

**УДК 57.042:57.024:615.91**

## **ВЛИЯНИЕ НИТРАТА СВИНЦА НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС**

*Коренюк И.И., Гамма Т.В., Черетаев И.В., Катюшина О.В., Хусаинов Д.Р.,  
Лямина А.М., Джапарова С.И., Исмаилова Э.Т.*

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: 5612178@ukr.net*

В стресс-тестах различной аверсивности показано, что после введения на протяжении недели животным нитрата свинца в дозе 100 мг/кг происходит угнетение локомоторной активности крыс, увеличение уровня их тревожности при слабом и умеренном стрессе, а при сильном – наоборот, снижение. В то же время не выявлены достоверные изменения депрессивного поведения при умеренном и сильном стрессе. Рассмотрены возможные механизмы психотропного действия нитрата свинца.

**Ключевые слова:** свинец, поведение, депрессия, тревожность.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Крупные города и сельскохозяйственные угодья Украины, расположенные вблизи автострад, отдельные участки акватории Чёрного и Азовского морей и воздушное пространство над ними загрязнены солями свинца [1–5]. Известно, что среди них для животных и человека особенно опасен и токсичен нитрат свинца [6], попадающий в окружающую среду с выбросами промышленности или образующийся в результате взаимодействия в почве соединений свинца и азотсодержащих агроудобрений [7]. С пищей, водой и воздухом соли свинца поступают в организм животных и человека и, накапливаясь там, могут оказывать нейротропное [8–10] и нейротоксическое действие [10–15], приводящее к изменениям функционального состояния центральной нервной системы (ЦНС). Из сказанного выше можно предположить, что соли свинца влияют и на поведение животных, в частности, на их локомоторную активность, тревожность и депрессию, которые определяются деятельностью ЦНС [16–18].

В связи с этим, целью настоящей работы явилось изучение влияния накопления нитрата свинца в организме крыс на их поведение (локомоторную активность, тревожность и депрессию).

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследования проведены на 20 белых беспородных крысах-самцах массой 200-250 г. Экспериментальной группе крыс (n=10) в течение семи дней вводили внутривентриально  $Pb(NO_3)_2$  (100 мг/кг) объемом 0,2-0,25 мл, вызывая накопление свинца в тканях организма, а контрольной (n=10) – физиологический раствор в

эквивалентном объеме. На восьмой день поведение крыс обеих групп тестировали на тревожность (тесты «открытое поле» (ОП) [19, 20], «чёрно-белая камера» (ЧБК) [19, 21], «крестообразный приподнятый лабиринт» (КПЛ) [16, 19]), а также депрессию (тест Порсолта [19, 22] и «подвешивание за хвост» [16, 19]) в порядке возрастания стрессового воздействия. Достоверность различий между группами контроля и опыта определяли с помощью критерия Манна-Уитни (при  $p \leq 0,05$ ;  $p \leq 0,01$ ).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В тесте ОП (слабый стресс), в экспериментальной группе крыс выявлено уменьшение горизонтальной (ГДА) и отсутствие вертикальной двигательной активности (ВДА) по сравнению с контрольной группой ( $p \leq 0,01$ , рис. 1). Это указывает на тормозное влияние нитрата свинца на локомоторную активность крыс. Кроме того, в этом тесте обнаружено угнетение ( $p \leq 0,01$ ) и исследовательской активности (ИА), свидетельствующее об увеличении нитратом свинца уровня тревожности крыс [16, 17].

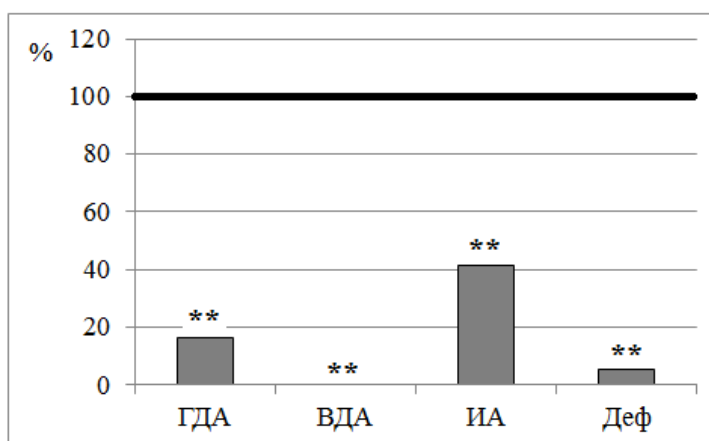


Рис. 1. Влияние нитрата свинца на поведенческую активность крыс в тесте «открытое поле»

*Примечание:* ГДА – горизонтальная двигательная активность, ВДА – вертикальная двигательная активность, ИА – исследовательская активность, Деф – уровень дефекаций.

Здесь и далее на рис. контроль принят за 100 % и отмечен жирной чёрной линией; \* –  $p \leq 0,05$ , \*\* –  $p \leq 0,01$  – достоверность различий показателя экспериментальной группы относительно контроля

В моделирующем тревожность тесте ЧБК (умеренный стресс) после накопления нитрата свинца в организме крыс обнаружено угнетение их поведенческой активности, которое выразилось в достоверном уменьшении количества (рис. 2, А) и времени (рис. 2, Б) выходов и выглядываний. Эти данные в соответствии с классическими представлениями [21] свидетельствуют о том, что

нитрат свинца увеличивает уровень тревожности крыс, что было выявлено и в тесте ОП.

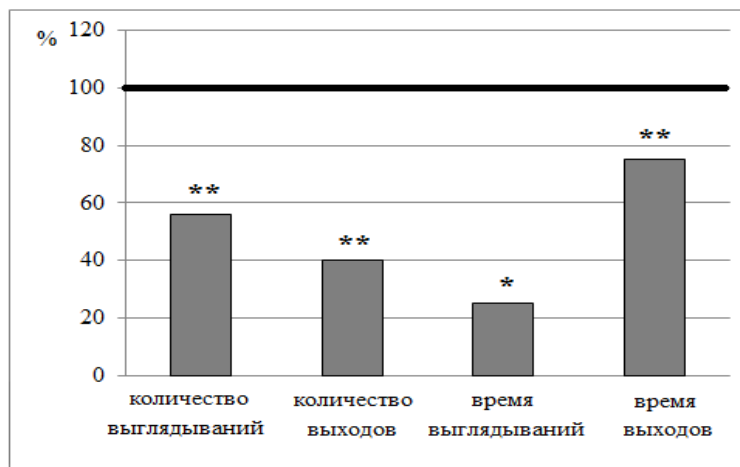


Рис. 2. Влияние нитрата свинца на поведенческие показатели крыс в тесте «чёрно-белая камера»

В тесте КПЛ, моделирующем тревожность в условиях сильного стресса, в экспериментальной группе отмечено достоверное увеличение ( $p \leq 0,01$ ) количества выходов и времени пребывания крыс в открытых рукавах (рис. 3, А, Б) и достоверное уменьшение ( $p \leq 0,01$ ) времени посещения закрытых рукавов (рис. 3, Б). Кроме того, проявлялась тенденция к снижению ВДА крыс и увеличению количества пересечений ими центра лабиринта и заглядываний вниз (рис. 3, В). Все выше перечисленные изменения показателей теста КПЛ указывают на уменьшение под влиянием нитрата свинца уровня тревожности животных (средний анксиолитический эффект, который рассчитывался по результатам теста согласно [19] как среднее арифметическое количества посещения крысами открытых рукавов, пересечения центра лабиринта, заглядываний вниз и ВДА составил 49,1 %), что противоречит результатам тестов ОП и ЧБК. На наш взгляд, наблюдаемый анксиолитический эффект нитрата свинца скорее свидетельствует о том, что данное вещество в условиях сильного стресса нарушает способность животных адекватно оценивать опасность и избегать её. При воздействии сильного стресса, вероятно, происходит переактивация адаптационных ресурсов организма [23], что провоцирует на фоне нейротоксических эффектов нитрата свинца неспецифические нейрогуморальные ответные реакции крыс. Можно полагать, что это приводит к ослаблению контроля поведения корой больших полушарий, в результате чего у животных пропадает страх перед открытым и неизвестным пространством. Исходя из этого, можно заключить, что интоксикация нитратом свинца в условиях сильного стресса может снижать качество жизни животных и человека, и, следовательно, их выживаемость в экстремальных ситуациях.

## ВЛИЯНИЕ НИТРАТА СВИНЦА НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС

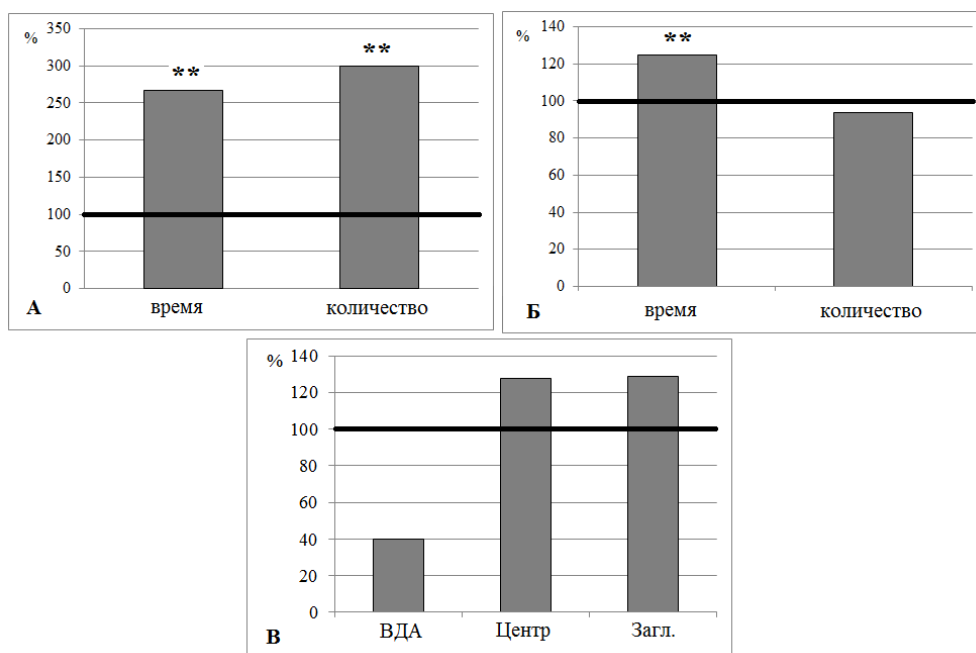


Рис. 3. Поведенческие реакции крыс в тесте «крестообразный приподнятый лабиринт» при накоплении в организме нитрата свинца

*Примечание:* А – количество и время посещений крысами открытых рукавов, Б – количество и время посещений крысами закрытых рукавов, В – вертикальная двигательная активность (ВДА), количество пересечений крысами центра лабиринта (Центр) и заглядываний вниз (Загл.)

Таким образом, накопление нитрата свинца в организме животных оказывает влияние различной направленности на тревожное поведение крыс в стрессовых воздействиях различной силы: в условиях слабого и умеренного стресса тревожность животных увеличивается, а при сильном стрессе, наоборот, снижается.

В тесте умеренного стресса Порсолта (рис 4 А) и более аверсивном тесте «подвешивание за хвост» (рис. 4 Б) интоксикация нитратом свинца не вызвала достоверных изменений поведенческих показателей депрессии крыс, за исключением латентного периода первого зависания. Однако, уменьшение активного плавания и количества выпрыгиваний, увеличение пассивного плавания на уровне тенденции в тесте Порсолта и уменьшение на уровне тенденции времени иммобильности крыс в тесте «подвешивание за хвост» указывают на некоторое увеличение уровня депрессии [16, 19, 22] под влиянием нитрата свинца. Таким образом, эти результаты свидетельствуют о том, что нитрат свинца оказывает незначительное отрицательное воздействие на депрессивное поведение крыс в условиях умеренного и сильного стресса. Возможно, как и в случае с КПЛ, это связано с переактивацией адаптационных ресурсов организма крыс, которая нивелирует отрицательные эффекты нитрата свинца [23].

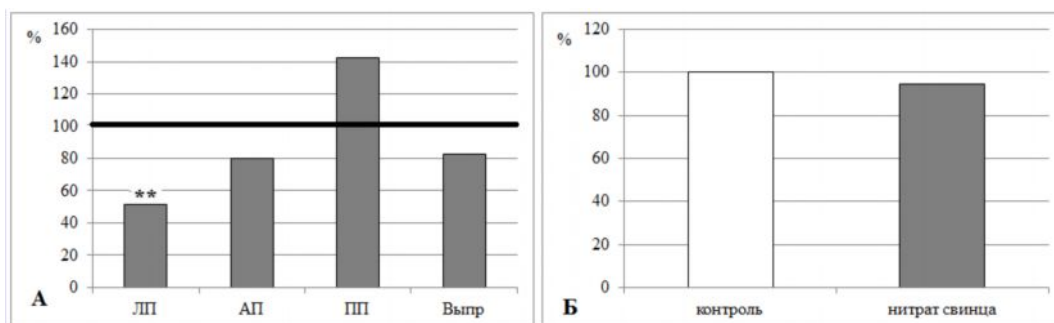


Рис. 4. Эффекты накопления нитрата свинца в организме крыс на их поведение в тесте Порсолта (А) и в тесте «подвешивание за хвост» (Б)

*Примечание:* ЛП – латентный период первого зависания, АП – время активного плавания крыс, ПП – время пассивного плавания, Выпр – количество выпрыгиваний

Механизм наблюдаемого нами влияния нитрата свинца на уровень тревожности, по-видимому, определяется множественностью биологических эффектов оказываемых на нервную систему ионами свинца и нитрогруппой. Так, известно, что повышение содержания ионов свинца в организме изменяет про- и антиоксидантный статус [11, 14, 24–26] нервных клеток мозга и состав содержащихся в них жирных кислот [27], нарушает транспорт натрия [28], калия [29] и кальция [30–32] через мембрану нейронов и процессы внутриклеточной  $Ca^{2+}$ -сигнализации [26, 31, 32], истощает запасы аденозинтрифосфата [26]. Обычно подобные изменения приводят к клеточной гибели [10, 14, 25, 26, 31, 32]. Такие эффекты могут быть обусловлены и взаимодействием катионов свинца с потенциалзависимыми ионными каналами [28, 31], угнетающим влиянием свинца на активность лизосомальных и цитоплазматических пептидаз нейронов [13] и отрицательным воздействием на функционирование медиаторных систем мозга, в частности, дофаминергической [3, 14, 34, 36], серотонинергической [14, 35, 36] и ГАМКергической [34], играющих важную роль в патогенезе тревоги и депрессии [17–19]. Следует отметить, что некоторые авторы сообщают и о способности ионов свинца оказывать замедляющее и блокирующее влияние на передачу сигналов в холинэргических синапсах [14, 36, 37]. Кроме того изучаемая соль свинца, как нитрат, может быть источником NO-радикалов в организме и вызывать гипоксию тканей мозга вследствие нарушения транспорта кислорода кровью и угнетения активности ферментных систем, принимающих участие в тканевом дыхании [37–40]. Естественно, следует ожидать, что все эти эффекты могут лежать в основе наблюдаемого изменения поведения крыс. Исходя из многообразия возможных воздействий нитрата свинца на нервную систему, мы считаем, что для более точного определения основных мишеней этого соединения в нервной системе необходимы дальнейшие исследования его нейротропных и психотропных эффектов.

**ВЫВОД**

В целом выявлено, что повышение содержания нитрата свинца в организме крыс оказывает неодинаковое влияние на различные формы поведения животных: снижает двигательную активность и повышает тревожное поведение в условиях слабого и умеренного стресса, однако, может снижать тревожность при сильном стрессе. Также показано отсутствие существенного влияния нитрата свинца на депрессивное состояние животных при умеренном и сильном стрессе. Возможно, что наблюдаемые изменения поведения могут происходить и у людей, в организме которых по тем или иным причинам произошло накопление нитрата свинца.

**Список литературы**

1. Ибрагимова Э.Э. Экологическая и фитотоксическая оценка загрязнения сельскохозяйственных почв Крыма пестицидами и солями тяжёлых металлов / Э.Э. Ибрагимова, Д.В. Балчишева, Э.Р. Алиев // *Экология та ноосферология*. – 2006. – Т. 17, № 1-2. – С. 113-121.
2. Лапшин В.Б. Тяжёлые металлы, алюминий и мышьяк в аэрозолях Атлантического, Северного Ледовитого океанов и европейских морей России / В.Б. Лапшин, М.А. Чичаева, И.С. Матвеева [и др.] // *Исследовано в России*. – 2010. – Т. 14. – С. 393-403.
3. Лоева І.Д. Сучасний екологічний стан Чорного та Азовського морів / І.Д. Лоева, І.Г. Орлова, М.Ю. Павленко // *Причорном. екол. бюл.* – 2008. – Т. 30, № 4. – С. 26-36.
4. Романов А.С. Влияние физико-химических характеристик донных осадков на распределение микроэлементов на примере бухт Севастополя (Чёрное море) / А.С. Романов, Н.А. Орехова, О.Г. Игнатъева [и др.] // *Экология моря*. – 2007. – Вып. 73. – С. 85-90.
5. Себах Л.К. Современный уровень загрязнённости западной части Азовского моря / Л.К. Себах, Т.М. Панкратова, Т.М. Авдеева [и др.] // *Труды Южного НИИ морского рыбного хозяйства и океанографии*. – 1998. – Т. 44, № 1. – С. 78-82.
6. World Health Organisation. Inorganic and organic lead compounds / World Health Organisation, International Agency for Research of Cancer // *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. – 2006. – Vol. 87. – P. 16.
7. Greenwood N.N. Chemistry of the elements / N.N. Greenwood / Oxford : Butterworth-Heinemann, 1997. – 456 p.
8. Залата О.А. Корреляционные взаимоотношения характеристик ЭЭГ и содержания ряда микро- и макроэлементов (свинец, стронций, кальций) в организме детей 12-13 лет, проживающих в экокризисных регионах Украины / Залата О.А., Евстафьева Е.В., Трибрат А.Г. [и др.] // *Нейрофизиология / Neurophysiology*. – 2010. – Т. 42, № 5. – С. 442-450.
9. Евстафьева Е.В. Сравнительная оценка нейротропности следовых элементов в организме детей, проживающих в промышленных городах Украины / Е.В. Евстафьева, О.А. Залата, И.А. Евстафьева [и др.] // *Нейрофизиология / Neurophysiology*. – 2011. – Т. 43, № 3. – С. 290-292.
10. Carpenter D.O. Effects of metals on the nervous system of humans and animals / D.O. Carpenter // *Int. J. Occup. Med. Environ. Health*. – 2001. – Vol. 14, № 1. – P. 123-130.
11. Давыдова С.Л. Тяжёлые металлы как супертоксиканты XXI века / С.Л. Давыдова, Тагасов В.И. – М. : Изд-во Рос. ун-та дружбы народов, 2002. – 140 с.
12. Мудрый И.В. Тяжёлые металлы в окружающей среде и их влияние на организм / И.В. Мудрый, Т.К. Короленко // *Врачебное дело*. – 2002. – № 5/6. – С. 6-9.
13. Falkous J. Effect of neurotoxic metal ions in vitro on proteolytic enzyme activities in human cerebral cortex / J. Falkous, Harris J.B., Mantle D. // *Clin. Chim. Acta* – 1995. – Vol. 238, № 2. – P. 125-135.
14. Lidsky T.L. Lead neurotoxicity in children basic mechanisms and clinical correlates / T.L. Lidsky, J.S. Schneider // *Brain*. – 2003. – Vol. 126, № 2. – P. 5-19.
15. Mamei O. Neurotoxic effect of lead at low concentrations / O. Mamei, M.A. Caria, F. Metis // *Brain Res. Bul.* – 2001. – Vol. 55, № 2. – P. 269-275.
16. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. / Буреш Я.,

- Бурешова О., Хьюстон Дж. – М. : Высшая школа, 1991. – 399 с.
17. Калуев А.В. Роль ГАМК в патогенезе тревоги и депрессии / А.В. Калуев // *Нейронауки*. – 2006. – Т. 2, № 4. – С. 29-41.
  18. Исмаилова Х. Ю. Индивидуальные особенности поведения: (моноаминергические механизмы) / Х.Ю. Исмаилова, Т.М. Агаев, Т.П. Семёнова. – Баку: Нурлан, 2007. – 228 с.
  19. Калуев А.В. Нейротропные эффекты бензилпенициллина в экспериментальных моделях стресса у крыс: дис. канд. биол. наук: 03.00.13 : Калуев Алан Валерьевич. – К., 2002. – 150 с.
  20. Лапин И.П. Нейрохимическая мозаика тревоги и индивидуализация психофармакологии / И.П. Лапин // *Тревога и обсессии*. – М. : Изд. РАМН, 1998. – С. 12-20.
  21. Лапин И.П. Уменьшение частоты выглядываний из темного отсека – единственный постоянный показатель влияния анксиогенов на поведение мышей в камере «свет-темнота» / И.П. Лапин // *Журн. высш. нерв. деят.* – 1999. – Т. 49, № 3. – С. 521-526.
  22. Porsolt R.D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments / R.D. Porsolt, M. Le Pinchon, M. Jalfre // *Nature*. – 1977. – Vol. 266, № 5604. – P. 730-732.
  23. Гаркави Л.Х. Антистрессорные реакции и активационная терапия / Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С. – М.: Имедис, 1998. – 566 с.
  24. Кравцов А.А. Пренатальное воздействие ацетата свинца на антиоксидантную глутатионовую систему головного мозга новорожденных крысят *in vivo* и на нейритный рост *in vitro* / А.А. Кравцов, А.Я. Шурыгин, Л.В. Шурыгина [и др.] // *Нейрохимия*. – 2009. – Т. 26, № 3. – С. 225-231.
  25. Black R.S. Influence of silver, mercury, lead, cadmium, and selenium on glutathione peroxidase and transferase activities in rats / R.S. Black, P.D. Whanger, M.J. Tripp // *Biol. Trace Elem. Res.* – 1979. – Vol. 1, № 4. – P. 313-324.
  26. Flora F.G. Reversal of lead-induced neuronal apoptosis by chelation treatments in rats: role of reactive oxygen species and intracellular Ca<sup>2+</sup> / F.G. Flora, G. Saxena, A. Mentha // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2007. – Vol. 322, № 1. – P. 108-116.
  27. Lim S.Y. Lead exposure and (n-3) fatty acid deficiency during rat neonatal development after liver, plasma, and brain polyunsaturated fatty acid composition / S.Y. Lim, J.D. Doherty, N. Salem // *J. Nutr.* – 2005. – Vol. 135, № 5. – P. 1027-1033.
  28. Osipenko O.N. Lead ions close steady-state sodium channels in *Helix* neurons / O.N. Osipenko, J. Györi, T. Kiss // *Neurosci.* – 1992. – Vol. 50, № 5. – P. 483-489.
  29. Alvarez J. Inhibition of Ca<sup>2+</sup>-dependent K<sup>+</sup> channels by lead in one-step inside-out vesicles from human cell membranes / J. Alvarez, J. García-Sancho, B. Herreros // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1986. – Vol. 857, № 2. – P. 291-294.
  30. Стародумов В.Л. Дефицит нутриентов как возможное условие развития интоксикации, вызванной воздействием малых доз свинца / В.Л. Стародумов // *Гигиена и санитария*. – 2003. – № 3. – С. 60-62.
  31. Чекунова М.П. Роль конкуренции металлов с ионами кальция в механизме токсического специфического действия / М.П. Чекунова, Н.А. Минкина // *Гигиена и санитария*. – 1989. – №3. – С. 67-69.
  32. Simons T.J. Cellular interactions between lead and calcium / T.J. Simons // *Br. Med. Bul.* – 2006. – Vol. 442. – P. 877-878.
  33. Effect of combined lead and cadmium exposure: changes in schedule-controlled responding and in dopamine, serotonin, and their metabolites / J.R. Nathon, G.D. Frye, J. von Stultz [et al.] // *Behav. Neurosci.* – 1989. – Vol. 103, № 5. – P. 1108-1114.
  34. Struzynska L. The effect of lead on dopamine, GABA and histidine spontaneous and KCl-dependent releases from rat brain synaptosomes / L. Struzynska, U. Rafalowska // *Acta Neurobiol. Exp. (Wars)*. – 1994. – Vol. 54, № 3. – P. 201-207.
  35. Cupo M.A. Effect of lead and niacin on growth and serotonin metabolism in chicks / M.A. Cupo, W.E. Donaldson // *J. Nutr.* – 1988. – Vol. 118, № 1. – P. 117-113.
  36. Рихальський О.В. Блокування іонами свинцю ацетилхолініндукованих струмів у нейронах верхнього шийного ганглія щура / О.В. Рихальський, О.Е. Пурнинь, В.Ю. Маслов // *Нейрофізіологія / Neurophysiology*. – 2004. – Т. 36, № 1. – С. 87-88.
  37. Пурнинь Е.Э. Действие ионов свинца на синаптические ответы нейронов симпатического ганглия крысы / Е.Э. Пурнинь, И.Н. Ремизов, О.В. Рихальський [и др.] // *Нейрофізіологія /*

- Neurophysiology. – 2001. – Т. 33, № 5. – С. 329-334.
38. Журавлёв В.Ф. Токсичность нитратов и нитритов / В.Ф. Журавлёв, М.М. Цапков // Гигиена и санитария. – 1983. – № 1. – С. 60-69.
39. Лановенко О.Г. Екологічна оцінка впливу нітратів і нітритів у продуктах харчування на організм людини / О.Г. Лановенко, С.Ю. Івонінська // Науковий вісник МДУ ім. В.О. Сухомлинського. – 2009. – Т. 24, № 4 (1). – С. 141-143.
40. Zuch C.L. Low-level lead exposure selectively enhances dopamine overflow in nucleus accumbens: an in vivo electrochemistry time course assessment / C.L. Zuch, D.J. O Mara, D.A. Cory-Slechta // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 1998. – Vol. 150, № 1. – P. 174-185.

**Коренюк І.І. Вплив нітрату свинцю на поведінку щурів. / І.І. Коренюк, Т.В. Гамма, І.В. Черетась, О.В. Катюшина, Д.Р. Хусаїнов, А.М. Ляміна, С.І. Джапарова, Е.Т. Ісмаїлова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 4. – С. 130-137.**

У стрес-тестах різної аверсивності показано, що після введення тваринам нітрату свинцю протягом тижня в дозі 100 мг/кг відбувається пригнічення локомоторної активності щурів, збільшення рівня їх тривожності при слабкому і помірному стресі, а при сильному - навпаки, зниження. У той же час не виявлені істотні зміни депресивної поведінки при помірному та сильному стресі. Розглянуті можливі механізми психотропної дії нітрату свинцю.

**Ключові слова:** свинець, поведінка, депресія, тривожність.

**Korenjuk I.I. Influence of lead nitrate on behaviour of rats / I.I. Korenyuk, T.V. Gamma, I.V. Cheretayev, O.V. Katyushina, D.R. Husainov, A.M. Lyamina, S.I. Dgaparova, E.T. Ismailova // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No 4. – P. 130-137.**

In stress-tests with different averssion it is shown that introduction of lead nitrate during a week in a dose 100 mgs/kg by the animal take place oppressing their locomotor activity, increase of their anxiety level at weak and moderate stress and at strong, - vice versa, decline. At the same time the reliable changes of the the depressed behavior are not educed at moderate and strong stress. The possible mechanisms of lead nitrate psychotropic action are considered.

**Keywords:** lead, behavior, depression, anxiety.

*Поступила в редакцію 15.11.2011 г.*