

УДК 612.821.6+014.462

ФИЗИОЛОГИЯ

Г. Е. Григорян, А. М. Стольберг

Действие осмотического стресса, вызванного
маннитом, на обучение и память крыс

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР О. Г. Баклаваджяном 12/VIII 1986)

Достижения молекулярно-клеточной биологии могут быть использованы для выяснения механизмов действия различных факторов внешней среды на целостный организм. Однако прямая имитация эффекта, полученного на уровне клетки, может быть затруднена на уровне организма вовлечением в реакцию целого ряда дополнительных органов и систем. Поэтому использование данных молекулярно-клеточного анализа вызывает необходимость поиска адекватных, функционально подобранных тестов, отвечающих сложности реагирования целостного организма на применяемое воздействие.

Исследования С. Н. Айрапетяна и сотр. (¹⁻³) показали, что инкубирование нейрона центральной нервной системы виноградной улитки в гипертоническом и гипотоническом растворе приводит соответственно к уменьшению и увеличению объема нервной клетки, а также к понижению и повышению проницаемости, возбудимости и хемочувствительности мембраны нейрона. В этой связи в данной работе была предпринята попытка воспроизвести тормозной эффект гипертонического раствора на процессы научения и памяти у млекопитающих животных.

Опыты проведены на беспородных белых крысах-самцах (n=15) массой 200—300 г. Использовалась условнорефлекторная методика, дающая животным возможность свободного передвижения и выбора, сводя к минимуму контакт с экспериментатором. Методика позволяет также тестировать состояние не только долговременной, но и кратковременной рабочей памяти крысы. Она представляет собой лабиринтную установку, состоящую из стартовой камеры (СК), распределителя, ведущего к коридорам в двух направлениях, и собственно коридоров, отделенных от распределителя шторками со зрительными изображениями. Из двух направлений одно подкреплялось («крест») пищей, а другое служило в качестве дифференцировки («квадрат»). Таким образом, место подкрепления определялось не местонахождением коридоров, а знаком на шторке, которая висит у входа в коридор. Выработка дифференцировки достигалась постоянными (через каждые 2—3 пробы) перестановками коридоров местами. В случае правильного выбора коридора крысы получали в его конце подкрепление (творожный шарик весом 0,5—0,6 г). Затем верхнюю крышку коридора открывали, и крыса по лабиринту уже эстакадного типа возвращалась в СК для

повторения цикла пищедобывательного акта—побежки к кормушке. Эксперименты проводились раз в 2—3 дня и состояли из 10 последовательных проб. Крыс брали на опыт после суточной пищевой депривации. Уровень их пищевой возбудимости определяли путем кормления крыс творожными шариками, давая один за другим, сразу после поедания очередного. Регистрировали скорость поедания шариков и уровень насыщения. Измеряли также временные параметры реакции побежки к кормушке, задержки у кормушки после подкрепления, возвращения в СК, умывательной реакции. Подсчитали количество акта уринации в лабиринте по ходу опыта.

Для создания в организме гипертонической внутренней среды использовали 2 М водный раствор маннита ($C_6H_{14}O_6$, мол. вес 182,18). Как агент, вызывающий осмотический стресс в организме подобно другим осмоактивным веществам (⁴⁻⁶), маннит выгодно отличается тем, что не проникает внутрь клетки, не утилизируется организмом. Это позволяет связывать эффекты маннита с изменениями во внутренней осмотической среде организма.

Инъекцию маннита и физиологического раствора осуществляли внутрибрюшинно (2—3 мл) за 10 мин до начала эксперимента. Было проведено 36 инъекций маннита и 5 физиологического раствора. Обнаружено, что введение маннита приводит к нарушению пищедобывательного поведения в отличие от инъекции физиологического раствора. Во всех опытах после введения маннита (2 мл) нарушалось поведение возвращения в СК. В 83% случаев нарушение возвращения носило переменный характер, т. е. крыса то переставала возвращаться в СК после подкрепления, то вновь возобновляла поведение возвращения. При этом крысы в случае задержки у кормушки проявляли не умывательное или ориентировочно-исследовательское поведение, как в контрольных опытах, а сидели или лежали неподвижно с закрытыми глазами. Создавалось впечатление, что крысы дремали.

В 56% опытов крысы после инъекции маннита (3—3,5 мл) прекращали на определенное время и побежки к пище из СК. Прекращение побежки к пище сопровождалось полным угнетением общей двигательной активности, закрыванием глаз, повышением порога реакции на внешние звуковые раздражители.

Для опытов с введением маннита (2 мл) характерно замедление ($P < 0,001$) выполнения всех элементов пищедобывательного поведения (рис. 1). В то же время никаких нарушений памяти у крыс не обнаружено. При выборе не было совершено ни одной ошибки. Крысы, у которых не сформировался латерализованный стереотип направления побежки до коридоров, сохранили в памяти место предшествующего подкрепления. Таким образом, ни долговременная, ни оперативная память не пострадала.

Спустя 10—15 мин после инфузии маннита наблюдалось учащение акта уринации. Если за время контрольного опыта (20—30 мин) у крыс практически уринация отсутствовала или же отмечалась не более одного раза, то на фоне маннита она заметно возросла, в отдельных случаях до 14 раз. Причем первые порции мочи имели желтый цвет, а в дальнейшем моча стала практически бесцветной. Любопытно,

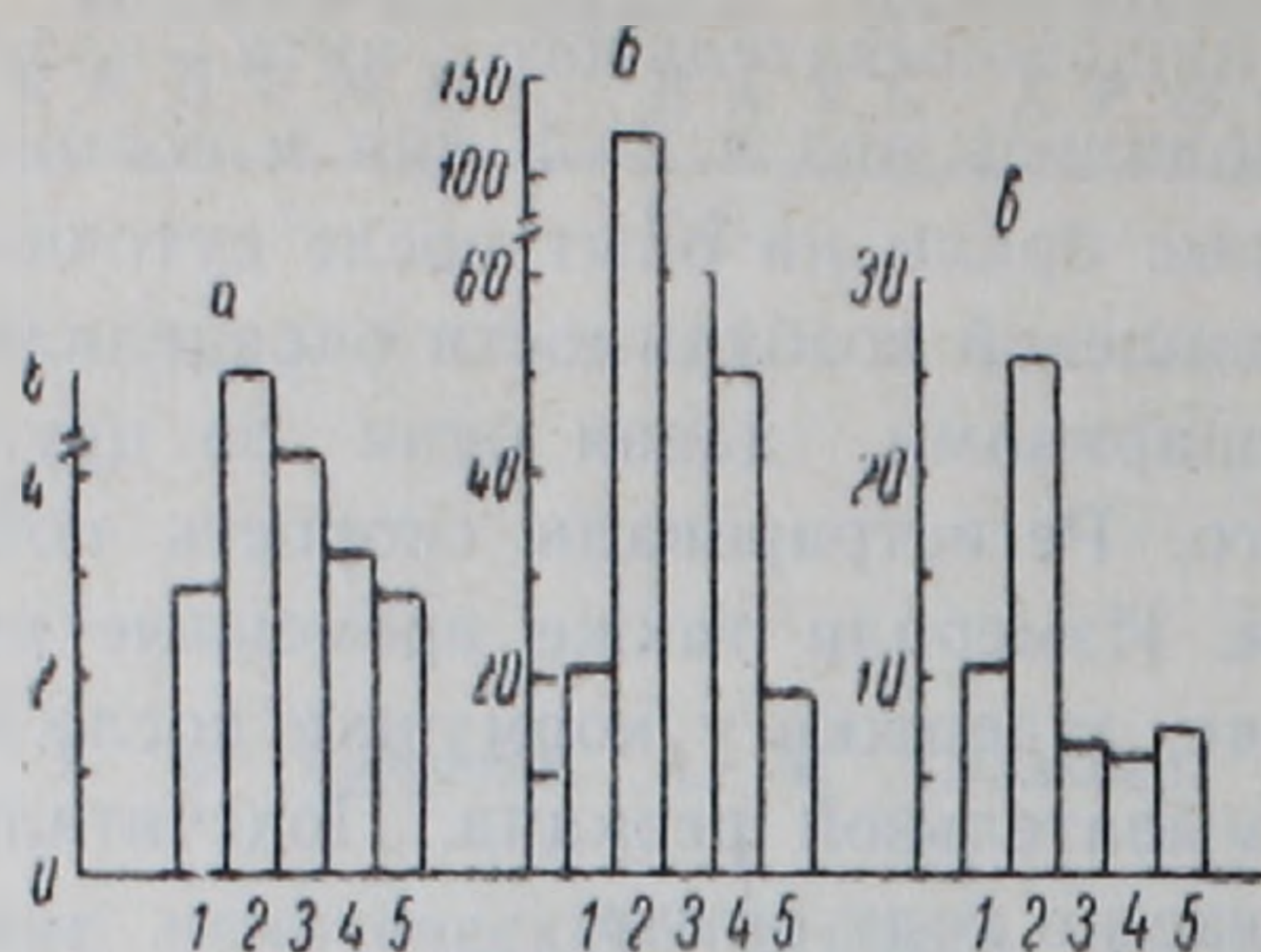


Рис. 1. Изменение элементов двигательного-пищевого поведения крыс в лабиринте при гиперосмотическом стрессе, вызванном маннитом. *а*—побежка к кормушке; *б*—задержка у кормушки; *в*—возвращение в СК. На оси абсцисс средние данные 15 крыс. 1—контроль; 2—после инъекции маннита (2 мл); 3—через 3, 4—через 5, 5—через 9 дней после введения. На оси ординат— время в с

что крысы охотно лизали собственную мочу, чего не наблюдалось в контрольных опытах.

После опытов определялся уровень пищевой возбудимости и насыщения. В отличие от контроля, после введения маннита скорость поедания пищи и уровень насыщения падали в два с лишним раза (рис. 2). Для того чтобы выявить связь между уровнем пищевой возбудимости и нарушениями пищедобывательного поведения, обнаруженного в экспериментах, проверялась пищевая возбудимость сразу через 10 мин после инъекции маннита. Подтверждено существенное понижение общей пищевой возбудимости после введения маннита и выявления фазности в ее развитии (рис. 3). Периоды поедания пищи сменялись периодами угнетения двигательного-пищевого активности (вплоть до полного отказа от пищи), закрыванием глаз и повышением порога реакций на экстрастимуляцию. После окончания опыта (спустя 1—1,5 ч после

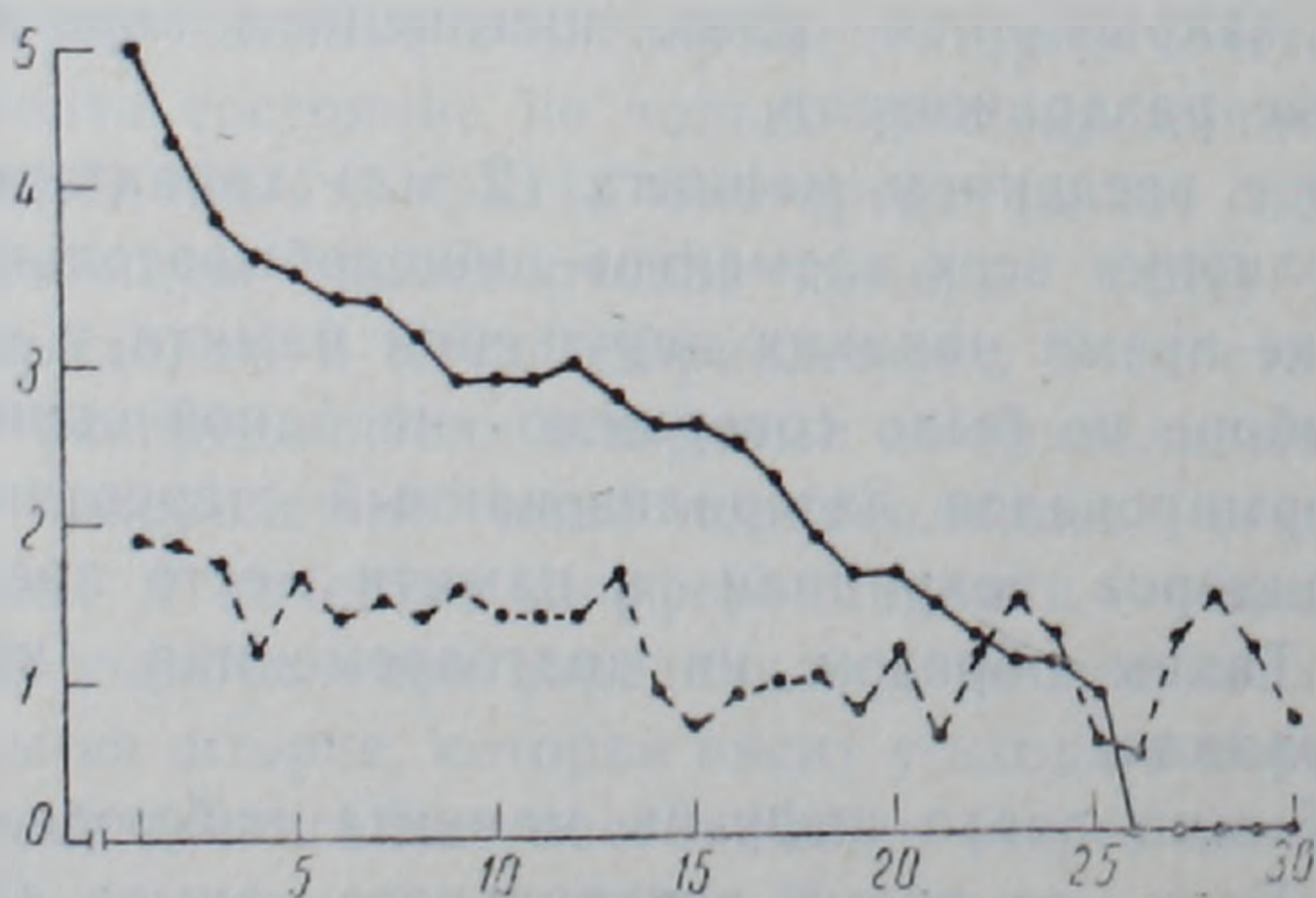


Рис. 2. Динамика изменения уровня пищевой возбудимости и скорости насыщения до (сплошная линия) и после (пунктиры) действия маннита (2 мл). На оси абсцисс—время в мин; на оси ординат—количество съеденных творожных шариков (средние данные)

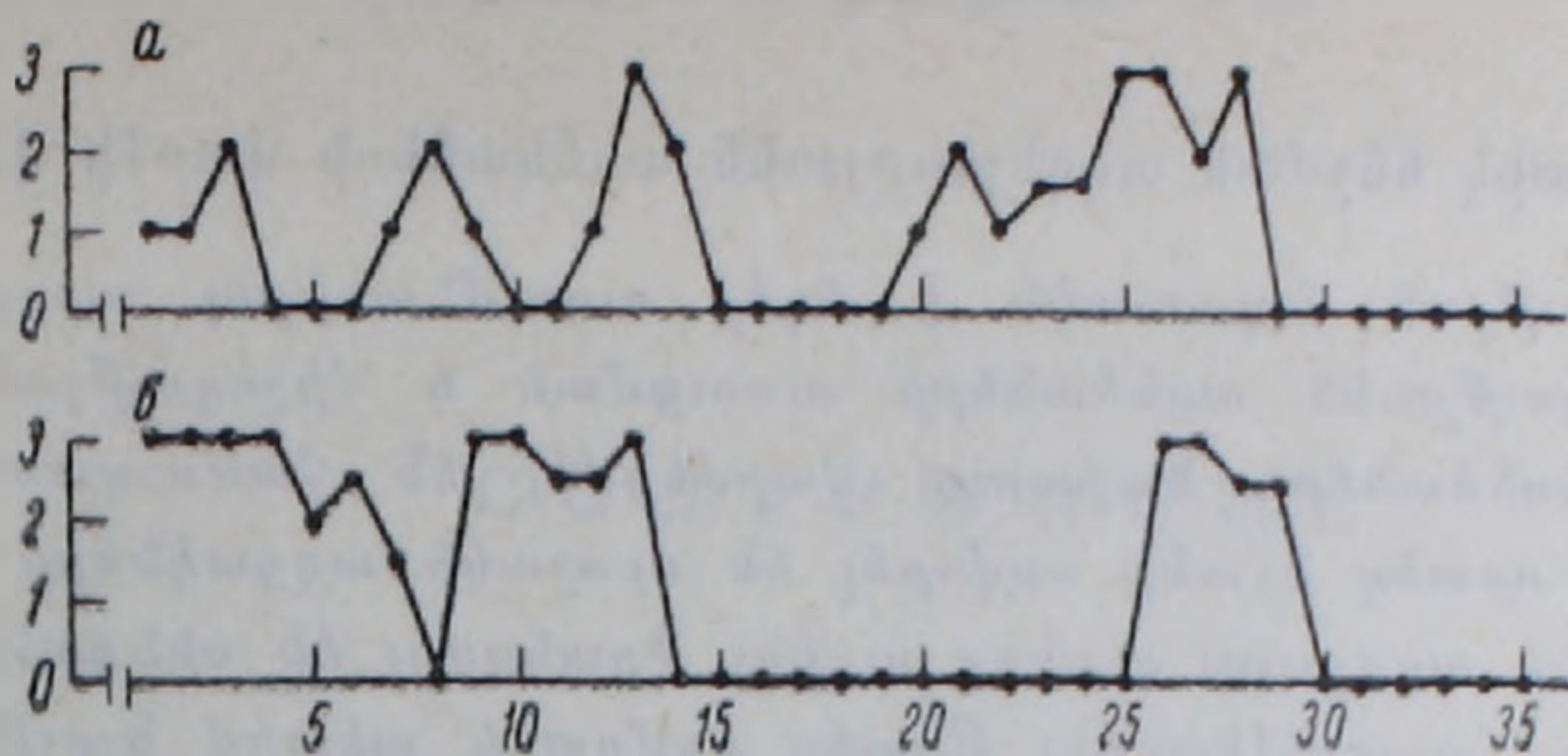


Рис. 3. Индивидуальные вариации фазности в развитии пищевой возбудимости под действием маннита (2 мл). а—крыса № 57; б—крыса № 56. Остальные обозначения те же, что на рис. 2

введения маннита) в случае дачи воды у крыс можно было наблюдать полидипсию.

Анализ полученных данных выявил корреляцию между нарушениями пищедобывательного поведения в условнорефлекторном эксперименте и колебаниями уровня пищевой возбудимости, возникшими под действием гипертонического раствора маннита. Полное сохранение памяти во время периодов пищедобывательной активности в лабиринте также указывает на мотивационный и активационный механизмы нарушений пищевого поведения. Возникает вопрос, можно ли связать общее угнетение двигательной активности и понижение пищевой возбудимости с непосредственным действием гипертонической внутренней среды на объем нервных клеток, управляющих этими функциями? Мы полагаем, что это довольно сложная проблема, и для окончательного ее решения необходимы дальнейшие многосторонние исследования. Однако данные современной клеточной биофизики (¹⁻³) дают основания предположить, что нарушения функций активационных и мотивационных систем организма в условиях гиперосмотического давления крови, вызванного маннитом, связаны, вероятно, с дегидратацией и сморщиванием нейронов соответствующих структур мозга (возможно и других внутренних органов), регулирующих пищедобывательное поведение и состояние бодрствования.

Учащение диуреза в условиях маннитного гиперосмотического стресса может служить косвенным подтверждением высказанной гипотезы. Под воздействием повышенной осмолярной концентрации крови усиливается отток воды из тканей в артериальную систему. В результате гидремии усиливается диурез. При этом активация антидиуретического рефлекса, обычно характерная для введения гипертонических растворов, в том числе и маннита, оказывается недостаточной. Повышенное потребление воды у крыс, получивших маннит, является, очевидно, компенсаторным проявлением функции осморегулирующей системы в ответ на дефицит воды в тканях. В то же время факт полидипсии является дополнительным аргументом в пользу дегидратационного механизма, тормозящего действия концентрированного раствора маннита на некоторые стороны функции центральной нервной системы крыс.

Օսմոտիկ ճնշման ազդեցությունն առնետների վարքի վրա

Հետազոտության նպատակն է եղել ուսումնասիրել արյան օսմոտիկ ճնշման ազդեցությունն առնետների ուսուցման և հիշողության վրա: Այս նպատակով, առնետները նախօրոք վարժեցվել են համապատասխան լաբիրինթներում, որտեղ նրանք սովորել են որոշակի ազդակների ներքո ընտրել դեպի սնման աղբյուրը տանող ուղին: Գրանցվել են սննդա-շարժողական վարքի մի շարք պարամետրեր: Որպես օսմոտիկ ակտիվ նյութ օգտագործվել է մանիտի 2 Մ ջրային լուծույթ:

Փորձերը ցույց տվեցին, որ մանիտի 2 մլ ներարկումից դանդաղում են առնետների շարժողական ռեակցիաների արագությունը: Ընկնում է ընդունված կերի քանակը, կարճանում է հազեցման ժամանակամիջոցը: Մանիտի ազդեցության տակ զգալի ավելանում է միզարտադրությունը: Ստացված տվյալները թույլ են տալիս ենթադրելու, որ մանիտի հիպերտոնիկ լուծույթից տեղի է ունենում ներվային բջջիջների ջրազրկում, նրանց ծավալի փոքրացում, որը և բերում է գլխուղեղի ֆունկցիաների խանգարում, միզարտադրության ավելացում և ջրի պահանջի բարձրացում:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ С. Н. Айрапетян, М. А. Сулейманян, В. Л. Арванов, в кн.: Биофизика мембран, М., Наука, 1981 ² S. N. Ayrapetjan, Adv. Physiol. Sci., v. 23 (1980). ³ S. N. Ayrapetjan, V. L. Arvanov, Comp. Biochem. Physiol., v. 64A, p. 601 (1979). ⁴ А. Г. Гинецинский, Физиологические механизмы водно-солевого равновесия, Наука, М.—Л., 1964. ⁵ А. Г. Великанова, Осморецепторы, Новосибирск, Наука, 1985. ⁶ G. Koob, R. Dantzer, F. Rodriguez e. a., Nature, v. 316, № 6022 (1985).

