы А. Таким образом, исходя из данного факта, эффективность примененных воздействий для этой функции поведения выстраивается в ряду по убыванию: НЧАК → НЧАК+А → А. Иная картина складывается в отношении длительности всех реализаций актов поворотов. Если уменьшение времени реализации всех актов поворотов на периферии ОП в группе комбинированного воздействия составило 4%, то в группах А и НЧАК — 39% и 61% соответственно. Таким образом, по параметру ориентировочного поведения прослеживается более эффективное растормаживающее влияние комбинированного воздействия.

Пассивная форма поведения претерпела изменение в виде увеличения длительности одиночного акта сидения на 137%. В то же время количество актов имело тенденцию к снижению на 21%, общее время реализации всех актов сидения увеличилось на 70%. В ряду эффективности факторов воздействия на реализацию данной функции наблюдается следующий порядок: наибольшее тормозящее влияние оказывает НЧАК, а наименьший — действие препарата. Вследствие применения комбинированного воздействия НЧАК+А выявлено увеличение актов дефекации на 28%. Таким образом, выявляется растормаживающий эффект препарата на реализацию пассивной формы поведения.

Воздействие НЧАК на фоне применения атропина отражалось как на временных реализациях (тенденция к увеличению на 147%), так и на количественных

показателях (тенденция к увеличению на 11%) блоков локомоций.

Анализ количества пар связанных поведенческих актов в целом показал достоверное снижение по всем параметрам активного поведения. Увеличение же показателя пар БОЛ-КВО на 225% подтверждает предположение о превалирующем эффекте препарата на вегетативную нервную систему при комбинированном воздействии.

Таким образом, применение воздействия НЧАК на фоне предварительного введения атропина провоцировало разнонаправленные изменения в поведенческом континууме крыс. Собственно исследовательская функция оказалась наиболее ослабленной, а реализация горизонтальной локомоторно-исследовательской активности — усиленной. Растормаживающий эффект атропина при комбинированном воздействии на ЛИА проявляется через снижение мотивации страха и напряжения у крыс.

Для экспресс-оценки состояния памятных следов о пространстве ОП проводили повторное тестирование поведения животных через 1 сут после воздействий. Анализ полученных данных выявил сужение спектра измененных показателей у подопытных крыс по всем группам. Значимые отличия в активности крыс группы НЧАК обнаружены только в параметрах пассивного поведения, при этом количество актов сидения значимо снизилось на 36% ( $p < 0,01$ ). Таким образом, можно заключить, что функции исследовательского, ориентировочного и локомоторно-исследовательского поведения через сутки после применения воздействия НЧАК практически восстановились до исходного уровня.

Значимое снижение числа пар связанных актов выявлено только в отношении актов, характеризующих переходы от пассивного к локомоторному поведению (СИД-КВО) и наоборот (КВо-СИД). Так, число пар СИД-КВО значимо снизилось на 45%, а КВо-СИД — на 68%.

Остаточный эффект воздействия препарата на поведение крыс группы А в ОП весьма показательно демонстрируется достаточно широким спектром измененных показателей. Вместе с тем, выраженность эффекта воздействия препарата сохранилась на реализации пассивного поведения, эмоционально-тревожного и, до некоторой степени, локомоторного. Число актов сидений зарегистрировано меньшим на 21%, а длительность реализации акта значимо увеличилась на 38%. Количество актов эмоционально-тревожного поведения (ГР) оказалось увеличенным значимо на 210%. При этом время реализации одиночного акта груминга увеличилось на 203%. Длительность всех актов груминга, зафиксированных на периферии ОП, достоверно возросла на 324%. Усиление тревожно-эмоциональной компоненты поведения сопровождалось увеличением числа блоков локо-

моции на 56%. Этот несколько противоречивый факт в контексте изменения значений всех параметров поведения крыс данной группы может быть объяснен только лишь укорочением цепи актов, составляющих одиночный блок локомоции. Через сутки после применения препарата выявлено увеличение числа пар, характеризующих переходы с локомоторно-исследовательского на исследовательское поведение. Так, количество КВо–ОБН увеличилось на 143% ( $p < 0,05$ ), а количество пар КВо–НОР — на 200%, что может свидетельствовать о восстановлении исследовательского поведения.

Поведение крыс в группе НЧАК + А через 1 сут после воздействия не имело значимых отличий от показателей крыс группы контроля (табл. 2). Исключение составили значения параметра акта пассивного поведения. Так, количество актов сидения оставалось значимо сниженным на 28% и через сутки после воздействия. Количество блоков локомоции при тестировании через сутки после воздействия имело не только тенденцию к восстановлению, но и к превышению контрольных значений на 21%. Уровень эмоционально-тревожного состояния крыс в ходе тестирования в ОП через сутки можно считать восстановленным до нормы ( $p > 0,05$ ). Незначимое увеличение времени реализации одиночного акта груминга на 124% характеризует его как показатель комфортности нахождения в ОП. Через сутки после комбинированного воздействия не выявля-

но значимых отличий в числе пар связанных актов. Вместе с тем необходимо отметить, что отсутствие значимых отличий, в основном, является следствием высокой индивидуальной чувствительности подопытных животных к комбинации факторов воздействия.

**Результаты исследования содержания нейромедиаторов.** Для оценки возможной связи состояния основных холинергических нейротрансмиссивных систем, обуславливающих изменения поведенческих и приспособительных реакций организма, с холинергической медиаторной системой исследовали содержание в гипоталамусе и гиппокампе крыс NE, MHPG, DA, DOPAC, 5-HT, HIAA, а также вычисляли коэффициент турновера.

Исследование медиаторного статуса головного мозга показало, что воздействие НЧАК вызывает дисбаланс содержания нейромедиаторов и их метаболитов в исследуемых структурах (табл. 3). Так, было установлено, что содержание НА в гипоталамусе контрольных животных составило  $3,15 \pm 0,28$ , а в группе, подвергнутой воздействию НЧАК, произошло снижение на 18%. Той же направленности, но более значительные изменения наблюдались как в группе, получившей атропин, так и в группе, подвергнутой одновременному воздействию атропина и НЧАК (группа НЧАК + атропин), и составили 83 и 34% соответственно. Содержание МГФГ и коэффициент турновера ни в одной из групп не менялось.

■ Таблица 2. Изменение параметров поведения крыс через 1 сутки после воздействия НЧАК

Параметры актов	Группы животных			
	Контроль	НЧАК	Атропин	НЧАК + атропин
N Сид	13,2±2,1	8,4±2,2 **	10,4±3,1	9,5±4,1 *
T Сид <sub>мин</sub>	0,9±0,1	1,3±0,2 **	1,2±0,2 **	1,0±0,2
N Сид П	11,9±2,2	6,5±2,0 **	9,6±3,0	9,0±4,1
N Гр	1,0±1,6	0,8±0,7	3,1±2,3 *	1,0±1,1
T Гр	0,3±0,3	0,5±0,4	0,9±0,4 *	0,6±0,8
T Гр <sub>макс</sub>	0,3±0,4	0,5±0,4	1,6±1,3 *	0,8±1,0
N_Гр П	1,0±1,6	0,8±0,7	3,0±2,1 *	1,0±1,1
T Гр П	0,9±1,4	0,6±0,6	3,9±3,6 *	1,3±1,3
T Пов <sub>мин1</sub>	51,3±40,1	99,6±62,6	149,1±67,1 *	105,3±70,2
T Кво	2,1 ±0,4	1,7±0,4	1,9±0,7 *	2,1±0,3
N Лок	14,3±3,7	11,5±5,6	22,3±6,4 *	17,3±8,4
Сид–Кво	5,0±1,5	2,8±1,6 *	4,2±2,1	4,0±2,4
Кво–Обн	3,7±2,0	5,1±3,0	9,0±4,2 *	6,9±4,8
Кво–Сид	6,9±1,9	2,2±1,5 **	5,0±0,5	4,8±2,3
Кво–Нор	0,9±0,5	1,0±1,2	2,7±1,3 *	1,2±1,0

Обозначения параметров актов поведения: Т — время (с), N — количество (раз), Ц — в центре ОП, периф. — на периферии ОП, Бол. — болюсы, Гр. — груминг, Нор. — обнюхивание норки, Пов. — повороты, Сид. — сидение, Ст. — стойки, СтУ — стойки с упором, Кво — пересечение квадрата с обнюхиванием, Обн. — обнюхивание, Лок — блоки локомоций, макс-, мин — обозначает максимальное и минимальное значение параметров актов поведения, соответственно макс1 и мин1 — расположение на оси 5-минутного тестирования в ОП максимального и минимального значения параметра акта. \* —  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$  — в сравнении с контролем

■ Таблица 3. Содержание основных медиаторов в головном мозге крыс, подвергавшихся воздействию НЧАК

Содержание медиатора, нг/мг	Группы животных			
	Контроль	НЧАК	Атропин	НЧАК+атропин
Гипоталамус				
НА	3,15±0,28	2,59±0,24 *	1,76±0,09 *	2,08±0,16 *
МГФГ	0,05±0,02	0,05±0,01	0,03±0,01	0,04±0,01
К	0,02	0,02	0,02	0,02
ДА	0,34±0,01	0,51±0,09 *	0,27±0,04 *	0,30±0,03
ДОФУК	0,11±0,01	0,18±0,05 *	0,11±0,03	0,15±0,01 *
К	0,32	0,35	0,42	0,50
СЕ	2,00±0,18	1,87±0,19	1,10±0,15 *	1,33±0,10 *
5-ГИУК	0,96±0,08	1,20±0,19	0,69±0,07 *	0,66±0,20 *
К	0,48	0,64	0,62	0,50
Гиппокамп				
НА	0,08±0,05	0,04±0,02	0,03±0,02	0,01±0,01 *
МГФГ	0,01±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00
К	0,08	0,13	0,33	0,75
ДА	4,54±0,50	6,21±0,64 *	4,52±0,99	6,52±0,75 *
ДОФУК	4,69±0,15	1,07±0,15 *	0,82±0,12	1,03±0,17 *
К	0,16	0,20	0,18	0,16
СЕ	0,72±0,05	0,68±0,11	0,50±0,20	0,60±0,05 *
5-ГИУК	0,76±0,03	0,76±0,11	0,69±0,04	0,70±0,04
К	1,05	1,24	1,38	1,18

НА — норадреналин, ДА — дофамин, СЕ — серотонин, МГФГ — 3-метокси-4-гидроксифенилгликол, ДОФУК — дигидроксифинил-луксусная кислота, 5-ГИУК — 5-гидроксииндолуксусная кислота. \* —  $p < 0,05$  к группе контроля

Содержание ДА (табл. 3) под воздействием НЧАК повысилось на 50%, одновременно повышалось и содержание его метаболита на 63%, а атропин вызывал обратный эффект — количество медиатора снизилось на 21%, количество же его метаболита не менялось. Важно отметить, что сочетанное воздействие на организм животных возвращало содержание ДА к контрольному уровню, хотя наблюдалось увеличение содержания ДОФУК и турновера.

Концентрация СЕ в гипоталамусе крыс, подвергшихся действию НЧАК существенно не менялась (табл. 3), хотя обнаруживалась тенденция к снижению его уровня при одновременном повышении содержания метаболита, турновер был значительно повышен относительно не только контрольной, но и всех остальных групп. Применение атропина приводило к снижению содержания как самого медиатора (на 45%,  $p < 0,05$ ), так и его метаболита (на 28%,  $p < 0,05$ ). Аналогичная картина наблюдалась и в группе сочетанного воздействия. В этой группе наблюдалось снижение СЕ на 34%, а 5-ГИУК — на 31%. Коэффициент турновера в группах, получивших атропин, был повышен по сравнению с таковым у контрольной группы.

Анализ содержания нейромедиаторов в гиппокампе продемонстрировал менее выраженные изменения в мозге подопытных животных. Так, уровень НА достоверно снижался только у одной из представленных групп — группе сочетанного действия (на 88%). В остальных группах наблюдалась лишь тенденция к снижению. Турновер, в результате неизменного во всех группах уровня МГФГ,

повышался во всех подопытных группах, достигая максимального значения в группе сочетанного действия.

Уровень ДА в гиппокампе в сравнении с контрольными значениями был повышен у крыс группы НЧАК и НЧАК+атропин. Это изменение достигало 37 и 44% соответственно. В то же самое время количество ДОФУК у животных этих групп также возрастало. В группе НЧАК уровень метаболита повысился на 47%, а в группе НЧАК+атропин — на 41%. Таким образом, турновер всех подопытных групп сохранялся.

Отмечалось значимое снижение концентрации СЕ у животных группы НЧАК+атропин на 17%. У крыс остальных подопытных групп наблюдалась только тенденция к аналогичному изменению. Количество метаболита данного медиатора в гиппокампе животных всех групп оставалось одинаковым. Турновер был повышен в группах НЧАК и группе, получившей атропин.

Таким образом, воздействие НЧАК приводило к уменьшению концентрации в гипоталамусе норадреналина, некоторому снижению уровня серотонина и повышению концентрации дофамина. Все эти изменения могут приводить к развитию торможения в ЦНС, увеличению времени реализации поведенческих реакций у крыс и нарушению структуры поведения в ОП в целом.

Применение атропина до воздействия НЧАК позволяло нормализовать уровень дофамина в гипоталамусе крыс и снижало степень изменений уровня норадреналина и серотонина. В гиппокампе крыс, подвергавшихся действию НЧАК, наблюдалось рез-

кое повышение содержания дофамина. Применение атропина не позволяло нормализовать этот показатель, вызывая дополнительно снижение концентрации норадреналина и серотонина.

Сходные сдвиги в концентрации нейромедиаторов отмечены и при других стрессорных воздействиях [1, 15–19]. В этих работах указывается, что экстренная адаптация к действию сильных раздражителей, сопровождающаяся развитием стрессовой реакции, приводит к уменьшению содержания нейромедиаторов во многих областях головного мозга. По их мнению, при сильном стрессе утилизация медиаторов в тканях мозга превышает способность нейронов их синтезировать. В результате этого уровень нейромедиаторов в мозге значительно снижается. Можно предположить, что в первые минуты после воздействия НЧАК высоких уровней реализуется неспецифическая реакция (адаптационная) — интенсивный выброс нейромедиаторов (из депо) и истощение синтеза адреналина. Не исключена и возможность повышения проницаемости гематоэнцефалического барьера и выхода аминов в кровь.

Различные стрессы активизируют центральные СЕ нейрональные системы; например, психологический стресс, как сообщали, увеличивал метаболизм СЕ [7]. Недавние исследования состояния беспокойства у животных и людей, показали, что центральная серотонинергическая система вовлечена в психопатологию состояния беспокойства посредством 5-НТ<sub>1а</sub>-агонистов, 5-НТ<sub>2</sub>-антагонистов и ингибиторов 5-НТ-поглощения [21, 22]. Стресс у крыс увеличивает выброс СЕ в амигдале и префронтальной коре. Увеличенный обмен СЕ лимбических областей мог быть вовлечен в эмоциональную и/или исследовательское поведение, вызванное стрессовыми психопатологическими стимулами [23]. Отмеченные сдвиги содержания серотонина, по всей вероятности, связаны и с ослаблением двигательной активности подопытных животных.

## Выводы

1. Действие низкочастотных акустических колебаний на реализацию врожденного поведения у крыс в «открытом поле» выразилось в общем ослаблении докомоторно-исследовательской активности, увеличении доли пассивного поведения и, соответственно, ослаблении функции активного исследования пространства.
2. Растворимаживающий эффект атропина при применении комбинированного воздействия выразился в снятии эмоциональной напряженности и реализации локомоторно-исследовательской активности. Через сутки у группы крыс, подвергшихся действию низкочастотных акустических колебаний, функции исследова-

тельского, ориентировочного и локомоторно-исследовательского поведения восстановились до исходного уровня.

3. Механизм действия холинолитика, кроме прямого влияния на структуру поведения в «открытом поле», обусловлен также регуляцией других нейромедиаторных систем организма, участвующих в реализации поведения. Действие низкочастотных акустических колебаний приводило к уменьшению концентрации в гипоталамусе норадреналина, незначительному снижению уровня серотонина и повышению концентрации дофамина. Все эти изменения могут приводить к развитию торможения в центральной нервной системе, увеличению времени реализации поведенческих реакций у крыс и нарушению структуры поведения в «открытом поле» в целом. Применение атропина до воздействия низкочастотных акустических колебаний позволяло нормализовать уровень дофамина в гипоталамусе крыс и снижало степень изменений уровня норадреналина и серотонина, но не позволяло нормализовать повышенный уровень дофамина в гиппокампе крыс, подвергавшихся действию низкочастотных акустических колебаний, вызывая дополнительно снижение концентрации норадреналина и серотонина.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Минасян С. М. Интегративные структуры мозга при вибрации. — Ереван, 1990. — 272 с.
2. Свидовый В. И. Инфразвук как фактор окружающей и производственной среды. СПб., 2002. — 140 с.
3. Свидовый В. И. Сочетанное воздействие шума и инфразвука на организм, проблемы гигиенического нормирования и профилактики: Автореф. дис... д-ра мед. наук, 1994.
4. Алексеев С. В., Мозжухина Н. А. К вопросу о механизмах действия инфразвука на организм человека и животных (обзор литературы) // Гигиена труда и проф. забол. — 1983. — № 9. — С. 35–37.
5. Суворов Г. А. Фармакологическая регуляция жизнедеятельности организма через холинергические системы. Тез. докл. к конф. — Л., 1970. — С. 18–23.
6. Зинкин В. Н., Богомолов А. В., Драган С. П., Ахметзянов И. М. Кумулятивные медико-экологические эффекты сочетанного действия шума и инфразвука // Экология и промышленность России. — 2012. — № 3. — С. 46–49.
7. Байрамов А. А., Шабанов П. Д., Юкина Г. Ю. Влияние пренатального шумового стресса на содержание дофамина и серотонина в головном мозге 2,5-недельных плодов крыс // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. — 2010. — Т. 8, № 1. — С. 57–58.
8. Байрамов А. А., Жарова Л. Т., Полетаева А. О., Прошин С. Н., Изменение врожденного поведения в «открытом поле» у самцов крыс с пренатально модифицированной активностью холинергической системы // Психофармакол. и биол. наркология. — 2008. — Т. 8, № 1–2.
9. Шабанов П. Д. Психофармакология. СПб.: Элби-СПб, 2008. — 416 с.
10. De'Souza E. V., Van Loon G. R. Brain serotonin and catecholamine responses to repeated stress in rats // Brain Res. — 1986. — Vol. 367. — P. 77–86.

11. Anisman H. Neurochemical changes elicited by stress: behavioral correlates // *Psychopharmacology of aver- sively motivated behavior*/Ed. by H. Anisman, G. Bignami. New York: Plenum press, 1978. — P. 119–171.
12. Bliss E. L. Effects of behavioral manipulations upon brain serotonin and dopamine // *Serotonin and behavior*/Ed. by J. D. Barchas, E. Usdin. New York: Academic press, 1973. — P. 315–324.
13. Goldstein M., Sauter A., Ueta K., Fuxe K. Effect of stress on central catecholamine levels // *Catecholamines and stress: Recent advances*/E. Usdin, R. Kvetnansky, I. J. Kopin. New York: Elsevier/North-Holland, 1980. — P. 47–52.
14. Roth K. A., Mefford I. M., Barchas J. D. Epinephrine, nor- epinephrine, dopamine and serotonin: differential effects of acute and chronic stress on regional brain amines // *Brain Res.* — 1982. — Vol. 239. — P. 417–424.
15. Corrodi H., Fuxe K., Lidbrink P., Olson L. Minor trasquil- izers, stress, and catecholamine neurons // *Brain Res.* — 1971. — Vol. 29. — P. 1–16.
16. Lidbrink P., Corrodi H., Fuxe K., Olson L. Barbiturates and meprobamate: decrease in catecholamine turnover on central dopamine and noradrenaline neuronal systems and the influence of immobilization stress // *Brain Res.* — 1972. — Vol. 45. — P. 507–524.
17. Thierry A. M., Javoy F., Glowinski J., Kety S. S. Effects of stress on the metabolism of norepinephrine, dopamine and serotonin in the central nervous system of the rat. I. Modi- fications of norepinephrine turnover // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1968. — Vol. 163. — P. 163–171.
18. Acosta G. B., Otero Losada M. E., Rubio M. C. Area de- pendent changes in GABAergic function after acute and chronic cold stress // *Neurosci. Lett.* 1993. — Vol. 154. — P. 175–178.
19. Otero Losada M. E. Acute stress and GABAergic function in the rat brain // *Brit. J. Pharmacol.* — 1989. — Vol. 96. — P. 507–512.
20. Gilad G. M., Mohan B. D., Finkelstein Y., Koffler B., Gil- lad V. H. Stress-induced activation of the hippocampal cholinergic system and the pituitary-adrenocortical axis // *Brain Res.* — 1985. — Vol. 347. — P. 404–408.
21. Carlson J. N., Fitzgerald L. W., Keller R. W., Glick S. D. La- teralized changes in prefrontal cortical dopamine activ- ity induced by controllable and uncontrollable stress in the rat // *Brain Res.* — 1993. — Vol. 630. — P. 178–187.
22. Deutch A. Y., Roth R. H. The determinants of stress-in- duced activation of the prefrontal cortical dopamine sys- tem // *Prog. Brain Res.* — 1990. — Vol. 85. — P. 367–402.
23. Dunn A. J. Changes in plasma and brain tryptophan, and brain serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid after foot shock stress // *Life Sci.* — 1988. — Vol. 42. — P. 1847–1853.
24. Anisman H., Kokkinidis I., Sklar L. S. Contribution of neu- rochemical change to stress-induced behavioral deficits // *Theory in psychopharmacology* / Ed. by S. J. Cooper. Lon- don: Academic press, 1981. — P. 65–102.
25. Miura H., Naoi M., Nakamura D., Ohta T., Nagat- su T. Changes in monoamine levels in mouse brain elicited by forced swimming stress and the protective effect of a new monoamine oxidase inhibitor // *J. Neural Trans.* — 1993. — Vol. 94. — P. 175–189.
26. Weiss J. M., Goodman P. A., Losito B. G., Corrigan S., Charry J. M., Bailey W. H. Behavioral depression pro- duced by an uncontrollable stressors: relationships to norepinephrine, dopamine and serotonin levels in vari- ous regions in the rat brain // *Brain Res. Rev.* — 1981. — Vol. 3. — P. 43–49.
27. Nakamura S. Axonal sprouting of noradrenergic locus co- eruleus neurons following repeated stress and antidepres- sant treatment // *Prog. Brain Res.* — 1991. — Vol. 88. — P. 587–598.
28. Sunanda B. S. Shankaranarayana Rao, Raju T. R. Restraint Stress-Induced Alterations in the Levels of Biogenic Amines, Amino Acids, and AChE Activity in the Hippocam- pus // *Neurochem. Res.* — 2000. — Vol. 25, N 12. — P. 1547–1552.

### CHOLINERGIC MODULATION AND NEUROCHEMICAL ASPECTS OF RAT BEHAVIOR AFTER ACTION OF INFRASLOW ACOUSTIC WAVES

*O. V. Torkunova, A. A. Bayramov, P. D. Shabanov*

◆ **Summary:** The purpose of the paper was to study the role of cholinergic neurotransmitter system in neurochemi- cal mechanisms of behavioral disorders in rats exposed to infraslow acoustic action (ISAA). The first group of rats was treated with a single exposure of ISAA 150 dBell. The se- cond group (A) was treated with atropine 1 h before testing. The third group (ISAA+A) was pretreated with atropine 10 mg/kg 1 h prior to ISAA. The central functions were as- sessed in open field with preliminary typing of rats and by means of HPLC biochemical measure of dopamine, norepi- nephrine and serotonin and their turnover in hypothalamus and hippocampus. ISAA decreased locomotor, explorative and investigative behavior in open field, passive forms of behavior being increased. Atropine reduced emotional signs of behavior and recovered locomotor activity in rats. In 24 h after ISAA the investigative, explorative and locomotor ac- tivity of rats was recovered up to background level. ISAA de- creased norepinephrine level, did not change serotonin concentration and increased dopamine level in hypothala- mus. Pretreatment of atropine recovered dopamine level in hypothalamus but not in hippocampus. The mechanisms of cholinergic effects on monoamine turnover in the brain and emotional behavior are discussed.

◆ **Key words:** infraslow acoustic action; behavior; neu- rotransmitters; dopamine; norepinephrine; serotonin; hypo- thalamus; hippocampus.

#### ◆ Информация об авторах

*Торкунова Ольга Владимировна* — аспирант отдела нейрофар- макологии им. С. В. Аничкова. ФГБНУ «Институт эксперимен- тальной медицины». 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павло- ва, д. 12. E-mail: abukinich@yahoo.com.

*Байрамов Алекбер Азизович* — д. м. н., старший научный со- трудник отдела нейрофармакологии им. С. В. Аничкова. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». 197376, Санкт-Петер- бург, ул. Акад. Павлова, д. 12. E-mail: alekber@mail.ru.

*Шабанов Петр Дмитриевич* — д. м. н., профессор, заведую- щий кафедрой фармакологии. Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова. 194044, Санкт-Петербург, ул. акад. Лебедева, д. 6. E-mail: pdshabanov@mail.ru.

*Torkunova Ol'ga Vladimirovna* — Fellow, Dept. of NeuroPhar- macology. Institute of Experimental Medicine. 197376, St. Pe- tersburg, Acad. Pavlov St., 12, Russia. E-mail: abukinich@yahoo.com.

*Bayramov Alekber Azizovich* — Dr. Med. Sci. (Pharmacology), senior researcher, Dept. of NeuroPharmacology. Institute of Experimental Medicine. 197376, St. Petersburg, Acad. Pav- lov St., 12, Russia. E-mail: alekber@mail.ru.

*Shabanov Petr Dmitriyevich* — Doct. of Med. Sci. (Pharmaco- logy), Professor and Head, Dept. of Pharmacology. Kirov Mili- tary Medical Academy. 194044, St. Petersburg, Acad. Lebe- dev St., 6, Russia. E-mail: pdshabanov@mail.ru.