

В. В. Варецький<sup>1,\*</sup>, О. Г. Ракочі<sup>1</sup>, М. В. Шелковський<sup>1</sup>,  
Є. В. Тукаленко<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Державна установа “Національний науковий центр радіаційної медицини  
Національної академії медичних наук України”,  
бул. Мельникова, 53, м. Київ, 04050, Україна

<sup>2</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка, м. Київ

## ЗАЛЕЖНІСТЬ РЕАКЦІЙ ВИЩОЇ НЕРВОВОЇ ДІЯЛЬНОСТІ ЩУРІВ НА СТРЕС ВІД ДОЗИ ПОПЕРЕДНЬОГО $\gamma$ -ОПРОМІНЕННЯ

Дослідження змін поведінкових реакцій (човникова та скінерівська камери) у одноразово тотально гамма-опромінених і неопромінених щурів, які зазнали стресування (фут-шок), показали наступне: реакції на стресування показників умовнорефлексторної поведінки в цілому характеризуються безпосереднім стимуляційним ефектом, який в період після стресування може змінюватися пригніченням. Виявлені у опромінених щурів зміни реакції на стресування нелінійно залежать від дози переднього опромінення — незначне посилення при дозі в 0,5 Гр, вірогідне збільшення при 1,0 Гр, незначне зниження при 3,0 Гр і вірогідне зниження (до рівня в контролі) при 6,0 Гр. За результатами регресійного аналізу при рівнях опромінення в дозах 1,0, 3,0 і 6,0 Гр між впливом опромінення та не-радіаційного стресу знайдена вірогідна взаємодія.

**Ключові слова:** іонізувальне випромінення, стрес, поведінкові реакції щурів.

Відомо, що як у разі опромінення, що сталося за аварійних ситуацій, так і в інших випадках, його вплив на організм і, зокрема на центральну нервову систему, найчастіше поєднується з дією низки різних стресорних чинників. Такий комбінований вплив призводить до певної невизначеності кінцевого ефекту, що яскраво проявилося у 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 не-радіаційних чинників та взаємодії їхніх впливів за даними дозиметрії

\* Варецький В'ячеслав, Васильович, e-mail: starovyach@ukr.net

© Варецький В. В., Ракочі О. Г., Шелковський М. В., Тукаленко Є. В., 2012

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. В раніше проведених дослідженнях нами вивчалася залежність реакцій показників умовнорефлекторної поведінки щурів на нерадіаційний стрес (футшок) від рівня попереднього опромінення при дозах 0,5 та 1,0 Гр [2]. В даній публікації представлені 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  $\gamma$ -опромінення в нелетальному діапазоні доз.

**Матеріали і методи дослідження.** Одним з основних і найпоширеніших методів вивчення стану вищої нервової діяльності (ВНД) лабораторних тварин є вивчення змін їх поведінки. В наших дослідженнях для цього було використано човникову камеру (поведінка активного уникання — негативне підкріplення), скінерівська камера (позитивне підкріplення) [3]. В цілому, застосування цих методик давало змогу різnobічної оцінки функціонального стану ВНД. Деталі, щодо застосування цих методик описані нами раніше [2].

Дослідження проведені 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, врівноважені за рівнем одержаних показників групи: контроль; стресування, опромінення (0,5, 1,0, 3,0 та 6,0 Гр — по групі на кожну дозу), комбінація попереднього опромінення у вказаних дозах із стресуванням — по групі на кожну дозу. Після цього тварин відповідних груп одноразово тотально опромінювали і далі проводили їх регулярне тестування у човниковій камері. Емоційно-боловий стрес (електричний струм — фут-шок) завжди безпосередньо передував тестуванню. Протокол дослідження (як для човникової, так і скінерівської камер) передбачав 4 стресування тривалістю 10 хв, два тестування без такого впливу, 4 стресування тривалістю 20 хв і знову два тестування без попереднього фут-шоку. Всього після опромінення проводили по 12 тестувань (3 тестування за два тижні), а загальна тривалість дослідження разом з реєстрацією фонових даних становила понад два місяці. Стресорний вплив реалізовували у пристрої, в якому тварини зазнавали впливу ударів електричного струму, яких не могли уникнути. Використано скануючий стабілізований постійний електричний

струм, що подавався на гратчасту підлогу та стінки (0,8 мА; тривалість сканування 8 суміжних електродів становила 75 мс).

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

**Результати та їх обговорення.** Оцінка впливу емоційно-болового стресу на функціональний стан вищої нервоової діяльності неопромінених щурів показала, порівняно з контролем, підвищення рівня умовнорефлексторної поведінки, що узгоджувалося з раніше одержаними даними [2, 4]. Так, приміром, за узагальнених за всі серії досліджень даними кількість умовнорефлексторних реакцій (УР) 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 в скінерівській камері. На відміну від безпосередньої реакції на стресування, відсторочена реакція характеризувалася ознаками певного пригнічення умовнорефлексторної поведінки.

Слід однак відзначити значну варіабельність реакції на стресування. При цьому той чи інший характер реакцій для певних тварин залишався сталим впродовж всіх проведених тестувань. Ці спостереження узгоджуються з даними літератури про індивідуальний характер реакції організму на стресовий вплив [5].

Порівняння реакцій на стресування у опромінених нестресованих та опромінених в тій самій дозі щурів, що піддавалися стресуванню, показало модифікацію реакції, характер якої залежав від дози попереднього опромінення. Виявлено, що у разі доз в 0,5 та, особливо, 1,0 Гр реакція на стресування зростає. З іншого боку, при дозах в 3,0 та 6,0 Гр реакція на стресування 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 в 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 можливість 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

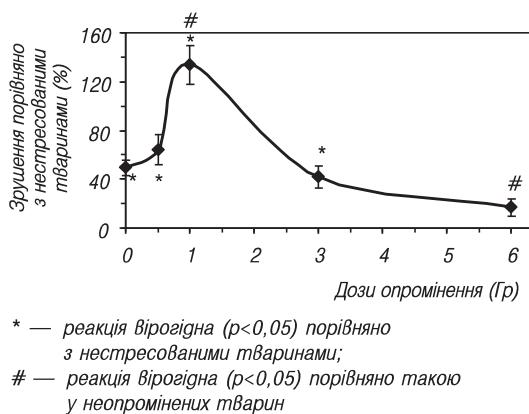
для всіх показників умовнорефлекторної поведінки, був аналогічним. Для прикладу на рис. 1 відображені дані для одного показника кількості УР за перші 25 спроб тестування (цей показник виявився найбільш чутливим до впливу стресу). Реакція на стресування подається як різниця рівня показника у стресованих та нестресованих тварин у відсотках. Рівень зрушень показників у нестресованих щурів прийнято за нуль.

Як видно з представленого рисунка залежність реакції на стресування від дози попереднього опромінення має чітко нелінійний характер: незначне підвищення при дозі в 0,5 Гр, вірогідне зростання у разі 1,0 Гр, практична відсутність реакції при 3,0 Гр і вірогідне її зниження у випадку 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 спільноти ланки механізмів реалізації відповідних біологічних ефектів. Значення коефіцієнтів взаємодії одержували за допомогою регресійного аналізу. Для показника УР, що розглядався вище, вираховані 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 в 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 у разі менших доз і зменшання у випадку їхнього збільшення. Такою

ланкою ймовірно може бути активізація вільно-радикальних процесів, що спостерігається не тільки у разі впливу іонізувальної 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 стресування. При відносно малих дозах сумарний ефект дії опромінення і



**Рис. 1.** Залежність реакції на стресування від дози попереднього опромінення щурів

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 в цьому експерименті доз на людину (при всій обмеженості і неоднозначності безпосередньої екстраполяції), приміром за відомими значеннями LD<sub>50</sub>, дає рівні в 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, якого здебільшого зазнали учасники ліквідації наслідків 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 стресування (фут-шок) в цілому характеризуються вірогідним підвищеннем їх рівня, що в період після стресування може змінюватися пригніченням функції вищої нервової діяльності.

2. Як безпосередні, так і відсточені умовнорефлекторні реакції у стресованих і попередньо опромінених в дозі 1,0 Гр щурів перевищують такі у неопромінених тварин. При дозах в 3,0 та 6,0 Гр спостерігається зниження рівня реакції на стресування. Залежність реакцій вищої нервової діяльності щурів на нерадіаційний стрес від рівня попереднього  $\gamma$ -опромінення є нелінійною.

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

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Логановський К. М. Дискусійні питання щодо ролі іонізуючого випромінювання і стресу в генезі нейропсихіатричних наслідків Чорнобильської катастрофи / К. М. Логановський // Журн. АМН України. — 2006. — Т. 12, № 1. — С. 185—195.
- Вища нервова діяльність експериментальних тварин за умов впливу іонізуючого випромінювання / В. В. Варецький, О. Г. Ракочі, Є. В. Тукаленко [та ін.] // Медичні наслідки Чорнобильської катастрофи: 1986—2011: монографія /за ред. А. М. Сердюка, В. Г. Бебешка, Д. А. Базики. — Тернопіль: ТДМУ ; Укрмедкнига, 2011. — С. 958—981.
- Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. П. Хьюстон. — М. : Высш. школа, 1991. — 400 с.
- Залежність змін вищої нервової діяльності щурів від рівня стресового навантаження нерадіаційної природи у порівнянні з залежністю від дози  $\gamma$ -опромінення / В. В. Варецький, О. Г. Ракочі, Є. В. Тукаленко [та ін.] // Проблеми радіаційної медицини та радіобіології : зб. наук. праць. — К. : ДІА, 2010. — Вип. 15. — С. 192—196.

5. Individual reactivity to the open-field predicts the expression of stress-induced behavioural and somatic pain sensitisation / G. J. Geerse, L. C. van Gurp, V. M. Wiegant, R. Stam // Behav. Brain Res. — 2006. — Vol. 174, N 1. — P. 112–118.
6. Adaptogenic effect of Morus alba on chronic footshock-induced stress in rats / S. Nade Vandana, L. A. Kawale, R. A. Naik, A. V. Yadav // Indian J. Pharmacol. — 2009. — Vol. 41, No 6. — P. 246–251.

Стаття надійшла до редакції 18.05.2012.

*B. B. Варецкий<sup>1</sup>, А. Г. Ракочи<sup>1</sup>, Н. В. Шелковский<sup>1</sup>, Е. В. Тукаленко<sup>1,2</sup>*

*<sup>1</sup>Государственное учреждение “Национальный научный центр радиационной медицины Национальной академии медицинских наук Украины”,  
53, ул. Мельникова, г. Киев, 04050*

*<sup>2</sup>Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, г. Киев*

## **ЗАВИСИМОСТЬ РЕАКЦІЙ ВЫШЕЙ НЕРВНОЇ ДЕЯТЕЛЬНОСТІ КРЫС НА СТРЕСС ОТ ДОЗЫ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОГО $\gamma$ -ОБЛУЧЕНІЯ**

Исследования изменений поведенческих реакций (челночная и скиннеровская камеры) у однократно totally гамма-облученных и необлученных крыс, подвергшихся стрессированию (фут-шок), показали следующее. Реакции на стрессирование показателей условнорефлекторного поведения в целом характеризуются непосредственным стимуляционным эффектом, который в период после стрессирования может сменяться угнетением. Выявленные у облученных крыс изменения реакции на стрессирование 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 при уровнях облучения в дозах в 1,0, 3,0 и 6,0 Гр между воздействием облучения и нерадиационного стресса найдено достоверное взаимодействие.

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

*V. Varetsky<sup>1</sup>, O. Rakochi<sup>1</sup>, M. Shelkovsky<sup>1</sup>, E. Tukalenko<sup>1,2</sup>*

*<sup>1</sup>State Institution “National Research Center for Radiation Medicine  
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”,  
53, Melnykov str., Kyiv, 04050*

*<sup>2</sup>Kyiv Taras Shevchenko National University, Kyiv*

## **DEPENDENCE OF RATS' HIGHER NERVOUS ACTIVITY RESPONSE TO STRESS UPON THE DOSE OF PRELIMINARY EXPOSURE TO $\gamma$ -RADIATION**

Studies of active avoidance behavioral reactions (shuttle and Skinner chambers) changes in totally gamma-exposed and non-exposed rats subjected to stress (foot-shock), showed the following. Indices of conditioned response to stress are generally characterized by direct rise of activity, which later after stressing could be followed by inhibition. Changes of response to the stress in exposed rats nonlinearly depend on the dose of the preliminary exposure: insignificant increase at the dose of .5 Gy, significant increase at 1.0 Gy, insignificant decrease at 3.0 Gy, and significant decrease (to the control level) at 6.0 Gy. Regression analysis showed significant interaction between impact of exposure at the doses of 1.0, 3.0, and 6.0 Gy and non-radiation stress.

**Key words:** ionizing radiation, stress, rats' behavior.