

ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 57.043+591.512.16

**ВЛИЯНИЕ АКУСТИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ
ВЫСОКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС**

Д.С. Бережной, Н.А. Киселёв*, А.В. Новоселецкая, Н.М. Киселёва*, А.Н. Иноземцев

(кафедра высшей нервной деятельности; e-mail: berezhnoy.daniil@gmail.com)

Исследовано влияние на крыс сильных (110 дБ) акустических воздействий в слышимом и инфразвуковом диапазоне. С помощью классических поведенческих тестов (“открытое поле”, “норковая камера”, “челночная камера” и “темно-светлая камера”) анализировали поведение животных во время 5-минутного акустического воздействия. Наблюдались достоверные изменения в характере двигательной активности и проявлении груминга в ответ как на звук в слышимом диапазоне, так и на инфразвук, которые могут быть охарактеризованы как реакция избегания.

Ключевые слова: звуковой стресс, инфразвуковые воздействия, открытое поле, норковая камера, темно-светлая камера, реакция активного избегания.

В настоящее время адаптация к критическим факторам среды составляет важную проблему медицины, а в связи с болезнями стресса, сопутствующими техническому прогрессу, интерес к проблеме существенно возрос. К таким факторам относятся сильные, неожиданные и непривычные для организма акустические раздражители, поскольку они могут вызывать помимо специфических акустических эффектов клинические проявления стресса и даже летальный исход у животных и человека [1, 2]. К настоящему времени накоплено много клинических и экспериментальных данных как о специфическом влиянии акустических колебаний на орган слуха, так и о неспецифических экстраауральных влияниях на многие системы организма, вызывающих патологические изменения в центральной нервной системе, дыхательной и сердечно-сосудистой системах, иммунной системе, во внутренних органах и в периферической крови [3–5].

Следует отметить, что в основном целью этих исследований было изучение влияния на организм человека и животных акустических колебаний как чисто физического фактора. Возможно, с этим связан и выбор в большинстве современных работ в качестве стрессоров длительных повторяющихся акустических воздействий [6, 7]. Однако при изучении подобного влияния на человека и животных необходимо различать реакции на акустические раздражители, определяемые их физической природой, т.е. раздражители как таковые, и реакции, вытекающие из их информативной, сигнальной значимости, имеющие психологическое измерение, обусловленное отношением живого организма к шуму и собственной способностью противостоять ему. Сильные и неожиданные раздра-

жители могут восприниматься как сигнал опасности. В этом случае возникает конфликтная ситуация между потребностью избавиться от раздражителя и невозможностью осуществить это (при длительном неконтролируемом воздействии). Конфликтные ситуации, как известно, сами способны вызывать тревогу, стресс, депрессию, что нарушает адекватное поведение, расстраивает когнитивные и мнестические процессы.

Целью данного исследования было сопоставление влияния слышимых и инфразвуковых воздействий на организм экспериментальных животных с точки зрения их сигнальной значимости.

Объекты и методы

В работе исследовали влияние акустических воздействий с уровнем звукового давления от 100 дБ до 110 дБ различного частотного спектра на поведение белых беспородных крыс ($n = 44$). Основываясь на литературных данных о звуковой чувствительности экспериментальных животных [8], были выбраны следующие диапазоны частот: слышимый звук (воздействие “белого шума” или чистого тона 800 Гц) и инфразвук (воздействие чистых тонов 6, 10 и 13 Гц). Животных разделили на три группы в соответствии с предъявляемыми воздействиями: контрольная группа ($n = 19$), воздействие инфразвука ($n = 15$) и воздействие звука ($n = 10$). Животные содержались в условиях вивария при 12-часовом световом дне, низком уровне шума и свободном доступе к воде и пище. Раз в день все группы тестировались в одной из стандартных поведенческих методик.

* ГБОУ, ВПО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва.

Основные поведенческие показатели в тестах “открытое поле” и “челночная камера”

Тест	Показатели	Контроль	Звук	Инфразвук
Открытое поле	Д.А.	59,5 ± 6,4	<u>41,6 ± 4,7</u> * <i>p</i> = 0,03	56,1 ± 4,0
	В.А.	11,8 ± 2,2	14,0 ± 1,8	13,9 ± 1,6
	Груминг (с)	18,3 ± 5,9	<u>112,6 ± 16,0</u> * <i>p</i> = 0,0001	15,7 ± 7,7
	Остановки (с)	51,3 ± 17,8	<u>1,2 ± 1,3</u> * <i>p</i> = 0,004	<u>1,2 ± 0,9</u> * <i>p</i> = 0,001
Челночная камера	Д.А.	6,9 ± 0,9	7,9 ± 0,9	7,8 ± 0,7
	В.А.	14,1 ± 1,5	18,3 ± 1,7	12,5 ± 1,2
	Груминг (с)	34,6 ± 8,8	<u>78,4 ± 15,7</u> * <i>p</i> = 0,01	44,5 ± 9,4
	Остановки (с)	33,4 ± 11,3	<u>1 ± 1,1</u> * <i>p</i> = 0,005	<u>7,3 ± 3,9</u> * <i>p</i> = 0,04

Достоверные отличия от контрольной группы выделены подчеркиванием соответствующих значений с указанием уровня значимости. Используемые сокращения: Д.А. — двигательная активность, В.А. — вертикальная активность.

Поведение крыс исследовали в тестах “открытое поле”, “темно-светлая камера”, а также в челночной камере в течение 5 мин. Акустическое воздействие продолжалось все время тестирования. Кроме того, использовался тест “норковая камера”, в которую животных помещали дважды. Первый раз на 5 мин без воздействия для предварительного ознакомления. При повторном попадании в норковую камеру животные подвергались пятиминутному акустическому воздействию, на фоне и 5 мин после которого оценивался поведенческий эффект.

Регистрировали общую двигательную активность по количеству пересеченных квадратов или числу переходов между отсеками челночной камеры. Дополнительно регистрировали число стоек и заглядываний в норки, а также время остановок и груминга. Анализировалось распределение активности животных по экспериментальной среде: выход в центральную зону в открытом поле и норковой камере, количество времени в разных частях светло-темной камеры и латентный период захода в темный отсек.

Обработка данных проводилась с помощью программ Microsoft Excel 2003 и MATLAB R2010a. Все значения в работе приведены в форме средней ± ошибка среднего. Для сопоставления перечисленных параметров использовался ранговый тест Манна—Уитни, а также коэффициент корреляции Пирсона.

Результаты

Анализ поведения в открытом поле и челночной камере показал, что наличие акустического воздействия, как воспринимаемого, так и инфразвукового диапазона оказывало значимое влияние на активность животных (таблица). Оба воздействия приводили к резкому снижению времени остановок по сравнению с контрольной группой, что может быть охарактеризовано как увеличение подвижности. При этом распределение активности по зонам открытого поля, как в контроле, так и при воздействии оставалось неизменным с преобладанием пристеночных движений.

Суммарная двигательная активность при воздействии слышимого звука в открытом поле была достоверно снижена по сравнению с контролем, что обусловлено длительными проявлениями груминга (табл. 1). Таким образом, наблюдается двойной эффект: общее для обоих воздействий изменение характера движения за счет исчезновения остановок и свойственное только для слышимого звука смещение активности в сторону груминга.

В использованной модификации теста “норковая камера” исходное поведение у контрольной и опытных групп достоверно не отличается (рис. 1). Привле-

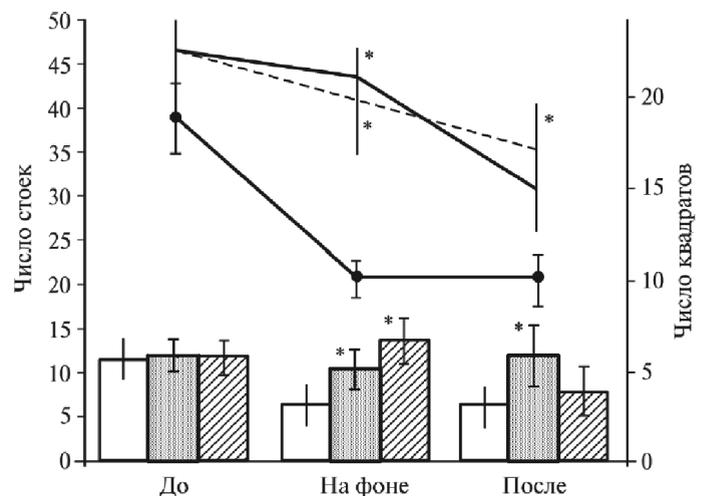


Рис. 1. Уровень горизонтальной и вертикальной двигательной активности в тесте “норковая камера”.

По оси абсцисс отмечены три последовательных измерения: до акустического воздействия, на фоне и после. У контрольной группы, не получавшей воздействия, даны значения в начале, в середине и в конце теста. Столбцы отображают вертикальную активность животных и соответствуют левой оси ординат. Белые столбцы — контрольная группа, темная штриховка — под воздействием звука, светлая штриховка — под воздействием инфразвука. Графики отображают горизонтальную активность и соответствуют правой оси ординат. Черные маркеры — контроль, пунктирная линия — активность под воздействием звука, серая линия — под воздействием инфразвука. Звездочками (*) отмечены достоверные отличия от соответствующих контрольных значений с уровнем значимости **p* < 0,05

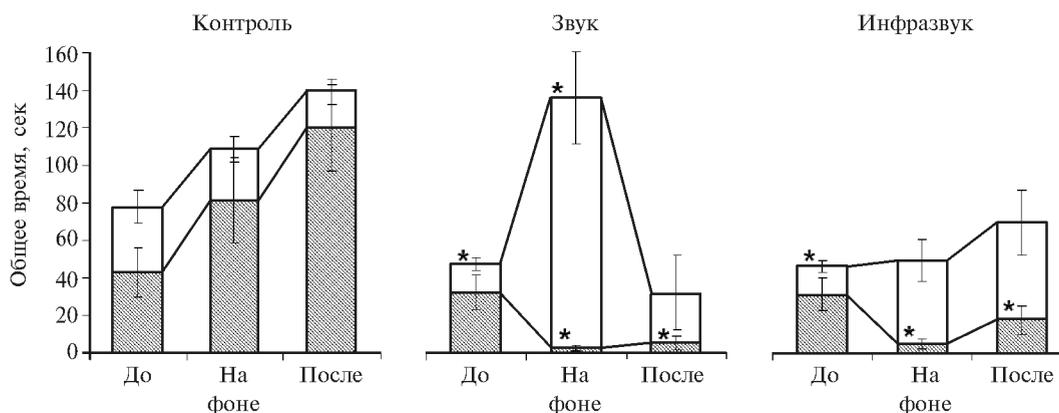


Рис. 2. Длительность реакций груминга и остановок в тесте “норковая камера”. Столбцы отображают суммарную длительность всех реакций. Заштрихованная область — общая длительность остановок, область без штриховки — груминг. Остальные обозначения как на рис. 1

кают внимание не абсолютные значения поведенческих показателей, а различие в их динамике при акустических воздействиях. У контрольных животных, не подвергавшихся никакому воздействию кроме новых условий среды, при повторном помещении в установку наблюдалась классическая реакция привыкания к экспериментальной установке, которая выразилась в достоверном снижении как горизонтальной (рис. 1; $p = 0,003$), так и вертикальной двигательной активности (рис. 1; $p = 0,03$). Снижение активности у контрольных животных сопровождалось увеличением времени остановок (рис. 2; $p = 0,006$), которое в данном контексте также говорит о привыкании.

На фоне акустических воздействий привыкания к экспериментальной установке не происходило. Напротив, при действии инфразвука вертикальная активность (рис. 1), а также норковая активность повышается ($13,4 \pm 1,5$ против контрольного значения $10,0 \pm 1,5$; $p = 0,01$). Горизонтальная активность была статистически значимо выше контрольных значений у обеих экспериментальных групп. Для инфразвука этот эффект оказывается приурочен к самому моменту действия раздражителя, в то время как для слышимого звука двигательная активность остается достоверно выше и после выключения, т.е. существует определенный период последствия (рис. 1). Вместе с увеличением двигательной активности на фоне акустического воздействия изменяется и ее пространственное распределение: опытные животные чаще пересекают центральный отсек камеры (на фоне звука $2,2 \pm 0,5$ раз; $p = 0,01$; на фоне инфразвука $3,9 \pm 0,5$; $p = 0,0001$). Анализ реакций груминга и остановок в тесте “норковая камера” показал соответствие с результатами, полученными в предыдущих тестах у экспериментальных групп. Наиболее выраженным оказывается изменение характера движений — время остановок у животных значительно сокращается как во время воздействия, так и после него, что особенно контрастирует

с реакцией привыкания в контрольной группе животных (рис. 2). На фоне воздействия слышимого звука резко увеличивается время груминга, притом что исходные показатели для экспериментальной группы даже ниже, чем у контрольных животных. Все перечисленные эффекты говорят об активации, сопровождающей акустическое воздействие и препятствующей проявлению реакции привыкания. Наблюдаемая активация свидетельствует о биологической значимости для крыс как слышимого звука, так и инфразвукового воздействия, но исходя из степени выраженности груминга и периода последствия от звука можно предположить различное воздействие на животных.

При анализе классических параметров, используемых для характеристики тревожности, результаты теста “темно-светлая камера” оказываются менее показательными. Характер распределения активности животных по отсекам во всех группах был схожим (84% времени в темной камере у контрольных животных). Различий не показал и латентный период захода в темный отсек, стандартно используемый для оценки уровня тревоги и страха. Такой негативный

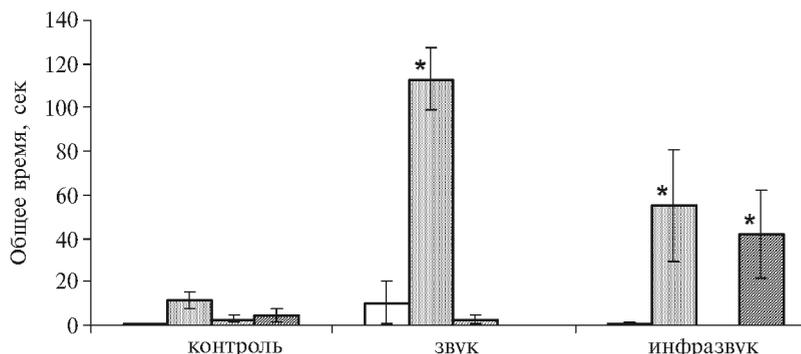


Рис. 3. Длительность реакций груминга и остановок в темно-светлой камере. Столбцы отображают суммарную длительность всех реакций у трех групп животных в разных отсеках темно-светлой камеры. Незаштрихованные столбцы — груминг в светлом отсеке; столбцы с точками — груминг в темном отсеке; светлая штриховка — остановки в светлом отсеке; темная штриховка — остановки в темном отсеке. Звездочками (*) отмечены достоверные отличия от соответствующих контрольных значений с уровнем значимости $*p < 0,05$

результат, вероятно, обусловлен сильной выраженностью реакции избегания света в норме, которая обеспечивала низкие значения латентного периода ($5,2 \pm 0,6$ с в контроле) и соответственно малую возможность для разброса значений. Эффект акустических воздействий выявляется в данном тесте по активности животных в темном отсеке (рис. 3). При воздействии слышимого звука у животных значительно возрастает время груминга в темной половине камеры (50% времени в темном отсеке — груминг), а при воздействии инфразвука — время груминга и остановок (23% времени в темном отсеке — груминг, 17% — остановки). У контрольной группы эти реакции фактически отсутствуют.

Эффект акустических воздействий, выявленный в данном тесте, можно охарактеризовать как неспецифический, проявлявшийся также и в других ситуациях. Представляет интерес то, что однонаправленный для обоих воздействий эффект выявился лишь в темно-светлой камере.

Обсуждение

Воздействие громкого звука в настоящее время является одной из признанных моделей индукции стрессового состояния у лабораторных животных [9]. Однако звуковые воздействия, как правило, выбираются только в слышимом для крыс диапазоне. Результаты данного исследования позволяют сопоставить стрессогенный эффект воздействий инфразвукового и слышимого спектра. Исследование обоих акустических воздействий как в моделях ориентировочно-исследовательского поведения, так и в модели привыкания в норковой камере, выявило их значимость для крыс. Для того чтобы охарактеризовать биологическое значение наблюдавшегося в данном исследовании поведения в условиях разных моделей, необходимо выделить его принципиальные компоненты. Эффекты, выявленные в исследовании, можно разделить на две категории: увеличение подвижности и увеличение выраженности груминга.

К настоящему моменту увеличение подвижности экспериментальных животных рассматривается в рамках двухфакторной теории. Так Маркель [10] связывает двигательную активность в открытом поле у грызунов как с реакцией активного избегания, так и с ориентировочно-исследовательской реакцией. Ранее полученные в лаборатории данные [11, 12] позволяют нам охарактеризовать увеличенную активность животных в данном случае как близкую к реакции активного избегания. Тем более интересен такой эффект для инфразвуковых воздействий, являющихся экстрааруальными, т.е. напрямую не воспринимаемыми экспериментальными животными.

Груминг, как правило, в экспериментальных исследованиях используется в качестве маркера смещенной активности, стрессового состояния [13]. В нашем исследовании его проявление совпадало (коэффициент корреляции в тесте “норковая камера” 0,66)

с увеличением подвижности под воздействием слышимого звука, что подкрепляет наше предположение о стрессовой обусловленности поведения. Для инфразвука связь не так однозначна, поэтому активация в открытом поле и норковой камере остается не до конца ясной. В то же время в пользу стрессогенного эффекта инфразвука свидетельствует его влияние на выраженность груминга в темно-светлой камере.

Эффект инфразвука, по-разному проявившийся в разных средах, ставит в данном исследовании вопрос о специфичности проявления реакции страха в зависимости от среды. Все использованные в исследовании тесты можно разделить по структуре экспериментального пространства на установки с изоморфной средой (где отсутствует возможность укрыться от влияния негативных факторов) и установки с неоднородным пространством (существуют области, соответствующие биологическим предпочтениям экспериментальных животных). К установкам первого типа можно отнести открытое поле и челночную камеру. В то же время в темно-светлой камере животные могут реализовать свое стремление спрятаться в темном отсеке, а в норковой камере присутствуют отверстия, ведущие в затемненную область под полом.

Предложенная классификация позволяет выявить общую закономерность в полученных данных. Так, именно в темно-светлой камере поведенческий эффект акустических воздействий отличался от сред изоморфного типа, особенно для инфразвука: вместо активации наблюдалось пассивное поведение в темной камере с переходом к длительному грумингу. Норковая камера не позволяла животным полностью укрыться в затемненном пространстве, но о наличии подобных попыток можно косвенно судить по увеличению норковой активности. Таким образом, выявлено две противоположные тенденции для проявления избегания, зависящие от используемой среды. В условиях, в которых отсутствуют укрытия, повышение возбудимости, вызванное акустическим воздействием, приводит к увеличению генерализованной двигательной активности (выражается в исчезновении остановок, пересечения центра арены), которая в целом соответствует реакции активного избегания. Стоит отметить, что эта активность может принять несвойственную в норме форму поведения в виде пересечения наиболее опасного открытого пространства (центральной площадки). В установках, в которых возможно полное или частичное укрытие, поведение направлено на переход в укрытие, после чего наиболее выраженным становится пассивный компонент, проявляющийся через длительные остановки и груминг.

Выводы

1. Использованные акустические воздействия, как в звуковом, так и в инфразвуковом диапазоне, биологически значимы для крыс. Вызываемый ими эффект можно охарактеризовать как близкий к реакции активного избегания.

2. Проявление реакции животных на акустическое воздействие зависит от структуры внешней среды,

в частности определяется наличием в ней укрытий, позволяющих реализовать инстинктивные предпочтения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Кривицкая Г.Н.* Действие сильного звука на мозг. М.: Медицина, 1964. 159 с.
2. *Руденко Л.П.* Случай летального исхода при действии сильного акустического раздражителя на собаку // Журн. высш. нервн. деят. 1965. Т. 15. № 1. С. 105—108.
3. *Андреева-Галанина Е.Ц., Алексеев С.В., Кадыкина А.В.* Шум и шумовая болезнь. Л.: Медицина, 1972. 302 с.
4. *Алексеев С.В., Шкаринов Л.Н., Янушанец О.И.* Акустические колебания и современность. Действие на организм и профилактика // Вестн. РАМН. 1992. № 1. С. 22—29.
5. *Westman J.C., Walters J.R.* Noise and stress: a comprehensive approach // Environ. Health Perspect. 1981. Vol. 41. P. 291—309.
6. *Burow A., Day H.E.W., Campeau S.* A detailed characterization of loud noise stress: Intensity analysis of hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis and brain activation // Brain Res. 2005. Vol. 1062. N 1—2. P. 63—73.
7. *Naqvi F., Haider S., Batoool Z., Perveen T., Haleem D.J.* Sub-chronic exposure to noise affects locomotor activity and produces anxiogenic and depressive like behavior in rats // Pharmacol. Rep. 2012. Vol. 64. N 1. P. 64—69.
8. *Heffner H.E., Heffner R.S.* Hearing ranges of laboratory animals // J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci. 2007. Vol. 46. N 1. P. 21—23.
9. *Patchev V.K., Patchev A.V.* Experimental models of stress // Dialogues Clin. Neurosci. 2006. Vol. 8. N 4. P. 417—432.
10. *Маркель А.Л.* К оценке основных характеристик в тесте “открытого поля” // Журн. высш. нервн. деят. 1981. Т. 31. № 2. С. 301—306.
11. *Иноземцев А.Н., Целкова Н.В., Бернуй Л.Х., Жужиков Д.П., Тушмалова Н.А.* Поведение тараканов *Nauphoeta cinerea* в “открытом поле” и влияние на него пирасетама // Журн. высш. нервн. деят. 1998. Т. 48. № 2. С. 260—266.
12. *Иноземцев А.Н., Непомнящих В.А.* Привыкание личинок ручейников *Chaetopteryx villosa* Fabr. к вибрационному раздражителю и влияние на него пирасетама // Журн. эволюц. биохим. и физиол. 2008. Т. 44. № 2. С. 168—172.
13. *Pires G.N., Tufik S., Andersen M.X.* Grooming analysis algorithm: use in the relationship between sleep deprivation and anxiety-like behavior // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. 2013. Vol. 41. P. 6—10.

Поступила в редакцию
10.03.13

THE INFLUENCE OF HIGH-INTENSITY SOUND VIBRATION ON THE RATS' BEHAVIOR

D.C. Berezhnoy, N.A. Kicelev, A.V. Novoceletskaia, N.M. Kiceleva, A.N. Inozemtsev

The influence of high-intensity (110 dB) sound vibrations on experimental rats was studied on the behavior level. Classical behavioral tests (open field, hole-board, light/dark box) were used to examine behavioral changes during 5 min acoustic impact of either audible or infrasound spectrum. Statistically-significant changes in locomotor activity and grooming reactions were observed, following either aural or infrasound impact. The set of observed effects could be classified as active avoidance reaction.

Key words: *noise stress, infrasound impact, open field, hole-board, light/dark box, active, avoidance reaction.*

Сведения об авторах

Бережной Даниил Сергеевич — вед. инженер кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ. Тел.: 8-905-734-67-59; e-mail: berezhnoy.daniil@gmail.com

Киселёв Николай Алексеевич — студент педиатрического факультета отделения ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. Тел.: 8-916-081-27-03; e-mail: gidrant93@yandex.ru

Новоселецкая Анна Владимировна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ. Тел.: 8-916-570-77-76; e-mail: neuron1211@rambler.ru

Киселёва Нина Михайловна — канд. мед. наук, доц. каф. фармакологии педиатрического факультета ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. Тел.: 8-916-303-53-39; e-mail: kiseleva.67@mail.ru

Иноземцев Анатолий Николаевич — докт. биол. наук, вед. сотр. кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ. Тел.: 8-916-834-54-71; e-mail: A_Inozemtsev@mail.ru