

THE INFLUENCE OF ACETYLATION ON THE BEHAVIORAL RESPONSES OF RATS IN CONDITIONS OF LEAD INTOXICATION

Petrynych V.V., Vlasik L.I.

ВПЛИВ ШВИДКОСТІ АЦЕТИЛЮВАННЯ НА СТАН ПОВЕДІНКОВИХ РЕАКЦІЙ У ЩУРІВ ЗА УМОВ СВИНЦЕВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ



**ПЕТРИНИЧ В.В.,
ВЛАСИК Л.І.**

Буковинський
державний медичний
університет,
м. Чернівці

УДК 615.9:546.815/.819:
599.232.4-019

Ключові слова: свинцю
ацетат, швидкість
ацетилювання,
поведінкові реакції.

еред хімічних речовин, які забруднюють об'єкти навколишнього та виробничого середовища, важкі метали та їхні сполуки утворюють значну групу токсикантів. Останнім часом вони, здебільшого, визначають антропогенний вплив на екологічну структуру довкілля і на людину зокрема. ВООЗ та іншими міжнародними організаціями до списку глобальних забруднювачів довкілля віднесено один з найбільш розповсюджених і високотоксичних металів — свинець [1].

Відомо, що ефекти впливу ксенобіотиків залежать від їхньої дози, тривалості дії, статі, віку, особливостей харчування, а також від індивідуальної чутливості організму [2]. Існує припущення, що маркером схильності до дії несприятливих факторів навколишнього середовища, зокрема солей важких металів, є тип ацетилювання [3].

Оцінка функціонального стану нервової системи є необхідною складовою під час проведення токсиколого-гігієнічного експеримен-

ту. Адекватну оцінку стану вищої нервової діяльності тварин дають показники поведінкових реакцій. Вони відображають функціональний стан не лише нервової, а й низки інших систем і органів, що перебувають під безпосереднім контролем центральної нервової системи. Вивчення токсичної дії солей свинцю на організм з дослідженням поведінкових реакцій вже проводилося [4-5], однак без урахування типу ацетилювання, що і зумовило мету нашого дослідження.

Мета: вивчити зміни поведінкових реакцій у щурів з різними типами ацетилювання за умови підгострого впливу свинцю ацетату.

Матеріали і методи досліджень. Експериментальні дослідження проведено на білих конвенційних аутбредних статевозрілих щурах-самцях, яких утримували на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до води та у стабільних умовах віварію. Кількість тварин у статистичній групі становила 6.

Визначали ацетилюючу здатність тварин за допомогою амідопіринового тесту [6]. За кількістю виділеного з сечею N-ацетил-4-аміноантіпірину дослідних тварин було розділено на групи "швидких" та "повільних" ацетиляторів. Підгостру інтоксикацію моделювали шляхом внутрішньочеревного введення свинцю ацетату у дозах 2,5 мг/кг (1/100 ДЛ₅₀) та 15,5 мг/кг (1/16 ДЛ₅₀) протягом 28 діб. Контрольним групам тварин замість свинцю ацетату вводили ізотонічний розчин натрію хлориду (внутрішньочеревно). Евтаназію щурів здійснювали через 24 години після останнього введення речовин шляхом декапітації.

На фоні підгострого впливу свинцю ацетату до початку експерименту та у динаміці інтоксикації (на 7, 14, 21 та 28 добу) у тварин вивчали поведінкові реакції, які є інтегральним показником фізіологічного стану організму та токсичного впливу на нервову систему хімічних сполук.

Для дослідження поведінки тварин у "відкритому полі" використовували майданчик округлої форми (1 м x 1 м) з розміткою квадратів (20 см/20 см) та отвори-нірки. Тва-

ВЛИЯНИЕ СКОРОСТИ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ НА СОСТОЯНИЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ У КРЫС В УСЛОВИЯХ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Петринич В.В., Власик Л.И.

Цель: изучить изменения поведенческих реакций у крыс с различными типами ацетилирования в условиях подострой интоксикации свинца ацетатом.

Методы исследования. Эксперименты проведены на белых конвенционных аутбредных половозрелых крысах. Свинцовую интоксикацию моделировали путем внутрибрюшинного введения животным свинца ацетата в дозах 1/100 ДЛ₅₀ и 1/16 ДЛ₅₀.

Скорость ацетилирования животных определяли с помощью амидопиринового теста. В динамике интоксикации изучали поведенческие реакции у крыс: горизонтальную и вертикальную двигательную активность, норковый рефлекс, эмоциональную реактивность и интегральную поведенческую активность.

Результаты. Установлено, что введение крысам свинца ацетата в дозе 2,5 мг/кг (1/100 ДЛ₅₀) сопровождается угнетением показателей поведенческих реакций с 14 суток эксперимента у "медленных" и "быстрых" ацетиляторов с достижением максимума к концу эксперимента. Увеличение дозы токсиканта до 1/16 ДЛ₅₀ обуславливает более раннее изменение поведенческих реакций: с 7 суток эксперимента у "быстрых" ацетиляторов. Более выраженные изменения показателей поведенческих реакций при интоксикации свинца ацетатом в дозах 1/100 ДЛ₅₀ и 1/16 ДЛ₅₀ к концу эксперимента наблюдались у "быстрых" ацетиляторов.

Ключевые слова: тип ацетилирования, свинца ацетат, поведенческие реакции.

© Петринич В.В., Власик Л.И. СТАТТЯ, 2014.

THE INFLUENCE OF ACETYLATION
ON THE BEHAVIORAL RESPONSES OF RATS
IN CONDITIONS OF LEAD INTOXICATION

Petrynych V.V., Vlasyk L.I.

Bukovinian State Medical University, Chornivtsi

The Objective: to study the changes of behavioral response in rats with different types of acetylation in the subacute intoxication of lead acetate.

Methods. The experiments were conducted on white conventional outbred sexually mature male rats, which were divided into two groups: with "fast" and "slow" type of acetylation by the test with amidopiryn. Subacute intoxication was modeled by intraperitoneal injection of lead acetate to experimental animals at doses of 2,5 mg/kg (1/100 DL₅₀) and 15,5 mg/kg (1/16 DL₅₀) for 28 days. Isotonic solution of sodium chloride (intraperitoneally) was injected to control groups

of animals instead of lead acetate. In the dynamics of intoxication were studied behavioral responses in rats: horizontal and vertical motor activity, mink reflex, emotional reactivity and integrated behavioral activity. **Results.** It is established that the injection of lead acetate in the dose of 2,5 mg/kg (1/100 DL₅₀) is accompanied by inhibition of indicators of behavioral responses from 14 day of the experiment, the "slow" and "fast" acetylators with achievement maximum to the end of the experiment. Increasing the dose of the toxicant to 1/16 DL₅₀ causes early behavioral changes: from 7 days of the experiment in the "fast" acetylation. More expressive changes in indicators of behavioral responses during intoxication of lead acetate in doses 1/100 DL₅₀ and 1/16 DL₅₀ to the end of the experiment were observed in the "fast" acetylators.

Keywords: acetylation type, lead acetate, behavioural reactions.

рину розміщували у центрі поля і візуально реєстрували горизонтальну рухову активність (ГРА) за кількістю перетнутих квадратів, вертикальну рухову активність (ВРА) — "стійки" (рерінг), норковий рефлекс (НР) — за кількістю заглядань у нірки. Вегетативні реакції та емоційність тварин аналізували за кількістю дефекацій — емоційна реактивність (ЕР). Сума даних показників складала інтегральну поведінкову активність (ІПА). Тривалість спостережень за кожною твариною — 3 хвилини.

Дослідження виконані з дотриманням основних положень Ухвали Першого національного конгресу з біоетики "Загальні етичні принципи експериментів на тваринах" (2001 р.), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях (від 18.03.1986 р.), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 р.) і наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. та № 944 від 14.12.2009 р.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили шляхом визначення середніх арифметичних величин (М) та стандартної похибки (m). Оцінку різниці сукупностей вибірки проводили з використанням t-критерію Ст'юдента. Для виявлення наявності та характеру зв'язку між факторами вираховували коефіцієнт рангової кореляції Спірмена (r). Відмінність між вибірками вважалася статистично вірогідною при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Введення ацетату свинцю у дозі 2,5 мг/кг (1/100 DL₅₀) супроводжувалося вірогідним зниженням поведінкових реакцій у щурів з 14 доби експери-

менту. Зокрема, у "повільних" та "швидких" ацетиляторів вірогідно ($p < 0,05$) знизилися по-

казники ГРА (на 12,18% та 8,96% відповідно), ВРА — на 22,81% (у "швидких" ацетиля-

Рисунок 1
Динаміка змін ГРА у щурів при введенні свинцю ацетату у дозі 1/100 DL₅₀

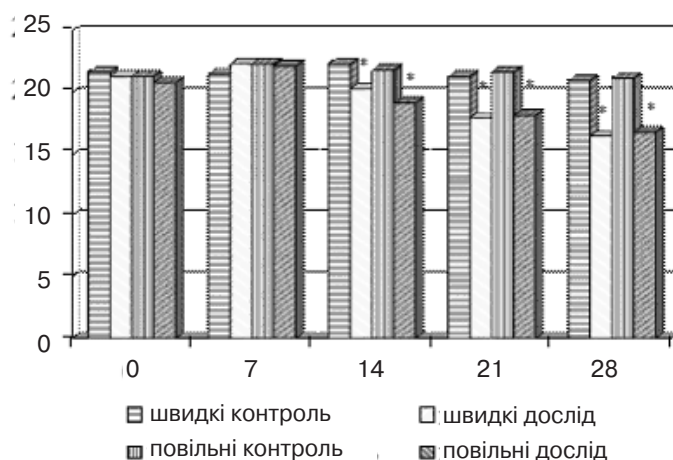
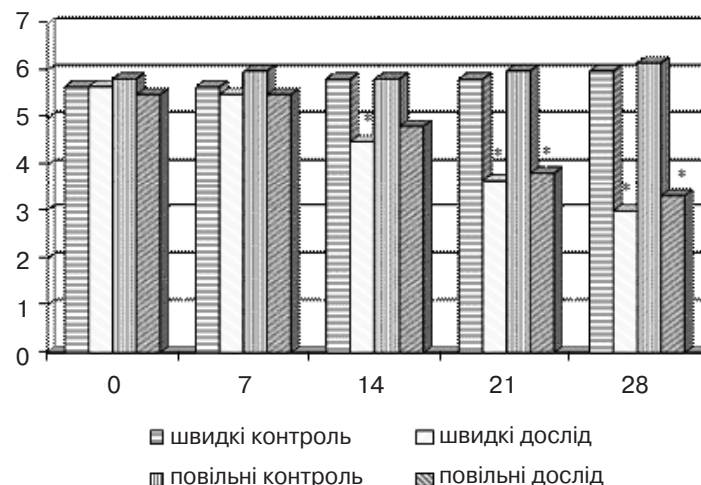


Рисунок 2
Динаміка змін ВРА у щурів при введенні ацетату свинцю у дозі 1/100 DL₅₀



Примітка до рисунків 1-6: * — різниця вірогідна порівняно з показником у групі контролю ($p < 0,05$).

торів) та ІПА (на 11,39% та 8,75% відповідно).

Продовження введення ксенобіотика супроводжувалося подальшим зниженням згаданих показників поведінкових реакцій і досягло свого максимуму до кінця експерименту. Так, показник ГРА на 21 добу експерименту у "повільних" ацетиляторів знизився на 16,15%, у "швидких" — на 15,61%. На 28 добу значення ГРА у "повільних" та "швидких" ацетиляторів знизилося на 20,50% та 22,42% відповідно (рис. 1).

Показник ВРА на 21 добу у тварин з "повільним" типом ацетилювання зменшився на 36,17%, а у щурів з "швидким" типом ацетилювання — на 37,05%. На 28 добу експерименту ВРА у "повільних" та "швидких" ацетиляторів знизилося на 46,03% та 50% відповідно (рис. 2).

Вірогідних змін НР та ЕР при

введенні шурам ацетату свинцю у дозі 1/100 ДЛ₅₀ протягом усього експерименту не спостерігалось.

Показник ІПА після 21-го введення ксенобіотика у "повільних" та "швидких" ацетиляторів знизився на 17,92% та 15,55% відповідно, а на 28 добу експерименту — на 20,17% і 22,5% відповідно (рис. 3). Отже, на 28 добу введення свинцю ацетату у дозі 2,5 мг/кг дещо виразніше зниження поведінкових реакцій (за показниками ГРА, ВРА, ІПА) встановлено у щурів з "швидким" типом ацетилювання.

Зростання дози токсиканта до 1/16 ДЛ₅₀ зумовило більш ранню появу вірогідних змін поведінкових реакцій (з 7 доби експерименту). Так, показники ВРА почали вірогідно зменшуватися вже після 7-кратного введення ацетату свинцю (на 20,63% у "швидких" ацетиляторів порівняно з тваринами контрольної

групи). На 14 добу ВРА знизилася на 37,05% у "повільних" ацетиляторів та на 39,97% — у "швидких". Після 21 доби ВРА знизилася на 47,14% та 54,20% відповідно, сягнувши максимуму зниження (на 59,48% та 63,83%) до кінця експерименту (рис. 4).

ГРА на 14 добу експерименту вірогідно знизилася на 19,83% у "повільних" ацетиляторів та на 22,39% — у "швидких". На 21 добу відзначали зниження ГРА на 23,07% та 24,19%, на 28 добу — на 28,34% та 31,76% відповідно (рис. 5).

НР знизився на 15,65% лише у тварин зі "швидким" типом ацетилювання на 28 добу.

Вірогідних змін ЕР при введенні шурам ацетату свинцю у дозі 1/16 ДЛ₅₀ протягом усього експерименту не спостерігалось.

ІПА після 14-кратного введення ксенобіотика у "повільних" та "швидких" щурів вірогідно знизилася на 17,29% та 20,83% відповідно. До 21 доби експерименту показник ІПА знизився на 23,32% та 24,80% відповідно. На 28 добу експерименту показники ІПА знизилися на 28,16% та 31,67% у тварин з "повільним" та "швидким" типом ацетилювання (рис. 6).

Проведення кореляційного аналізу між швидкістю ацетилювання та показниками поведінкових реакцій у щурів, які отримували ацетат свинцю у дозі 1/16 ДЛ₅₀, показало, що існує сильний зворотний кореляційний зв'язок між швидкістю ацетилювання та ГРА ($r = -0,88$, $p < 0,05$) на 28 день експерименту.

Результати нашого дослідження свідчать, що інтоксикація свинцю ацетатом зумовлює нейроповедінковий дефіцит у щурів. Подібні результати отримані й іншими дослідниками [4-5]. Описано, що при свинцевій інтоксикації уражуються асоціативні функції мозку, у результаті чого змінюються рухова активність, координація рухів, процеси навчання та пам'яті, погіршується просторова орієнтація [7]. Припускають, що можливим механізмом дії важких металів на гальмування активності щурів може бути зумовлене порушенням транспорту натрію та калію через мембрани нейронів [8].

Наявність дещо виразніших змін показників поведінкових реакцій на кінець експерименту у "швидких" ацетиляторів, більш раннє зниження ВРА у щурів зі "швидким" типом ацетилювання (при дозі токсиканта 15,5 мг/кг

Рисунок 3
Динаміка змін ІПА у щурів при введенні ацетату свинцю у дозі 1/100 ДЛ₅₀

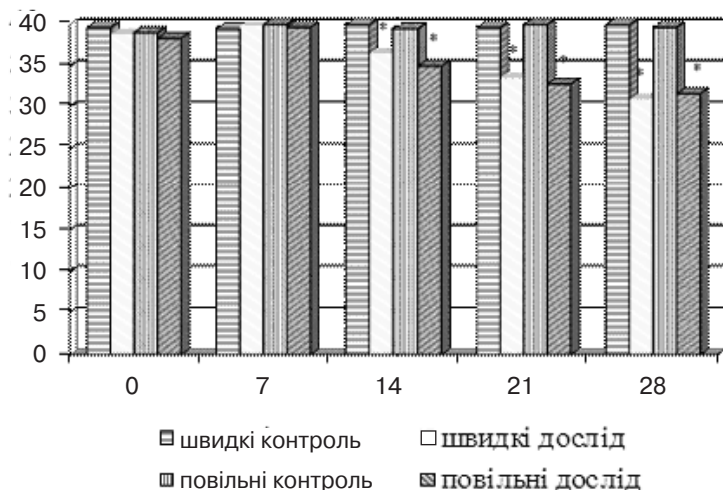
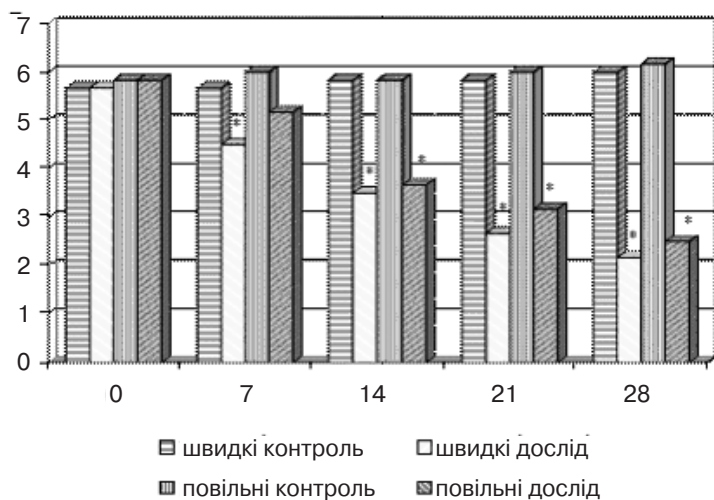


Рисунок 4
Динаміка змін ВРА у щурів при введенні ацетату свинцю у дозі 1/16 ДЛ₅₀



— на 7 добу, при дозі 2,5 мг/кг — на 14 добу, тоді як у "повільних" ацетиляторів — на 14 та 21 добу відповідно), зниження НР тільки у тварин зі "швидким" типом ацетилювання на 28 добу, встановлений вірогідний сильний зворотний кореляційний зв'язок між швидкістю ацетилювання та ГРА на 28 день експерименту можуть свідчити на користь "швидкого" типу ацетилювання як маркера схильності до токсичної дії свинцю ацетату у статевозрілих щурів в умовах підгострої інтоксикації.

Висновки

1. Введення свинцю ацетату супроводжується змінами поведінкових реакцій у статевозрілих щурів: з 14 доби експерименту при введенні свинцю ацетату у дозі 1/100 ДЛ₅₀ та з 7 доби експерименту при зростанні дози токсиканта до 1/16 ДЛ₅₀.

2. Зниження показників поведінкових реакцій є біомаркерами

ефекту шкідливого впливу свинцю ацетату у дозах 2,5 мг/кг (1/100 ДЛ₅₀) та 15,5 мг/кг (1/16 ДЛ₅₀) на статевозрілих щурів в умовах підгострої інтоксикації.

3. Більш раннє зниження ВРА, пригнічення НР, наявність вірогідного сильного зворотного кореляційного зв'язку між швидкістю ацетилювання та ГРА на 28 день експерименту свідчать на користь "швидкого" типу ацетилювання як маркера схильності до токсичної дії свинцю ацетату у статевозрілих щурів в умовах підгострої інтоксикації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Механізми гематотоксичної дії сполук свинцю / О.Л. Апихтіна, Н.М. Дмитруха, А.В. Коцюруба та ін. // Журнал НАМН України. — 2012. — № 1. — С. 100-109.

2. Heavy metal toxicity and the environment / P.B. Tchounwou, C.G. Yedjou, A.K. Patlolla, D.J. Sutton // EXS. — 2012. — Vol. 101. — P. 133-164.

3. Соблирова Ж.Х. Быстрый тип ацетилирования — возможный маркер предрасположенности к заболеваниям органов мочевой системы / Ж.Х. Соблирова, Е.А. Харина // Нефрология и диализ. — 1999. — № 1. — С. 14-17.

4. Дейнека С.Е. Динамика змін поведінкових реакцій у білих щурів при експериментальній свинцевій інтоксикації / С.Е. Дейнека // Современные проблемы токсикологии. — 1999. — № 2. — С. 27-29.

5. Betharia S., Maher T.J. Neurobehavioral effects of lead and manganese individually and in combination in developmentally exposed rats / S. Betharia, T.J. Maher // Neurotoxicology. — 2012. — Vol. 33. — P. 1117-1127.

6. Попов Т.А. Метод оценки активности оксидаз печени / Т.А. Попов, О.Б. Леоненко // Гигиена и санитария. — 1977. — № 9. — С. 56-59.

7. Ударцева Т.П. Механизмы адаптации к совместному воздействию свинца и ограничения движений. — Алматы; 2000. — 226 с.

8. Пренатальное воздействие ацетата свинца на антиоксидантную глутатионовую систему головного мозга новорожденных крыс *in vivo* и на нейритный рост *in vitro* / А.А. Кравцов, А.Я. Шурьгин, Л.В. Шурьгина и др. // Нейрохимия. — 2009. — № 3. — С. 225-231.

REFERENCES

1. Apykhtina O.L., Dmytrukha N.M., Kotsiuruba A.V., Korkach Yu.P., Lubianova I.P. Zhurnal NAMN Ukrainy. 2012; 1: 100-109 (in Ukrainian).

2. Tchounwou P.B., Yedjou C.G., Patlolla A.K., Sutton D.J. EXS. 2012; 101: 133-164.

3. Soblirova Zh.Kh., Kharina E.A. Nefrologiia i dializ. 1999; 1: 14-17 (in Russian).

4. Deineka S.Ye. Sovremennye problemy toksikologii. 1999; 2: 27-29 (in Ukrainian).

5. Betharia S., Maher T.J. Neurotoxicology. 2012; 33: 1117-1127.

6. Popov T.A., Leonenko O.B. Gigena i sanitariia. 1977; 9: 56-59 (in Russian).

7. Udartseva T.P. Mekhanizmy adaptatsii k sovmestnomu vozdeistviu svintsa i ogranicheniia dvizhenii [Mechanisms of adaptation to the combined effects of lead and limitation of movement]. Almaty; 2000: 226 p.

8. Kravtsov A.A., Shurygin A.Ya., Shurygina L.V., Zlishcheva L.I., Abramova N.O., Khaspekov L.G. Neirokhiimia. 2009; 3: 225-231 (in Russian).

Надійшла до редакції 10.05.2014

Рисунок 5
Динаміка змін ГРА у щурів при введенні ацетату свинцю у дозі 1/16 ДЛ₅₀



Рисунок 6
Динаміка змін ІПА у щурів при введенні ацетату свинцю у дозі 1/16 ДЛ₅₀

