

13. *Poitras D., Parent A.* Atlas of the distribution of monoamine containing nervous cell bodies in the brain stem of the cat // *J. Comp. Neurol.*—1978.—179, N 4.—P. 699—718.
14. *Ramon-Moliner E.* The locus coeruleus of cat. 111. Light and electron microscopic studies // *Cell Tiss. Res.*—1974.—149, N 2.—P. 205—221.
15. *Schneider J. S., Markham C. H.* Immunohistochemical localization of monoamine oxidase—B in the cat brain: clues to understanding N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) toxicity // *Exp. Neurol.*—1987.—97, N 3.—P. 465—481.
16. *Shimizu N., Katoh Y., Hida T., Satoh K.* The fine structural organization of the locus coeruleus in the rat with reference to noradrenaline contents // *Exp. Brain Res.*—1979.—37, N 1.—P. 139—148.
17. *Taber E.* The cytoarchitecture of the brain stem of the cat. 1. Brain stem nuclei of cat // *J. Comp. Neurol.*—1961.—116, N 1.—P. 27—67.
18. *Wiklund L., Leger L., Persson M.* Monoamine cell distribution in the cat brain stem. A fluorescence histochemical study with quantification of indolaminergic and locus coeruleus cell groups // *Ibid.*—1981.—203, N 3.—P. 613—647.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 17.05.88

УДК 612.833/591.1.001.6:613.68

Содержание гамма-аминомасляной и глутаминовой кислот в мозгу крыс при воздействии шумо-вибрационного фактора в условиях судовой среды

А. П. Стоянов, О. Ю. Нетудыхатка, С. В. Алексеев,
Р. А. Григорьян, В. А. Розанов, В. Н. Евстафьев

Быстрое развитие морского торгового флота, рост его технической оснащенности в последнее десятилетие сделали актуальной проблему адаптации человека к условиям судовой среды [8]. Систематическое изучение адаптивных возможностей организма является необходимой предпосылкой для расширения границ успешной деятельности человека в условиях действия шумового и вибрационного факторов судовой среды, а ее решение требует возможно более полного раскрытия основных механизмов адаптации [4, 6].

В настоящее время общепризнано, что в профилактике стрессорного действия факторов внешней среды на организм принимает участие ряд медиаторных систем центральной нервной системы (ЦНС). Определенный интерес в этом отношении представляет изучение роли гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) и глутаминовой (Глу) кислоты — двух наиболее распространенных медиаторов ЦНС, участвующих в механизмах долговременной адаптации [1, 3—5, 7, 9]. Шумовой и вибрационный факторы судовой среды в этой связи не представляют исключения.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния факторов судовой среды с преобладанием шумо-вибрационного компонента на содержание ГАМК и Глу, а также характер условнорефлекторной деятельности (УРД) экспериментальных животных в натурных условиях эксперимента.

Методика

Эксперименты проведены на 60 крысах-самцах линии Вистар массой 200—250 г, которые были разделены на три разные группы. Первая находилась в энергетическом отделении (ЭО) судна и подвергалась наиболее выраженному воздействию шумовым — 110 дБ и вибрационным — 84 дБ (по виброускорению) факторами (группа животных ШВ). Вторая группа находилась под воздействием комплексом факторов, типичных для помещений жилой надстройки, с уровнями шума и вибрации — 60 дБ (А) и 62 дБ соответственно и служила судовым контролем (СК). Третья группа животных являлась

береговым животным (БК). Установочные точки содержания животных в ЭО и жилой надстройке были подобраны таким образом, чтобы исключалось воздействие дополнительными неблагоприятными факторами стрессорного характера (температура и другие микроклиматические параметры, газовый состав воздуха), что обеспечивалось работой единой судовой системы вентиляции и кондиционирования воздуха (СКВ). В частности, температура воздуха в установочных точках изменялась в пределах 22—27 °С, относительная влажность — 40—60 %, скорость движения воздуха — 0,10—0,15 м/с, СКВ обеспечивала его очистку от пылевых загрязнений и вредных газообразных примесей. Доступ к воде и пище у экспериментальных животных был свободным.

У животных экспериментальной и контрольных групп вырабатывался условный оборонительный рефлекс в челночной камере [2] на 7—10-е и 30—35-е сутки 35-суточного трансмеридиального рейса. В качестве условного раздражителя использовали звуковой сигнал, через 5 с после которого подавали электроток (напряжением 20 В, безусловный раздражитель) на пол камеры и регистрировали латентный период реакции избегания. После закрепления УРД животных быстро декапитировали, извлекали головной мозг и на холоду разделяли его на мозжечок, ствол и кору. Исследуемые структуры мозга гомогенизировали и консервировали в 96 %-ном этаноле. В законсервированных образцах содержание свободных аминокислот ГАМК и Глу определяли способом спиртово-водной экстракции из ткани мозга [11] с последующей хроматографией на бумаге. Хроматограммы проявляли в 0,05 %-ном растворе нингидрина в ацетоне, высушивали на воздухе в течение 1—1,5 ч и выдерживали при температуре 80 °С в течение 20 мин. На каждой хроматограмме параллельно с серией исследуемых образцов разгоняли по две стандартные пробы, содержащие смесь известных аминокислот — ГАМК, глутамат, глутамин, аспартат, аспарагин, α - и β -аланин — в количестве 100 нмоль. Пятна ГАМК и Глу, которые хорошо отделялись от других аминокислот, вырезали, сворачивали в трубочки, помещали в светонепроницаемые пробирки и заливали 5 мл 0,005 %-ного раствора CdCl_2 в 76 %-ном этаноле. Элюирование осуществляли в течение одного часа с периодическим встряхиванием. Оптическую плотность снимали против воздуха при 520 нм на спектрофотометре СФ-16. Количество аминокислот рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{(E_0 - \phi) \cdot P}{(E_{\text{ст}} - \phi)} \text{ (мк} \cdot \text{моль} \cdot \text{г}^{-1} \text{ ткани)},$$

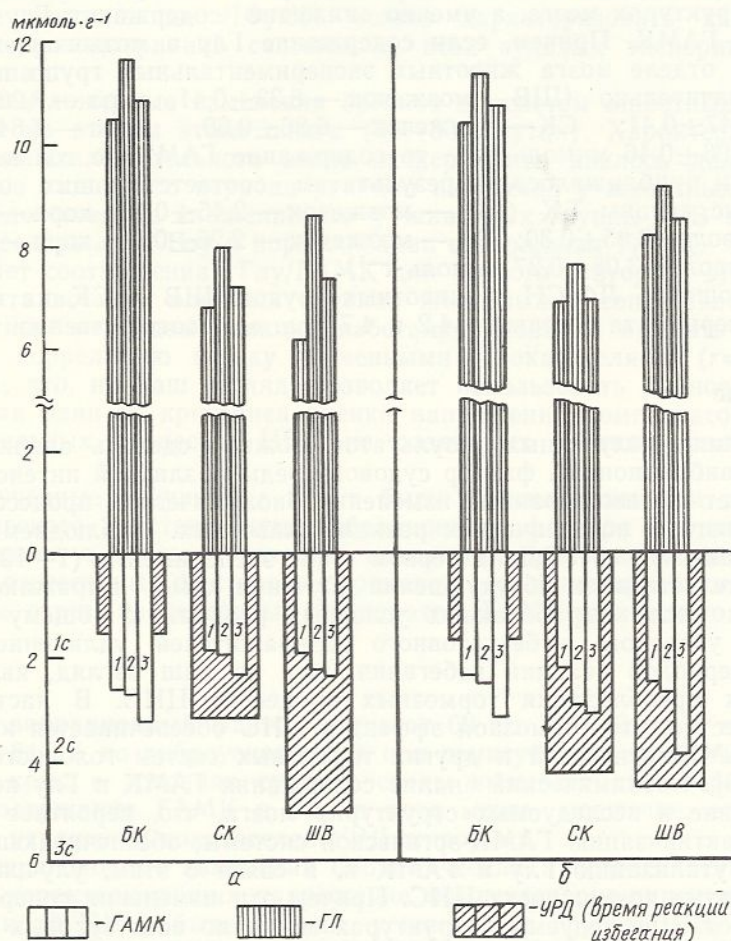
где E_0 — экстинкция опытной пробы; $E_{\text{ст}}$ — экстинкция стандартной пробы; P — множитель, зависящий от разведения; ϕ — фон. В качестве фона использовали наименее окрашенный участок хроматограммы, соответствующий самому маленькому пятну исследуемых аминокислот. Кровь для подсчета лейкоцитарной формулы брали из шейной раны при декапитации. Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием критерия t Стьюдента.

Результаты

У всех экспериментальных животных, находящихся под воздействием комплексом факторов судовой среды с различной выраженностью шумо-вибрационного компонента (группы СК и ШВ), на первом этапе эксперимента отмечено достоверное ухудшение показателей УРД (рисунки). Латентный период реакции избегания животных группы ШВ составил $2,51 \pm 0,43$ с, что в 3,2 раза больше, чем у животных группы БК ($0,79 \pm 0,03$ с, $P < 0,002$). Биохимический анализ содержания аминокислот в головном мозгу этих животных позволил выявить достоверное снижение содержания Глу во всех исследуемых структурах мозга. В мозжечке оно составило $6,23 \pm 0,63$ (в группе БК — $10,48 \pm 0,70$, $P < 0,002$), в коре — $8,79 \pm 0,83$ (БК — $11,73 \pm 0,68$, $P < 0,02$) и в стволовом отделе — $7,38 \text{ мкмоль} \cdot \text{г}^{-1} \pm 0,68$ (БК — $10,85 \pm 0,74$, $P < 0,01$). Параллельно со снижением содержания Глу отмечалось снижение содержания ГАМК. В мозжечке, коре и стволовом отделе оно ($\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1}$) составило $1,86 \pm 0,37$ (БК — $2,55 \pm 0,20$, $P > 0,05$); $2,25 \pm 0,2$ (БК — $2,62 \pm 0,20$, $P > 0,05$); $2,42 \pm 0,22$ (БК — $3,18 \pm 0,21$, $P < 0,05$) соответственно.

Этот этап эксперимента для животных группы ШВ характеризовался следующим соотношением форменных элементов белой крови:

общее число лейкоцитов в пределах нижней зоны нормы ($11\,500-8\,200 \cdot 10^9$ в 1 л), лимфоцитов — в пределах верхней зоны нормы и выше (68—82 %), сегментоядерных нейтрофилов — в пределах нижней зоны нормы и ниже (менее 20 %), число эозинофилов, палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов — в пределах нормы. По мнению Гаркави и соавт. [1], соотношение между числом лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов (ЛФ/СН) является основным и позволяет определить характер нейроэндокринных изменений в различных стадиях



Изменение условнорефлекторной деятельности (УРД), содержания гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) и глутаминовой кислоты (Глу) в мозжечке (1), коре (2) и стволе (3) головного мозга крыс в условиях судовой среды с преобладанием шумо-вибрационного компонента:

а — первый этап эксперимента — 7—10-е сутки, б — второй этап эксперимента — 30—35-е сутки (БК — береговой контроль, СК — судовой контроль, ШВ — шум, вибрация).

адаптационного процесса. Соотношение ЛФ/СН у животных группы ШВ на данном этапе эксперимента составило 5,5 усл. ед.

У животных как группы ШВ, так и группы СК, подвергавшейся менее выраженному воздействию шумо-вибрационным фактором, на первом этапе эксперимента отмечалось достоверное ухудшение показателя УРД, хотя изменение последнего было выражено не столь значительно. Латентный период реакции избегания животных группы СК составил $1,54 \pm 0,16$ с, $P > 0,001$. Содержание Глу и ГАМК в мозжечке, коре и стволовом отделе головного мозга экспериментальных животных данной группы было также сниженным и составило ($\text{мкмоль} \cdot \text{г}^{-1}$) $6,83 \pm 0,63$, $P > 0,001$ (по сравнению с группой БК); $7,99 \pm 0,42$, $P > 0,001$; $7,27 \pm 0,53$, $P > 0,002$ и $1,90 \pm 0,24$, $P > 0,05$; $1,99 \pm 0,62$, $P < 0,05$; $2,37 \pm 0,24$, $P < 0,05$ соответственно. Соотношение ЛФ/СН составило 4,9 усл. ед.

На втором этапе эксперимента (30—35-е сутки) были выявлены тенденция к уменьшению латентного периода реакции избегания у животных группы ШВ ($2,26 \pm 0,27$ с) и увеличение данного показателя УРД у животных группы СК ($2,16 \pm 0,41$ с). Следует отметить, что в этот период содержание Глу и ГАМК в головном мозгу животных групп ШВ и СК увеличилось по сравнению с таковым на первом этапе эксперимента. В это же время у животных группы СК наблюдались разнонаправленные изменения содержания Глу и ГАМК в изучаемых структурах мозга, а именно снижение содержания Глу и увеличение — ГАМК. Причем, если содержание Глу в мозжечке, коре и стволовом отделе мозга животных экспериментальных групп изменялось незначительно (ШВ — мозжечок — $8,33 \pm 0,41$, кора — $9,26 \pm 0,46$, ствол — $8,47 \pm 0,41$; СК — мозжечок — $6,86 \pm 0,60$, кора — $7,64 \pm 0,45$, ствол — $6,96 \pm 0,46$ мкмоль·г⁻¹), то содержание ГАМК не только было выше, но и приближалось к результатам соответствующих отделов мозга крыс группы БК (ШВ — мозжечок — $2,45 \pm 0,15$, кора — $2,68 \pm 0,24$, ствол — $3,85 \pm 0,30$; СК — мозжечок — $2,26 \pm 0,11$, кора — $2,99 \pm 0,36$ и ствол — $3,08 \pm 0,27$ мкмоль·г⁻¹).

Соотношение ЛФ/СН у животных группы ШВ и СК на втором этапе эксперимента составило 4,2 и 4,7 усл. ед. соответственно.

Обсуждение

На основании полученных результатов можно сделать заключение, что шумо-вибрационный фактор судовой среды различной интенсивности вызывает взаимосвязанные изменения биохимических процессов головного мозга и поведенческих реакций животных. Наблюдаемые изменения показателей УРД на первом этапе эксперимента (7—10-е сутки) свидетельствовали об ухудшении обучения крыс, выражающемся снижением числа выработанных условных реакций к общему числу сочетаний условного и безусловного раздражителей, удлинением латентных периодов реакции избегания, что, на наш взгляд, является следствием преобладания тормозных процессов ЦНС. В настоящее время известно, что тормозной эффект в ЦНС обеспечивается координацией ГАМК-эргической и других тормозных систем головного мозга [4—6, 9]. Биохимический анализ содержания ГАМК и Глу показал его снижение в исследуемых структурах мозга, что, вероятнее всего, отражает активизацию ГАМК-эргической системы, обеспечивающей ускоренную утилизацию Глу и ГАМК и, в связи с этим, улучшающей адаптационные возможности ЦНС. Причем эти изменения содержания аминокислот в исследуемых структурах мозга во всех судовых экспериментальных группах согласовывались с ухудшением показателей УРД. При этом следует отметить, что изменения поведенческих реакций у животных группы СК были менее выраженными, чем у животных группы ШВ. Несомненно, эти различия поведенческих реакций животных являются следствием интегральной реакции организма на стресс-фактор большей биологической силы, когда требуются более значительные энергетические затраты, направленные на профилактику стрессорных факторов при реализации защитных тормозных эффектов не только со стороны ГАМК-эргической системы, но и дофамин-, серотонинергической и ряда других тормозных систем головного мозга. Согласно Селье [10], реакция на стрессорный раздражитель протекает стадийно и характеризуется определенным комплексом изменений нейроэндокринной системы, оказывая влияние на неспецифическую резистентность, обмен веществ. Причем переход из стадии тревоги в стадию резистентности, по Гаркави и соавт. [1], связывают с развитием запредельного торможения. В связи с этим наблюдаемые нами тормозные процессы ЦНС экспериментальных животных, находящихся под воздействием шумо-вибрационным фактором судовой среды, на первом этапе эксперимента следует рассматривать как естественную защитную реакцию организма на стрессорное воздействие изучаемых

факторов, реализованную через тормозные системы мозга. Основной биологический смысл этой реакции — снижение чувствительности ЦНС к воздействиям неблагоприятным фактором и, тем самым, повышение резистентности организма. При этом в ГАМК-эргической системе процессы катаболизма преобладали над анаболизмом, что свидетельствует о значительных энергетических затратах ЦНС, а также о том, что выход на уровень резистентности в этих условиях достается для организма «дорогой ценой». В то же время следует отметить, что полученное соотношение ЛФ/СН можно характеризовать как активацию нейроэндокринной системы во всех судовых экспериментальных группах.

Вышеизложенные изменения органов и систем животных наблюдались и на втором этапе опыта (30—35-е сутки). Характерной особенностью заключительного этапа эксперимента явилось дальнейшее ухудшение латентного периода реакции избегания у животных группы СК и достоверное снижение его у животных группы ШВ при сниженном содержании Глу и нормализации содержания ГАМК.

Расчет соотношения Глу/ГАМК для первого и второго этапов эксперимента во всех опытных группах животных и сопоставление его с латентным периодом реакции избегания позволил выявить отрицательную корреляцию между изученными показателями ($r = -0,78$; $P < 0,05$), что, на наш взгляд, позволяет использовать данное соотношение как один из критериев оценки напряжения компенсаторно-приспособительных процессов ЦНС на различных стадиях адаптивных реакций.

Полученные результаты могут быть использованы при изучении биологического действия шумо-вибрационного фактора судовой среды обитания, а также в качестве исходных предпосылок для профилактики стрессорных факторов коррекцией состояния организма с применением стресс-протекторных препаратов ГАМК-эргического ряда.

Выводы

1. Шумо-вибрационный фактор (шум от 60 до 110 дБ (А), вибрация от 62 до 84 дБ по виброускорению) при семисуточной и месячной экспозиции крыс в условиях судовой среды вызывает достоверное снижение содержания ГАМК и Глу в коре мозга, мозжечке, стволовом отделе и ухудшение показателей УРД животных.

2. Выраженность изменений биохимических и поведенческих показателей, характеризующих напряжение компенсаторно-приспособительных реакций ЦНС, была больше у животных группы ШВ, подвергавшихся шуму и вибрации 110 дБ (А) и 84 дБ (по виброускорению) соответственно.

3. Во всех опытных группах животных установлена отрицательная коррекция между отношением Глу/ГАМК и латентным периодом реакции избегания при использовании безусловного электрооборонительного подкрепления.

CONTENT OF GABA AND GLUTAMIC ACID IN THE RAT BRAIN AS AFFECTED BY NOISE-VIBRATION FACTOR UNDER SHIP CONDITIONS

A. P. Stoyanov, O. Yu. Netudykhatka, S. V. Alekseev,
R. A. Grigoryan, V. A. Rozanov, V. N. Evstafiev

The influence of different levels of noise and vibration on the content of GABA and glutamic acid in the brain and on behavioural characteristics of rats have been studied on 60 white rats under voyage conditions. A correlation is determined between biochemical and physiological reactions of the central nervous system in animals and duration and level of the influence of the studied factors.

Institute of Hygiene of Water Transport,
Ministry of Public Health of the USSR, Odessa