

Н.Л. Якимова, Л.М. Соседова

**ДОФАМИН-ЗАВИСИМОЕ НАРУШЕНИЕ ПОВЕДЕНИЯ БЕЛЫХ КРЫС С ИНТОКСИКАЦИЕЙ СУЛЕМОЙ В ТЕСТЕ ЭКСТРАПОЛЯЦИОННОГО ИЗБАВЛЕНИЯ**

Ангарский филиал ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН – НИИ медицины труда и экологии человека (Ангарск)

В работе представлены результаты обследования белых крыс в тесте экстраполяционного избавления (ТЭИ) после воздействия сулемой и введения препарата мадопар-125 с предшествующим воздействием сулемой. Целью работы явилось сравнительное изучение поведения в ТЭИ у белых крыс с интоксикацией сулемой и при воздействии препарата мадопар-125 на фоне сулемовой интоксикации. В исследовании использовали метод ТЭИ, позволяющий изучить когнитивные способности животного в стрессовой ситуации. Результаты обрабатывались с применением пакета программ Statistica 6.0 с использованием непараметрического критерия Манна – Уитни. Сулема вводилась в физиологическом растворе в дозе 2 мг/кг подкожно в течение 3 дней. Затем через 3 дня после окончания воздействия сулемой особям одной группы за 60 минут до тестирования внутривнутрибрюшинно вводили физиологический раствор. Крысам второй группы за 60 минут до тестирования вводили внутривнутрибрюшинно препарат мадопар-125, который суспендировали в 0,9 % NaCl с добавлением твина-80 в дозе 125 мг/кг в объеме 0,6 мл/100 г массы животного. Животные контрольной группы в том же режиме получали физиологический раствор. Выявлено, что через 4 дня после окончания введения белым крысам сулемы у подопытных животных, по сравнению с интактными, происходило значимое увеличение количества аверсивных реакций. После воздействия сулемой почти третья часть белых крыс не поднырнула под край цилиндра. У подопытных крыс увеличивалась средняя и суммарная длительность иммобилизации, в то время как средняя продолжительность карабканий на стенки цилиндра снизилась. Латентный период первого движения резко возрастал как после токсического воздействия, так и после введения препарата мадопар-125 крысам с интоксикацией сулемой, по сравнению с контрольными животными. Введение препарата мадопар-125 у особей с сулемовой интоксикацией полностью нарушало поведение избавления, ни одно животное не поднырнуло под край цилиндра. У белых крыс с введением мадопара-125 значительно увеличилось общее время карабканий на стенки цилиндра, по сравнению с особями, подвергнутыми сулемовой интоксикации без введения препарата. Кроме того, у данных крыс значительно увеличилось число, а также средняя и суммарная длительность аверсивных реакций в виде прыжков, по сравнению с контрольной группой и с особями после воздействия сулемой без фармакологического воздействия.

**Ключевые слова:** белые крысы, сулема, мадопар-125, тест экстраполяционного избавления

**DOPHAMINE-DEPENDENT DISORDER OF CONDUCT OF ALBINO RATS WITH SUBLIMATE INTOXICATION IN THE TEST OF EXTRAPOLATION DELIVERANCE**

N.L. Yakimova, L.M. Sosedova

Institute of Occupational Health &amp; Human Ecology ESSC HE SB RAMS, Angarsk

The article presents the results of the examination of albino rats in the test of extrapolation deliverance (TED) after sublimate intoxication and madopar-125 injection with previous sublimate intoxication. The aim of the work was comparative study of conduct of albino rats with sublimate intoxication and at the influence of madopar-125 in combination with sublimate intoxication in TED. We used TED method in the research that allows to study cognitive abilities of an animal in stress situation. The results were processed with software package Statistica 6.0 with use of non-parametric Mann – Whitney parameter. Sublimate was introduced subcutaneously in form of physiological solution in dose 2 mg/kg during 3 days. In 3 days after ending of sublimate explosion we introduced physiological solution to the rats of the first group 60 minutes before testing and the rats of the second group had intraperitoneal introduction of madopar-125 that was suspended in 0,9 % NaCl with 125 mg/kg tween-80 in dose 0,6 ml/100 g of animal's body weight. Animals of control group had physiological solution in the same regimen. It was revealed that in 4 days after the ending of sublimate introduction to albino rats experimental animals in comparison with intact ones had significant increase of number of aversive reactions. After sublimate explosion almost one third of albino rats didn't dive under cylinder's edge. In experimental rats average and total duration of immobilization increased while average duration of clambering on cylinder's walls decreased. Latent period of first movement increased sharply both after toxic influence and after introduction of madopar-125 to the rats with sublimate intoxication in comparison with control animals. Introduction of madopar-125 to the rats with sublimate intoxication completely disturbed conduct of deliverance: no animals dove under cylinder's edge. Albino rats with madopar-125 introduction had significant increase of clambering on cylinder's walls in comparison with animals exposed by sublimate without madopar-125 introduction. Besides the number, average and total duration of aversive reactions in form of jumps in comparison with control group and with rats after sublimate explosion without pharmacological influence significantly increased.

**Key words:** albino rats, sublimate, madopar-125, test of extrapolation deliverance

В числе приоритетных направлений многие годы остаются исследования токсических эффектов неорганических соединений ртути, поскольку ртуть, являясь глобальным загрязнителем и обладая выраженными кумулятивными и нейротоксичными свойствами, продолжает

использоваться во многих отраслях промышленности и в быту. Дихлорид ртути (сулема) как эталонный представитель неорганических соединений ртути, является опасным веществом, способным вызвать нарушения функционального состояния ЦНС [10].

На территории Иркутской области находится крупный химический комбинат ОАО «Усольехимпром», где в цехе по производству винилхлорида, начиная с 1996 г., наблюдалось появление в анализируемых пробах воздуха повышенных уровней сулемы, превышающих предельно допустимые значения в 3,3 раза. Наиболее высокая загрязненность сулемой воздуха производственных помещений наблюдалась в 2002 году, когда около 9 % отобранных проб превышали нормативные значения, а среднее содержание хлорида ртути составляло  $0,47 \pm 0,006$  мг/м<sup>3</sup>. В отдельные года максимально-разовая концентрация сулемы достигала 0,77 мг/м<sup>3</sup> [7].

Критериями ранних признаков опасного воздействия неблагоприятных производственных факторов являются психологические и психофизиологические показатели функционального состояния ЦНС. Исследования [8, 9] показали, что у лиц, работающих в контакте с соединениями ртути, в функциональном состоянии ЦНС преобладали тормозные процессы.

Поэтому с целью выявления ранних признаков нарушений функционирования ЦНС так важно изучение когнитивных способностей животных.

Тест экстраполяционного избавления (ТЭИ), разработанный и модифицированный Н.А. Бондаренко (1980, 1981), предназначен для изучения когнитивных функций грызунов в условиях острого стресса и позволяет оценить: индивидуальные различия когнитивного стиля решения задачи (поиска пути избавления из острой стресс-ситуации); влияние фармакологически-активных веществ на нарушение когнитивных функций, вызванное L-DOPA, апоморфином, фенамином и т.д. [1, 3, 6].

ТЭИ отражает влияние веществ на познавательные функции и способность к принятию решения для избавления из нестандартной ситуации. L-диоксифенилаланин (L-DOPA) — леводопа, входящая в состав препарата мадопар-125, является предшественником дофамина и агонистом дофаминовых рецепторов. По данным Н.А. Бондаренко (1985), препарат мадопар-125 в дозе 125 мг/кг вызывает у крыс полную утрату способности к экстраполяционному избавлению в ТЭИ [5].

**Цель работы:** сравнительное изучение поведения в ТЭИ у белых крыс с интоксикацией сулемой и при воздействии препарата мадопар-125 на фоне сулемовой интоксикации.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 24 беспородных белых крысах-самцах массой 180–220 г (исследования одобрены комитетом по биомедицинской этике ВСНЦ СО РАМН). Эксперимент проводили с соблюдением принципов гуманного обращения с экспериментальными животными (Приказ МЗ СССР № 755, Приложение 4 от 12.08.1977 г.). Содержание, уход и кормление животных регламентировались санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспе-

риментально-биологических клиник (вивариев) (Правила по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей (Европейская конвенция, Страсбург, 1986)). Умерщвление животных проводилось методом декапитации в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными приказом МЗ СССР от 12.08.1977 г.

Отбор животных проводили по сходному уровню эмоционально-поведенческой реактивности, неспособных к избавлению в ТЭИ крыс исключали из эксперимента.

ТЭИ выбран нами как чувствительный метод для выявления нарушений когнитивных способностей у крыс. Для тестирования животных в ТЭИ необходимо наличие воды 22 °С, цилиндр должен быть погружен в воду на 2,5 см. Крыса помещается во внутрь прозрачного цилиндра хвостом вниз. Время тестирования — 2 минуты.

Оценивали показатели: латентный период двигательной активности, латентный период подныривания под край цилиндра, число и длительность аверсивных реакций в форме карабканий и прыжков внутри цилиндра.

Белым крысам контрольной группы ( $n = 8$ ) вводили подкожно 0,9% NaCl. Нейроинтоксикацию сулемой моделировали у особей ( $n = 16$ ) путем подкожного введения сулемы в сублетальной дозе из расчета 2 мг на 1 кг массы (расчет по ртути) в физиологическом растворе ежедневно в течение 3 дней. Обследовали всех животных на 4-й день после окончания введения сулемы. Животных с нейроинтоксикацией сулемой разделили на 2 группы. Особям одной группы за 60 минут до тестирования внутрибрюшинно вводили 0,9% NaCl. Крысам второй группы также за 60 минут до тестирования вводили внутрибрюшинно препарат мадопар-125, который суспендировали в 0,9% NaCl с добавлением твина-80, в дозе 125 мг/кг в объеме 0,6 мл/100 г массы животного. Животные контрольной группы в том же режиме получали физиологический раствор.

Полученные данные обрабатывались с применением пакета Statistica 6.0 с использованием непараметрического критерия Манна — Уитни.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Воздействие сулемой вызывало уменьшение числа животных, совершивших реакцию избавления. До воздействия токсиканта у всех крыс регистрировалось решение задачи в виде экстраполяционного избавления. После воздействия сулемой 28,6 % белых крыс не поднырнули под край цилиндра. При введении мадопара-125 крысам с интоксикацией сулемой поведение избавления отсутствовало у всех животных.

У особей после воздействия сулемой увеличивалась средняя и суммарная продолжительность затаивания при сравнении с контролем ( $p = 0,053$  и  $p = 0,041$ , соответственно) и снижалось среднее время карабканий на стенки цилиндра, по срав-

нению с интактными крысами ( $p = 0,003$ ). После введения мадопара-125 у белых крыс с интоксикацией сулемой значительно возросла суммарная длительность прыжков по сравнению с контрольной группой ( $p = 0,005$ ) и по сравнению с группой затравленных сулемой крыс ( $p = 0,006$ ).

Средняя длительность безуспешных попыток избавления в виде прыжков также статистически значимо была выше у особей с введением препарата мадопар-125, чем у контрольных животных ( $p = 0,017$ ), и по сравнению с крысами с сулемовой интоксикацией без фармакологического воздействия ( $p = 0,051$ ). Следовательно, сулема, как и дофаминопозитивные вещества, снижает число животных, способных к реакции избавления, и увеличивает количество нецелесообразных стереотипных движений. Это согласуется с данными Н.А. Бондаренко (1990) и может объясняться активацией стереотипной гиперактивности в виде безуспешных попыток избегания, вызванной воздействием препарата мадопар-125. Большое число безуспешных попыток избегания у крыс с интоксикацией сулемой и с введением мадопара-125 на фоне интоксикации сулемой в ТЭИ свидетельствуют о повышенной реактивности животных на новизну [2].

Латентный период первого движения был продолжительнее как после токсического воздействия, так и после введения препарата мадопар-125 крысам с интоксикацией сулемой, по сравнению с контрольными белыми крысами ( $p = 0,028$  и  $p = 0,018$  соответственно) (рис. 1).

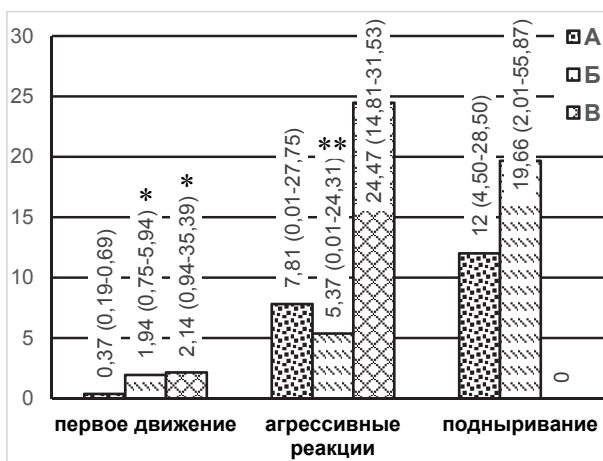


Рис. 1. Латентный период событий у интактных крыс (А), у крыс после воздействия сулемой (Б), у крыс с введением мадопара-125 на фоне интоксикации сулемой (В): \* – различия статистически значимы, по сравнению с контрольной группой, по критерию Манна – Уитни ( $p < 0,05$ ); \*\* – различия статистически значимы между подопытными группами по критерию Манна – Уитни ( $p < 0,05$ ).

Кроме того, у животных с интоксикацией сулемой инъекция мадопара-125 вызвала почти 4-кратное возрастание времени до совершения первых прыжков, по сравнению с аналогичным показателем у крыс без введения лекарства. То есть введение препарата резко понижало скорость ориентировочных реакций животных, попавших в незнакомую аверсивную ситуацию теста. В то время, как длительность латентного периода

Показатели поведения животных с интоксикацией сулемой и с введением мадопара-125 на фоне интоксикации сулемой

Таблица 1

Показатели		Группы животных			p
		Контрольная группа (n = 8)	Сулема (n = 8)	Сулема + мадопар-125 (n = 8)	
Число	аверсивные реакции (карабкание)	4,00 (3,00–64,00)	7,00 (1,00–45,00)	46,00 (18,00–103,00)	$p_1 = 0,701^*$ $p_2 = 0,225^*$ $p_3 = 0,064^\#$
	аверсивные реакции (прыжки)	1,00 (0,01–2,00)	0,00 (0,00–26,00)	38,00 (36,00–79,00)* :#	$p_1 = 0,371^*$ $p_2 = 0,003^*$ $p_3 = 0,012^\#$
Суммарная длительность, сек.	иммобилизация	4,97 (2,99–17,85)	13,13 (10,00–36,13)*	6,17 (4,00–19,73)	$p_1 = 0,041^*$ $p_2 = 0,558^*$ $p_3 = 0,135^\#$
	аверсивные реакции (карабкание)	47,83 (4,44–55,87)	9,63 (5,12–19,12)	61,17 (29,36–96,10)^\#	$p_1 = 0,184^*$ $p_2 = 0,205^*$ $p_3 = 0,038^\#$
	аверсивные реакции (прыжки)	9,32 (2,06–101,00)	6,18 (1,75–12,56)	40,79 (38,46–76,81)* :#	$p_1 = 0,514$ $p_2 = 0,005$ $p_3 = 0,006^\#$
Средняя длительность, сек.	иммобилизация	2,12 (1,50–2,94)	3,75 (2,50–5,06)	3,08 (1,80–6,58)	$p_1 = 0,053^*$ $p_2 = 0,329^*$ $p_3 = 0,556^\#$
	аверсивные реакции (карабкание)	7,24 (4,44–17,06)	2,56 (2,31–4,94)*	4,89 (3,18–7,39)	$p_1 = 0,003^*$ $p_2 = 0,341^*$ $p_3 = 0,113^\#$
	аверсивные реакции (прыжки)	1,38 (0,81–2,57)	1,73 (1,06–3,64)	3,96 (2,56–6,81)* :#	$p_1 = 0,369^*$ $p_2 = 0,017^*$ $p_3 = 0,051^\#$

Примечание: \* – различия статистически значимы между животными контрольной группы и группами с воздействием сулемой и после введения мадопара-125 на фоне интоксикации сулемой по критерию Манна – Уитни ( $p < 0,05$ ); # – различия статистически значимы между группой с воздействием сулемой и группой с введением мадопара-125 на фоне интоксикации сулемой ( $p < 0,05$ ).

аверсивных реакций у животных с интоксикацией сулемой не отличалась достоверно значимо от контрольной группы. У крыс с интоксикацией сулемой латентный период подныривания незначительно превышал данный показатель у интактных животных, у особей с введением мадопара-125 акт подныривания отсутствовал.

Введение мадопара-125 вызвало полное нарушение поведения избавления у всех крыс, которое характеризовалось увеличением количества и длительности прыжков и других форм безуспешных попыток к избавлению. Полученные результаты согласуются с данными Н.А. Бондаренко (1985, 1988, 1990) в том, что дофаминопозитивные вещества снижают число животных, способных к реакции избавления, и увеличивают количество нецелесообразных стереотипных движений, попыток избегания [2, 4, 5]. Результаты представлены в таблице 1.

Таким образом, сулема в сублетальной дозе 2 мг/кг привела к существенным нарушениям поведения белых крыс в ТЭИ. Снизилось количество животных, справившихся с задачей и поднырнувших под край цилиндра. Произошло увеличение длительности неподвижности внутри цилиндра, что может объясняться угнетением состояния после воздействия токсиканта. Введение препарата мадопар-125 крысам с интоксикацией сулемой вызывало характерное для данного вещества нарушение поведения, выразившееся в увеличении нецелесообразных стереотипных движений. Повидимому, в данном случае, нарушения поведения обусловлены эффектом мадопара, а не введением сулемы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко Н.А. Депонир. в ВИНТИ. — 1980. — № 2038.
2. Бондаренко Н.А. Избирательное влияние нейрорепрессантов на дофаминзависимое нарушение поведения крыс в тесте экстраполяционного избавления // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 1990. — № 11. — С. 506 — 509.
3. Бондаренко Н.А. Оценка влияния веществ на нарушенное L-ДОФА поведение подныривания в тесте «Экстраполяционное избавление». Исследование психотропного действия комплексного ветеринарного гомеопатического препарата Фоспасим // Фармакология — гомеопатия. — 2011. — С. 95 — 102.
4. Бондаренко Н.А., Мирошниченко И.И., Кудрин В.С. Влияние L-диоксифенилаланина на поведение и метаболизм катехоламинов мозга крыс с различным уровнем эмоционально-поведенческой реактивности // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 1988. — № 8. — С. 168 — 170.
5. Бондаренко Нина А., Бондаренко Н.А. Нарушение поведения крыс, вызванное мадопаром, и его фармакологическая коррекция // Фармакология и токсикология. — 1985. — № 4. — С. 31 — 34.
6. Воронина Т.А., Островская Р.У. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. Р.У. Хабриева. — М.: Медицина, 2005. — С. 308 — 320.
7. Ефимова Н.В., Безгодов И.В. Методические основы организации мониторинга за ртутной опасностью // Мед. труда и пром. экология. — 2005. — № 12. — С. 18 — 22.
8. Колесов В.Г., Андреева О.К., Лахман О.А., Казакова П.В. и др. Психоземональные расстройства в отдаленном периоде хронической ртутной интоксикации // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. — 2003. — № 2. — С. 93 — 95.
9. Лахман О.А., Рукавишников В.С., Катаманова Е.В., Картапольцева Н.В. и др. Нейрофизиологические методы диагностики профессиональных поражений нервной системы (с приложением задач и ответами): Учебное пособие. — Иркутск: РИО ИГИУВ, 2008. — 108 с.
10. Трахтенберг И.М., Коршун М.Н. Ртуть и её соединения в окружающей среде. — Киев: Выща Школа, 1990. — 232 с.
11. Трахтенберг И.М., Коршун М.Н., Козлов К.П. Ртуть как глобальный химический загрязнитель // Токсикологический вестник. — 2006. — № 3. — С. 2-8.

#### Сведения об авторах

**Якимова Наталья Леонидовна** — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории токсикологии Ангарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН — НИИ медицины труда и экологии человека (665827, г. Ангарск, 12а мкр., 3; тел.: 8 (3955) 55-40-79; e-mail: ynl-77@list.ru)

**Соседова Лариса Михайловна** — доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией токсикологии Ангарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН — НИИ медицины труда и экологии человека