

Канд. биол. наук *В. Н. Федянина*, канд. мед. наук *Б. Я. Экштат*,
М. Н. Павленко

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЕТОДОВ ИЗУЧЕНИЯ СОСТОЯНИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ПО ГИГИЕНИЧЕСКОМУ НОРМИРОВАНИЮ

Новосибирский научно-исследовательский санитарный институт

В экспериментах по гигиеническому нормированию существенное значение придается изучению состояния центральной нервной системы, поскольку она не только чувствительнейший индикатор вредного влияния, но и интегральный показатель состояния целостного организма. При изучении центральной нервной системы в токсикологическом эксперименте наибольшее распространение получили различные модификации метода условных рефлексов и определения суммационно-порогового показателя (СПП). Метод условных рефлексов особенно широко используется в исследованиях по гигиеническому нормированию веществ в водоемах (С. Н. Черкинский и соавт., 1962, 1964, 1974). Многочисленные работы, посвященные этому методу, касаются в основном целесообразности применения различных вариантов его, унификации методики, статистической обработке результатов исследования и т. д. Накопление фактических данных позволило С. Н. Черкинскому и соавт. (1974) произвести оценку информативной значимости отдельных показателей условнорефлекторной деятельности и обоснованно исключить из схемы опыта выработку дифференцировочной реакции, что дает возможность сократить на 50 % время этого очень трудоемкого эксперимента. Но даже в этом случае метод условных рефлексов следует считать достаточно сложным, требующим значительной затраты времени.

Вместе с тем в работах, посвященных промышленной токсикологии, для оценки влияния веществ на центральную нервную систему широко используется метод суммации подпороговых раздражений, а в последнее время его видоизменение — СПП (С. В. Сперанский). Метод определения СПП обладает довольно высокой чувствительностью (А. И. Корбакова и И. П. Уланова), в результате чего он был включен рядом авторов в свои методические монографии (О. Н. Елизарова; Е. И. Люблина и соавт.; И. В. Саноцкий). Метод определения СПП отличается большой простотой, требует минимальной затраты времени, что немаловажно при длительных, очень насыщенных разносторонними исследованиями экспериментах.

В работах по обоснованию предельно допустимых концентраций хлорорганических соединений в водоемах, воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе¹ мы изучали длительное воздействие малых уровней этих веществ

¹ Исследования по разработке предельно допустимых концентраций в атмосферном воздухе проведены при участии канд. мед. наук Н. Р. Косиборода.

на состояние центральной нервной системы методами условных рефлексов и СПП, что позволило провести их сравнительную оценку.

В хронических экспериментах определяли влияние на организм белых крыс пестицидов ДД и ДДБ (I серия опытов) и 1,2-дихлорпропана — 1,2-ДХП-ан (II серия) при пероральном способе введения веществ в течение 6 мес, 1,1,2,3-тетрахлорпропена (ТХП) при ингаляционной 4-месячной затравке по 5 ч в день (III серия), 1,3-дихлорпропена (ДХП-ен) и 1,1,2,3-ТХП при 3-месячной круглосуточной затравке (IV серия). В каждой серии опытов имела своя контрольная группа.

Условнорефлекторную деятельность исследовали по общепринятой двигательной-пищевой методике на крысах в камере конструкции Л. И. Котляревского с объективной регистрацией показателей (Н. И. Лосев и В. Е. Миклашевский). Способность нервной системы к формированию условных связей определяли при пероральном введении на 5-м месяце интоксикации и при ингаляционном через 2½ мес от начала затравки. При этом учитывали скорость появления и упрочения положительного условного рефлекса на звуковой раздражитель, латентный период (в секундах), величину рефлекса и интерсигнальных реакций, процент выпадения положительных условных рефлексов, скорость угашения и восстановления рефлекса. В первых 2 сериях опытов исследовали также появление и упрочение отрицательного условного рефлекса на дифференцировочный раздражитель. СПП определяли по методу С. В. Сперанского в динамике у животных тех же групп в исходном периоде, через 2 нед от начала затравки и каждый последующий месяц. В конце опыта проводили специфическую нагрузку на нервную систему 40% этиловым спиртом в дозе 1,6 г/кг перорально. СПП исследовали до введения и через 30 мин после введения алкоголя. Результаты всех опытов были обработаны методами параметрической (критерий *t* Стьюдента) и непараметрической (критерий *U*, точный метод Фишера) статистики.

Из табл. 1 видно, что в I серии опытов при действии препарата ДД в дозах 0,6 и 0,1 мг/кг и ДДБ в дозах 1,2 и 0,25 мг/кг у крыс отмечаются существенные нарушения высшей нервной деятельности: более позднее закрепление положительного условного рефлекса, значительный процент выпадения рефлекса, удлинение латентного периода. СПП у животных, получавших вещества в самых больших дозах, оказался достоверно сниженным по сравнению с контрольными на 3, 4 и 6-м месяцах эксперимента. У крыс, получавших ДДБ в дозе 0,25 мг/кг, СПП был значительно увеличен через 2 нед от начала интоксикации; в последующем он нормализовался. Применение спиртовой нагрузки выявило изменение СПП не только при действии веществ в самых больших дозах, но и при получении препарата ДД в дозе 0,1 мг/кг ($P < 0,025$). И только самые низкие испытанные дозы — 0,02 мг/кг (ДД) и 0,05 мг/кг (ДДБ) оказались не действующими на центральную нервную систему.

1,2-дихлорпропан (1,2-ДХП-ан) оказал влияние на условнорефлекторную деятельность в дозах 0,5 и 0,1 мг/кг. Кроме изменения показателей, отраженных в табл. 1, у крыс 1-й группы этой серии отмечалось также более позднее появление отрицательной реакции на дифференцировочный раздражитель ($P < 0,05$) и в обеих группах животных — замедление упрочения дифференцировки ($P < 0,02$). Вместе с тем СПП был достоверно увеличен на 2-м и 3-м месяцах эксперимента в группе, получавшей 1,2-ДХП-ан в самой большой дозе. При действии 1,2-ДХП-ана в дозах 0,1 и 0,02 мг/кг отмечалось некоторое повышение СПП лишь на 2-м месяце интоксикации.

В III серии опытов ТХП в обеих концентрациях вызвал нарушения условнорефлекторной деятельности, хотя действие вещества в дозе 1 мг/м³ было менее значительным (табл. 2). Величина СПП также изменялась в обеих опытных группах: при действии ТХП в дозе 11 мг/м³ на протяжении почти всего эксперимента и в дозе 1,2 мг/м³ — на 3-м месяце. Наблюдалась

Таблица 1

Изменение функционального состояния центральной нервной системы под влиянием хлоралкенов и хлоралкиленов ($M \pm m$)

Серия опы- тов	Вещество, доза (в мг/кг)	Показатель условнорефлекторной деятельности						СПП (в усл. ед.)				
		положительный условный рефлекс (число сочетаний)				% выпадения	латентный период	срок от начала затравки (в мес)				
		появле- ние	закрепление	угашение	восстанов- ление			1/2	2	3	4	6
I	Контроль	$5 \pm 0,58$	$17 \pm 3,26$	$29 \pm 3,07$	$2,6 \pm 0,19$	$2,1 \pm 0,65$	$0,74 \pm 0,05$	$33,2 \pm 4,8$	$37,8 \pm 3,3$	$35,4 \pm 1,9$	$40 \pm 2,9$	$28,6 \pm 2,5$
	ДД 0,02	$5 \pm 0,48$	$18 \pm 2,25$	$25,8 \pm 1,61$	$2,7 \pm 0,16$	$2,6 \pm 0,65$	$0,85 \pm 0,05$	$34,2 \pm 4,7$	$33,7 \pm 3,7$	$32,3 \pm 2,1$	$39,7 \pm 2,7$	$27,7 \pm 1,5$
	0,1	$6 \pm 0,48$	$21,6 \pm 7,09$	$39,4 \pm 2,3$	$2,6 \pm 0,38$	$4,8 \pm 0,81$	$0,96 \pm 0,05$	$37,5 \pm 2,6$	$34,5 \pm 3,5$	$31,2 \pm 1,9$	$33,3 \pm 2,3$	$31,5 \pm 2,3$
	P		$=0,025$			$<0,05$	$<0,02$					
	0,6	$7 \pm 0,77$	$40 \pm 8,07$	$45,3 \pm 3,07$	$4,2 \pm 0,96$	$10,8 \pm 1,68$	$1,34 \pm 0,07$	$37,8 \pm 4,6$	$37 \pm 2,7$	$26,6 \pm 2,1$	$30,8 \pm 2,5$	$21,8 \pm 1,7$
	P	$<0,05$	$<0,05$	$<0,01$		$<0,01$	$<0,001$			$<0,02$	$<0,05$	$=0,05$
	ДДВ 0,05	$0,4$	$20,0 \pm 0,37$	$25 \pm 3,75$	$3 \pm 0,32$	$1,4 \pm 0,94$	$0,76 \pm 0,07$	$40,5 \pm 6,9$	$37,5 \pm 11,9$	$33,5 \pm 4,4$	$32 \pm 2,5$	$31 \pm 2,5$
	0,25	$6 \pm 1,01$	$30,0 \pm 4,35$	$36 \pm 0,34$	$3,5 \pm 1,49$	$5,6 \pm 0,89$	$1,04 \pm 0,08$	$46,8 \pm 1,92$	$34,5 \pm 3,5$	$29,8 \pm 3,1$	$37 \pm 1,8$	$32,2 \pm 2,3$
P		$<0,05$	$<0,05$		$<0,02$	$<0,01$	$<0,05$					
1,2	$5 \pm 0,65$	$34 \pm 4,19$	$47,6 \pm 2,74$	$6 \pm 1,13$	$7,9 \pm 1,24$	$1,36 \pm 0,08$	$37,5 \pm 4,0$	$38,2 \pm 2,6$	$23,7 \pm 2,9$	$28 \pm 0,8$	$20,7 \pm 1,8$	
P		$<0,02$	$<0,01$	$<0,05$	$<0,01$	$<0,001$	$<0,001$		$<0,01$	$<0,01$	$<0,05$	
II	Контроль	$5,8 \pm 0,96$	$9,2 \pm 2,3$	$11,5 \pm 1,21$	$5,7 \pm 1,02$	$4,9 \pm 0,83$	$2 \pm 0,11$	$38,3 \pm 0,5$	$38 \pm 0,5$	$38,5 \pm 0,8$	$35,2 \pm 0,8$	$34,3 \pm 0,6$
	1,2-ДХП- ан 0,02	$5,8 \pm 0,96$	$12,8 \pm 2,5$	$17 \pm 2,5$	$7,5 \pm 2$	$5,8 \pm 1,39$	$1,37 \pm 0,40$	$36,0 \pm 0,8$	$35,6 \pm 0,8$	$39,2 \pm 1,4$	$32 \pm 0,8$	$36 \pm 0,8$
	P								$<0,05$			
	0,1	$6 \pm 0,77$	$32,6 \pm 7,3$	$12,4 \pm 1,35$	$11,8 \pm 1,15$	$10,5 \pm 2,8$	$1,31 \pm 0,07$	$36 \pm 0,9$	$41,3 \pm 1,1$	$42 \pm 1,9$	$35,2 \pm 0,8$	$37,2 \pm 1,3$
	P		$<0,02$		$<0,01$		$<0,001$		$<0,05$			
0,5	$5,8 \pm 0,96$	$17,4 \pm 6$	$18,8 \pm 1,53$	$10,6 \pm 2,05$	$10,7 \pm 1,67$	$1,23 \pm 0,09$	$37,0 \pm 1,13$	$43 \pm 1,9$	$45,6 \pm 2,7$	$33,0 \pm 1,0$	$36,5 \pm 1,7$	
P			$<0,01$		$<0,02$	$<0,001$		$<0,05$	$<0,05$	$<0,1$		

Таблица 2

Изменение функционального состояния центральной нервной системы под влиянием хлоралкиленов ($M \pm m$)

Серия опытов	Вещество, доза (в мг/м ³)	Показатель условнорефлекторной деятельности						СПП (в усл. ед.)				
		положительный условный рефлекс (число сочетаний)				% выпадения	латентный период	срок от начала затравки (в мес)				
		появление	закрепление	угашение	восстановление			1/2	1	2	3	4
III	Контроль	5,1±0,1	15,0±1,34	18,7±2,48	2,62±0,12	3,62±0,45	0,87±0,06	2,47±1,03	24,4±0,82	20,66±0,67	21,7±1,34	17,56±1,01
	ТХП 1,2	5,8±0,31	16,6±1,03	20,4±3,6	2,89±0,34	8,89±1,86	0,94±0,10	23,7±0,9	22,4±1,13	20,8±1,24	25,15±1,03	21±2,06
	P	=0,05		<0,025		<0,02					=0,05	
	11	7,8±1,24	25,9±3,09	26,2±3,3	4,1±0,51	9,26±2,8	1,02±0,08	23,1±1,13	22,6±0,82	17,7±0,52	26,8±1,29	20,4±0,62
	P	<0,05	<0,01	=0,05	<0,02	<0,05			<0,01	<0,02	<0,05	<0,05
IV	Контроль	4,4±0,28	14±1,39	23±3,36	3,14±0,56	6,87±1,69	0,67±0,04	22,7±1,53	24,7±1,12	21,5±0,81	23±1,93	24±1,29
	ТХП 0,05	5±0,28	13±0,70	19,3±2,9	3,5±1,29	4,7±1,18	0,66±0,03	22,1±0,99	26,1±0,62	21,6±0,87	29±2,66	24,7±1,4
	0,4	5,9±0,42	24,8±2,23	13,4±2,93	5±0,42	6,14±2,43	0,7±0,04	26±2,65	25±0,84	19,8±0,69	29,2±2,09	23,6±1,19
	P	<0,02	<0,01	<0,05	<0,05						<0,05	
	3	7,7±1,12	27±2,65	15,3±2,9	4±0,42	12,63±3,26	0,79±0,05	25,3±0,81	25,6±0,32	23±0,83	34,3±3,38	25±1,94
	P	<0,02	<0,001	=0,05			<0,1			=0,05	<0,02	
	1,3-ДХП-ен-0,1	5±0,28	16,2±2,65	17,2±1,46	3±0,38	3,92±0,82	0,67±0,06	25,2±0,7	26±1,81	22,8±1,26	26,7±2,79	23,6±1,15
	0,8	5±0,32	22,6±2,74	18,2±5,57	3±0,77	10,18±2,3	0,85±0,09	27,4±1,92	26,6±1,73	21,8±0,77	36,6±3,84	27,8±1,73
	P		<0,02				=0,05	<0,05			<0,02	
	6,5	6±0,48	30,1±1,77	8,8±1,92	6,4±1,92	11,03±2,81	0,83±0,04	27,2±0,81	23,8±0,65	25,8±1,29	31,1±1,61	27,16±1,77
P	<0,02	<0,001	<0,01	=0,05		<0,02	<0,05		<0,02	<0,01		

различная реакция нервной системы на введение спирта у контрольных и опытных групп. Если у контрольных животных через 30 мин после нагрузки СПП увеличивался до $25,2 \pm 1,68$ усл. ед., то в обеих опытных группах он оказался почти на том же уровне ($21,6 \pm 2,16$ усл. ед., $P < 0,025$, $19,7 \pm 1,34$ усл. ед., $P < 0,02$ соответственно).

Круглосуточные воздействия 1,3-ДХП-ен и ТХП (IV серия экспериментов) привели к наиболее выраженным нарушениям условнорефлекторной деятельности крыс, затравливаемых веществами в больших концентрациях (3 и $6,5 \text{ мг/м}^3$). У них наблюдался и более высокий СПП по сравнению с контрольными крысами. Под влиянием ДХП-ен в дозе $0,8 \text{ мг/м}^3$ изменения условных рефлексов были выражены меньше, повышение СПП также отмечалось реже. ТХП в концентрации $0,4 \text{ мг/м}^3$ вызвал значительные нарушения высшей нервной деятельности, тогда как увеличение СПП наблюдалось только через 3 мес.

Однако спиртовая нагрузка также позволила установить в этой группе животных нарушения центральной нервной системы в конце эксперимента— выявилась менее выраженная реакция на введение алкоголя, чем в контрольной группе (СПП соответственно равны $23,3 \pm 1,68$ и $30 \pm 2,4$ усл. ед., $P < 0,05$).

Следует указать, что нарушение высшей нервной деятельности под влиянием значительной группы веществ при различных способах их введения было однотипным и характеризовалось в основном ослаблением силы раздражительного процесса при одновременном ослаблении внутреннего торможения с изменением в ряде случаев подвижности нервных процессов. Некоторое лишь видимое усиление тормозного процесса в IV серии опытов проявилось на фоне значительного ослабления процесса возбуждения. Последнее, по-видимому, несколько завуалировало ослабление внутреннего торможения. В пользу этого предположения свидетельствует значительное снижение работоспособности нервных клеток, переходящих в состояние запредельного торможения при усложнении задачи (угашение положительного условного рефлекса) у крыс, получавших 1,3-ДХП-ен в самой большой концентрации.

Исследования с применением СПП выявили фазовые изменения возбудимости.

Таким образом, изучение функционального состояния нервной системы методом условных рефлексов и СПП с применением алкогольной пробы позволило установить, что пороги действия исследуемых веществ, выявленные тем и другим методом, находятся на одном уровне. И только в 2 опытах — при действии препарата ДДБ в дозе $0,25 \text{ мг/кг}$ (I серия) и 1,2-ДХП-ана в дозе $0,1 \text{ мг/кг}$ (II серия) — СПП изменился лишь 1 раз в начале эксперимента, тогда как изменение условных рефлексов обнаружено по нескольким показателям. В этом случае определенное значение имела кратность испытанных доз (отличие от действующих в 5 раз). Очевидно, принятый в хронических экспериментах по гигиеническому нормированию разрыв в дозах на 1 порядок нивелировал бы эту незначительную разницу в частоте и характере ответных реакций центральной нервной системы на длительное воздействие химических факторов малой интенсивности. Это и наблюдалось в III и IV сериях опытов.

Анализ и сопоставление данных, полученных при использовании метода рефлексов и определении СПП, показывает их близкую чувствительность, однако нужны дальнейшие исследования, чтобы сделать выводы методического порядка.

В ы в о д ы

1. Исследование функционального состояния центральной нервной системы методом условных рефлексов и СПП показало практическую близость их показателей

2. Чувствительность метода определения СПП существенно возрастает при применении специфической нагрузки алкоголем.

ЛИТЕРАТУРА. Елизарова О. Н. Определение пороговых доз промышленных ядов при пероральном введении. М., 1971. — Корбакова А. И., Уланова И. П. В кн.: Методы определения токсичности и опасности химических веществ. М., 1970, с. 142. — Котляревский Л. И. Ж. высш. нерв. деят., 1951, № 5, с. 758. — Лосев Н. И., Миклашевский В. Е. Пат. физиол., 1962, № 3, с. 75. — Саноцкий И. В. В кн.: Методы определения токсичности и опасности химических веществ М., 1970, с. 9. — Сперанский С. В. Фармакол. и токсикол., 1965, № 1, с. 123. — Уланова И. П. Зависимость биологического действия от химической структуры разных классов галоидосодержащих углеводов (к проблеме оценки опасности промышленных ядов). Автореф. дисс. докт. М., 1971. — Черкинский С. Н., Тугаринова В. Н. В кн.: Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. М., 1962, в. 5, с. 399. — Черкинский С. Н., Миклашевский В. Е., Мурзакаев Ф. Г. Там же, 1964, в. 6, с. 323. — Черкинский С. Н., Фридлянд С. А., Каган Г. З. Гиг. и сан., 1974, № 1, с. 14.

Поступила 4/VII 197 г.