

ИЗМЕНЕНИЯ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У КРЫС ПРИ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ, ОТЯГОЩЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННЫМ ГИПОТИРЕОЗОМ

Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований
(Россия, г. Ангарск, 12а мкр., д. 3)

Актуальность. Металлы переносятся стоками от населенных пунктов и промышленных предприятий и накапливаются в отложениях водоемов. Свинец обнаруживается в высокой концентрации в почве сельскохозяйственных земель. Свинец может попадать с водой, морепродуктами, продукцией животноводства и растениями в организм человека. Интоксикация может развиваться у работающих и населения, контактирующих со свинцом. В то же время, гипотиреоз является широко распространенным заболеванием, часто обусловлен проживанием на территориях, эндемичных по дефициту йода в воде и почве. Латентный гипотиреоз может отягощать эффекты воздействия тяжелых металлов у работающих в контакте с ними на производстве.

Цель – изучение изменений поведенческих реакций и морфологических показателей у крыс при свинцовой интоксикации, отягощенной лекарственным гипотиреозом.

Методология. Исследования выполнены на 32 белых беспородных половозрелых крысах-самцах. Свинцовую интоксикацию вызывали ацетатом свинца в дозе 60 мг/кг массы тела в поилках с питьевой водой ежедневно в течение 30 сут. Моделирование гипотиреоза у крыс выполняли с 9-х суток эксперимента, в желудок ежедневно вводили взвесь тиреостатика тирозола в дозе 30 мг/кг в течение 21 сут. Изучение поведенческих реакций у крыс осуществляли по тесту открытое поле, записи обследований обрабатывали с применением программы Real Timer. Для морфологического анализа приготавливали послойные серийные срезы ткани головного мозга и окрашивали по методу Ниссля, визуализацию препаратов срезов проводили с использованием метода обзорной микроскопии.

Результаты и их анализ. При свинцовой интоксикации у животных происходили угнетение ориентировочно-исследовательских и локомоторных реакций и повышение тревожности, которые нарастали при интоксикации в сочетании с гипотиреозом. Гистологический анализ подтвердил на клеточном уровне изменения в головном мозге крыс после воздействия свинца. У них возросло число дегенеративно измененных нейронов и актов нейронафагии, происходил глиоз. В условиях сочетанного действия свинца и тирозола выявлены новые результаты гистологического анализа: увеличение встречаемости погибших нейронов, снижение числа клеток астроглии, чем у животных после воздействия свинца. Это указывает на преобладание необратимых нейродегенеративных процессов в мозге крыс, вызванных комбинированным воздействием металла и тиреостатика.

Заключение. Установлено, что в условиях сочетанного воздействия свинца и тирозола тиреостатик усугублял снижение исследовательской и локомоторной активности и нейродегенеративные процессы в мозге крыс, вызванные влиянием металла.

Ключевые слова: чрезвычайная ситуация, загрязнение окружающей среды, отравление, свинец, гипотиреоз, нервная система, крыса.

Введение

Изучение влияния на организм последствий интоксикации тяжелыми металлами вызывает интерес у ученых. Металлы переносятся стоками от населенных пунктов и промышленных предприятий и накапливаются в отложениях водоемов. Даже следовые количества металлов, попадая в водоемы, могут быть токсичными для людей и экосистем. Свинец обнаруживается в высокой концентрации в почве сельскохозяйственных земель,

когда фермеры смешивают с ней отстой сточных вод промышленных предприятий. Затем свинец попадает по пищевой цепочке с водой, морепродуктами, продукцией животноводства и растениями в организм человека.

Вредное воздействие свинца на здоровье взрослых проявляется в повышении кровяного давления, нарушении деятельности нервной системы, печени, почек, снижении репродуктивной функции. Накопление его в организме приводит к снижению коэффици-

✉ Якимова Наталья Леонидовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. биомоделирования и трансляционной медицины, Вост.-Сиб. ин-т мед.-экол. исслед. (Россия, 665827, г. Ангарск, 12а мкр., д. 3), e-mail: ynl-77@list.ru;

Титов Евгений Алексеевич – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. биомоделирования и трансляционной медицины, Вост.-Сиб. ин-т мед.-экол. исслед. (Россия, 665827, г. Ангарск, 12а мкр., д. 3), e-mail: g57097@yandex.ru

ента интеллекта, ослаблению внимания, потере работоспособности, гиперактивности, расстройству поведения, отставанию в развитии.

Действие даже малых концентраций свинца вызывает нарушения функций периферической нервной системы, что проявляется синдромом начальной полинейропатии вследствие сосудистых расстройств. Преждевременная активация свинцом протеинкиназы С нарушает формирование и функцию микрососудов головного мозга. При высоких уровнях воздействия свинца наблюдались грубые дефекты гематоэнцефалического барьера, которые могут вызвать острую свинцовую энцефалопатию, при которой молекулы, ионы и вода могут беспрепятственно проникать в мозг. Действие свинца на нервную систему различно в зависимости от продолжительности и интенсивности воздействия [11].

Интоксикация может развиваться у работающих и населения, контактирующих со свинцом. Несмотря на то, что случаи производственных интоксикаций свинцом в настоящее время редки, распространены отравления им в быту, экологически обусловленные свинцовые интоксикации. Свинец относится к приоритетным экотоксикантам. Основная задача заключается в изыскании наиболее эффективных методов лечения и предупреждения развития свинцовой интоксикации. В то же время, изменение чувствительности к различным химическим веществам в настоящее время является весьма малоизученной медико-биологической проблемой.

Исследования М.М. Vouyatas и соавт. показали, что длительное воздействие свинца от внутриутробного до взрослого возраста вызывало поведенческие изменения у грызунов, включая гиперактивность по тесту открытое поле и анксиогенные эффекты [10]. Тогда как в работе L. Shvachiy и соавт. доказано, что получение крысами воды, содержащей ацетат свинца в низкой дозе в эмбриональном состоянии и до 28-й недели жизни, вызывало тревожное поведение без изменений двигательной и исследовательской активности [14]. Данные исследований свидетельствуют, что влияние солей свинца на организм изучается достаточно активно. Но, несмотря на многолетние исследования, механизмы токсичности свинца полностью не изучены и представляют большой интерес, актуальной является задача минимизировать последствия свинцовой интоксикации.

Остаются актуальными исследования гипотиреоза, поскольку заболевание распро-

странено во всем мире и, в частности, обусловлено проживанием на территориях, эндемичных по дефициту йода в воде и почве. При дефиците тиреоидных гормонов, которые необходимы для функционирования почти каждой клетки организма, развиваются тяжелые изменения всех органов и систем. Тиреоидные гормоны принципиально важны для нормального развития ЦНС. Тироксин является главной формой гормонов щитовидной железы, поглощаемой мозгом, и от его биодоступности зависит нормальное развитие ЦНС. Достаточный уровень циркулирующих тиреоидных гормонов, в частности тироксина, является решающим для развития и функционирования нервной системы, в условиях умеренного йодного дефицита, даже при отсутствии клинических признаков гипотиреоидного состояния, ЦНС уже испытывает состояние «тиреоидного голода» [5]. Доказано влияние тиреоидных гормонов на деление нейробластов, нейрональную миграцию, созревание и дифференциацию нейронов и олигодендроцитов, пролиферацию нейрональных отростков, формирование цитоскелета астроцитов, выработку нейротрофинов и образование рецепторов к ним, миелинизацию и процессы апоптоза [8]. Показано, что мозговой кровоток, потребление глюкозы и кислорода взрослым мозгом возрастают при гипертиреозе и уменьшаются при гипотиреозе.

В состоянии гипотиреоза у людей замедляется скорость мыслительных процессов, снижаются эмоциональный тонус, память, возможности обучения. Возможно ухудшение когнитивных и поведенческих функций является следствием гипометаболизма. Тиреоидные гормоны оказывают влияние на интенсивность тканевого дыхания и, тем самым, – на величину энергообразования в клетках нервной ткани. При гипотиреозе понижается активность ферментов дегидрогеназ цикла Кребса. В настоящее время полагают, что основной эффект тиреоидных гормонов в ЦНС у взрослых связан с их влиянием на нейромедиаторную передачу [5]. Также выявлено, что экспериментальный гипотиреоз у крыс сопровождается уменьшением концентрации серотонина в коре больших полушарий головного мозга и среднем мозге и увеличением его кругооборота в гиппокампе [9]. Тиреоидные гормоны могут непосредственно влиять на различные функции не только развивающейся нервной системы, но и на нервные процессы у взрослых жи-

вотных и человека. Все это свидетельствует о том, что и в мозге взрослого организма тиреоидные гормоны играют определяющую роль в регуляции многих биохимических процессов. Нарушение содержания или метаболизма этих йодсодержащих гормонов в мозге может быть одной из причин, обуславливающих возникновение когнитивных, двигательных, нейровегетативных, сосудистых, психических и поведенческих расстройств [5].

В исследовании поведенческой активности у крыс при снижении функций щитовидной железы Н.А. Балакирев и соавт. установили, что двигательная активность становится меньше, так как эти животные являются эмоционально неустойчивыми, у них характерна высокая степень тревожности [1]. На фоне нарушения в эмоциональной сфере развивается депрессия. Выраженность депрессии находится в сильной зависимости от возраста у лиц с манифестным гипотиреозом, у лиц среднего возраста депрессия выражена сильнее, и чаще встречается умеренная депрессия [7].

На сегодняшний день единичны экспериментальные работы, посвященные изучению интоксикации тяжелыми металлами в сочетании с гипотиреозом. Поскольку у потенциальных работников, в дальнейшем имеющих контакт с соединениями свинца на производстве, и у населения, подвергающегося воздействию свинца, скрыто протекающий гипотиреоз может изменять чувствительность организма к действию токсиканта, возникает необходимость в обосновании изучения этого направления.

Цель – изучить изменения поведенческих реакций и морфологических показателей у крыс при свинцовой интоксикации, отягощенной лекарственным гипотиреозом.

Материал и методы

Экспериментальные исследования выполняли на базе вивария Восточно-Сибирского института медико-экологических исследований с использованием 32 белых беспородных крыс-самцов половозрелого 3-месячного возраста. Эксперимент проводили, соблюдая принципы гуманного обращения с экспериментальными животными в соответствии с Женевской конвенцией (1990 г.), директивами Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларацией о гуманном отношении к животным. Экспериментальные особи находились в условиях, соответствующих СП 2.2.1.3218–14 по устройству,

оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). На проведение экспериментальных исследований было получено разрешение локального этического комитета (протокол № 32 от 10.09.2019 г.).

Животных содержали в стандартных условиях вивария. Особи были распределены на 4 группы, по 8 в каждой:

– в 1-й группе (контрольные особи) получали 1-процентную крахмальную взвесь в том же режиме и объеме, что и опытные группы;

– во 2-й группе проводили экспозицию ацетатом свинца в поилках с питьевой водой круглосуточно в течение 30 сут. Кроме того, этим же крысам для моделирования гипотиреоза в сочетании со свинцовой интоксикацией, начиная с 9-го дня получения ими ацетата свинца, ежедневно вводили препарат «Тирозол» («Merck Serono», Германия) внутривентрикулярно через зонд в 1-процентной крахмальной взвеси в дозе 30 мг/кг в объеме 1 мл/100 г массы тела на протяжении 21 сут;

– в 3-й группе животных поили только раствором ацетата свинца в условиях, аналогичных для особей 2-й группы. Во 2-й и 3-й группах доза ацетата свинца в пересчете на металл составляла 60 мг/кг массы тела животных;

– в 4-й группе животных с 9-го дня эксперимента ежедневно получали тирозол внутривентрикулярно в 1-процентной крахмальной взвеси в дозе 30 мг/кг в объеме 1 мл/100 г массы тела в течение 21 сут.

На следующие сутки после завершения воздействия экспериментальных животных обследовали по тесту открытое поле, оценивали ориентировочно-исследовательское поведение, вертикальную и горизонтальную локомоторную активность, эмоциональное состояние животных по количеству актов (паттернов) на протяжении 3 мин наблюдения [2]. Для обработки записей использовали Real Timer – базовую программу для планирования и оптимизации эксперимента, визуальной регистрации поведения животных в режиме реального времени или видеозаписи и первичной обработки результатов экспериментов. Учитывали следующие параметры оценки поведения крыс: число событий (актов); суммарную и среднюю длительность событий (с); латентный период первого события (с).

Затем для оценки морфологических изменений после воздействия свинца на фоне гипотиреоза крыс декапитировали под легким эфирным наркозом с извлечением головного мозга для выполнения гистологических ис-

следований. Далее проводили парафиновую заливку головного мозга, приготавливали послойные серийные срезы толщиной 5 мкм ткани головного мозга сенсомоторной коры в височно-теменной и затылочной долях. Для выполнения обзорной микроскопии препараты срезов окрашивали гематоксилином–эозином по методу Ниссля. Визуализировали срезы с помощью светооптического исследовательского микроскопа «Olympus BX 51» («Olympus Co», Япония) при увеличении 400. Ввод микроизображений срезов мозга в компьютер осуществляли при помощи камеры «Olympus» («Olympus Co», Япония).

Полученные данные обрабатывали с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 for Windows (Stats Soft, США). Для сравнения групп использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Его применяли для оценки различий между двумя независимыми выборками по уровню количественных признаков. Условием для применения U-критерия Манна–Уитни являлось отсутствие в сравниваемых группах совпадающих значений признака (все числа – разные) или очень малое число таких совпадений. Результаты статистического анализа представлены в виде медианы и межквартильного интервала $Me [Q_{25}-Q_{75}]$. Достигнутым уровнем значимости различий между группами считали при $p < 0,017$.

Результаты и их анализ

По результатам тестирования экспериментальных крыс были выявлены отличия между группами (табл. 1).

У крыс 2-й группы, получавших тирозол в сочетании с ацетатом свинца, наблюдалось возрастание ($p = 0,010$) числа актов «сидит» по сравнению с его значением у животных 4-й группы. Во 2-й группе у крыс снижалась ($p = 0,018$) средняя длительность актов «груминг» по сравнению с контрольной группой. У особей 3-й группы, подвергавшихся воздействию ацетата свинца, отмечалось повышение частоты выполнения паттернов «стойка с упором» ($p = 0,016$), «локомоции» ($p = 0,016$) на фоне уменьшения средней продолжительности актов «сидит» ($p = 0,007$) по сравнению с показателями у крыс 4-й группы, получавших тирозол. У крыс 4-й группы, имеющих гипотиреоидное состояние, сокращались среднее время ($p = 0,014$) и суммарная длительность ($p = 0,018$) актов «груминг» по сравнению с показателями у животных 1-й группы. В то же время, у этих крыс отмечено укорочение ($p = 0,018$) латентного периода первого события данного акта по сравнению со значением у контрольных особей.

Для изучения морфологических показателей нервной ткани у животных после окончания воздействия выполнено гистологическое исследование. Установлено, что изменения поведения у крыс имели под собой органический субстрат в виде повреждений на клеточном уровне. У особей 2-й группы, получавших тирозол в сочетании с ацетатом свинца, не выявлено изменений кровенаполнения сосудов вещества мозга и сосудистых стенок. Однако количество клеток астроглии у них уменьшалось ($p = 0,012$) по сравнению с показателем у животных 3-й группы (табл. 2).

Таблица 1

Показатели поведенческих реакций у крыс по тесту открытое поле, $Me [Q_{25}-Q_{75}]$

Поведение (акт)	Группа животных			
	1-я	2-я	3-я	4-я
	Число событий, n			
Сидит	12,5 [10,0–16,0]	11,0 [8,0–13,0]	14,0 [12,0–18,0]	10,5 [9,5–12,0]*
Стойка с упором	3,5 [1,5–7,5]	5,0 [3,0–7,5]	5,5 [4,0–7,0]	3,0 [2,5–4,0]°
Локомоции	11,5 [8,5–15,5]	11,0 [6,5–16,0]	14,0 [9,5–16,0]	7,5 [6,0–11,0]°
	Суммарная длительность, с			
Груминг	11,5 [8,5–12,9]	1,9 [0,0–10,6]	7,1 [3,5–8,3]	0,6 [0,0–5,1]
Стойка с упором	5,9 [3,3–15,2]	8,1 [7,4–13,2]	11,2 [7,8–14,0]	6,5 [5,1–8,3]
	Средняя длительность, с			
Сидит	5,9 [5,1–7,2]	5,4 [4,5–9,2]	5,2 [4,1–6,7]	9,6 [7,9–10,9]°
Груминг	5,6 [4,9–6,0]	1,9 [0,0–3,3]	3,5 [2,2–8,3]	0,6 [0,0–2,5]#
Локомоции	5,9 [4,2–8,9]	4,9 [3,9–5,9]	5,3 [4,9–5,6]	6,8 [5,4–7,8]
	Латентный период первого события, с			
Груминг	99,9 [87,7–120,3]	83,9 [0,0–133,8]	107,2 [60,5–136,8]	15,5 [0,0–63,5]
Стойка с упором	49,4 [34,4–68,6]	7,7 [5,5–44,6]	38,2 [23,9–64,2]	77,1 [36,1–90,7]

Здесь и в табл. 2: различия статистически значимы по критерию Манна–Уитни при $p < 0,017$: # с 1-й группой; * со 2-й группой; ° с 3-й группой.

Таблица 2

Морфологические показатели нервной ткани у крыс, Me [Q₂₅-Q₇₅]

Показатель	Группа животных			
	1-я	2-я	3-я	4-я
	Количество на единицу площади – 0,2 мм ²			
Нормальные нейроны	272 [266–273]	169 [165–186] [#]	157 [151–170] [#]	187 [174–191] [#]
Дегенеративно измененные нейроны	1 [0–2]	7,0 [7–8] [#]	8 [7–14] [#]	13 [9–14] [#]
Астроглиальные клетки	206 [205–206]	175 [153–186] [#]	275 [275–280] ^{**}	195 [191–209] [°]
Акты нейронофагии	1 [1–2]	4 [3–7]	8 [6–12] [#]	1 [1–2] [°]

У животных 2-й группы, получавших тирозол и ацетат свинца, было значимо меньше количество нормальных нейронов на единицу площади 0,2 мм² по сравнению с контрольными показателями ($p = 0,012$). У крыс 2-й группы отмечалось меньше астроглиальных клеток по сравнению с животными 1-й ($p = 0,016$) и 3-й группы ($p = 0,010$). Также у этих особей выявлено больше дегенеративно измененных нейронов ($p = 0,012$), чаще встречались акты нейронофагии ($p = 0,019$), чем в контрольной группе. У особей 3-й группы воздействие ацетата свинца не вызывало изменений кровенаполнения сосудов вещества мозга и нарушений сосудистых стенок. В то же время, введение ацетата свинца вызывало у крыс уменьшение ($p = 0,012$) числа нормальных нейронов на единицу площади по отношению к контрольному значению. В ткани головного мозга у животных 3-й группы наблюдался глиоз по сравнению с контрольной группой ($p = 0,012$). Вместе с тем, у крыс 3-й группы, получавших ацетат свинца, число дегенеративно измененных нейронов значительно превышало ($p = 0,012$) контрольное значение. У этих же животных увеличивалось количество актов нейронофагии по сравнению с животными 1-й и 4-й группы ($p = 0,012$ и $p = 0,016$ соответственно). У особей 4-й группы, которым вводили тиреостатик, число нормальных нейронов на единицу площади уменьшалось ($p = 0,012$) по отношению к их количеству у животных контрольной группы. Также у этих крыс дегенеративно измененные нейроны встречались на площади 0,2 мм² чаще ($p = 0,012$), чем в контроле. Кроме того, у животных 4-й группы происходило значительное уменьшение ($p = 0,012$) числа астроглиальных клеток в отличие от значения в 3-й группе.

Обсуждение. Можно полагать, что свинец оказывает анксиогенное действие, по мнению Т.В. Гамма и соавт., в этом случае оказанный сильный стресс может привести к ослаблению контроля коры больших полушарий над подкорковыми структурами. Таким образом, после накопления тяжелого металла в орга-

низме животных происходит повышение уровня тревожности на фоне уменьшения активности [3].

Результаты согласуются с данными исследования L. Shvachiy и соавт. в том, что получение крысами ацетата свинца по 28-ю неделю жизни приводило к тревожному поведению у животных [14]. Кроме того, A. Mousa и соавт. установлено, что пренатальное воздействие свинца приводило к нарушению когнитивного поведения, дефициту памяти у потомства мужского пола в возрасте 2 мес [12]. Повышение частоты выполнения актов «сидит» и «локомоция», но при этом понижение средней длительности этих актов, а также паттерна «груминг» по сравнению со значениями у контрольных особей свидетельствовало о том, что крысы 2-й и 3-й группы испытывали высокий уровень тревожности. При сравнении поведенческих актов у крыс 3-й группы, которым вводили отдельно ацетат свинца, и 4-й группы, получавших отдельно тирозол, можно сделать заключение, что тиреостатик проявлял выраженный тормозной эффект, так как происходило уменьшение событий акта «стойка с упором», снижение средней длительности акта «груминг» относительно 1-й группы крыс. Свинец совместно с тирозолом оказывал еще более выраженное угнетающее действие на поведение животных. У крыс 2-й группы, получавших ацетат свинца и тирозол, уменьшение времени, в среднем затрачиваемого на выполнение паттерна «груминг», обусловлено высоким уровнем тревожности. Снижение у этих крыс продолжительности локомоторной активности свидетельствовало о нарушениях когнитивной деятельности и, как следствие, поведенческой адаптации, вызванных воздействием токсиканта и тиреостатика.

Проведенное гистологическое исследование головного мозга позволило получить новые данные о нейротоксичности свинца при сочетанном воздействии с введением тирозола.

Свинцовая интоксикация вызывала у животных 3-й группы нарастание процессов деге-

нерации и гибели нейронов; подтверждением у них глиоза являлось резкое увеличение количества астроцитов по сравнению с контрольными крысами. По данным S.A. Villa-Cedillo и соавт., хроническое воздействие свинца вызывает нейродегенерацию, демиелинизацию и астроглиоз в спинном мозге крыс [15].

Полученные результаты подтверждаются и другими исследователями, например S. Saleh и соавт., в том, что через 1 мес после 2-месячного воздействия ацетата свинца у взрослых крыс выявлены морфологические изменения в нервных клетках коры головного мозга и лишь частичное восстановление клеток Пуркиньи и гранулярных клеток [13]. В 4-й группе, в которой внутривенно вводили тирозол, число клеток астроглии и количество актов нейронофагии – процесса, отвечающего за утилизацию погибших нейронов, статистически не отличались от нормальных значений, тогда как по сравнению с 3-й группой, получавшей затравку свинцом, наблюдали значительное снижение этих показателей.

Наши результаты согласуются с данными Ф.Х. Камилова и соавт. о выраженных морфологических изменениях в органах при гипотиреозе у крыс после 21-дневного введения тиреостатика в дозе 2,5 мг/100 г массы тела [6]. При введении тирозола в сочетании с ацетатом свинца у крыс происходило резкое снижение количества клеток астроглии, нежели у группы с воздействием свинца, у которой нарастал глиоз. В работе Л.Р. Горбачевой и соавт. показана большая роль астроцитов в ЦНС в регуляции мозговых функций, роста и развития нейронов, а также обеспечения их высокой работоспособности. Пониженное количество клеток астроглии может провоцировать разные патологические изменения в головном мозге [4]. Глиоз, происходящий в ткани головного мозга у крыс 3-й группы, имеющих свинцовую интоксикацию, свиде-

тельствовал о заместительной гиперплазии астроглии в ответ на гибель нейронов, необратимости данных процессов. Нейронофагия была наиболее выражена у особей при свинцовой интоксикации и встречалась в 2 раза чаще, чем во 2-й группе с одновременным получением ацетата свинца и тирозола, однако, и во 2-й группе число актов нейронофагии превышало значения у контрольных крыс и особей 4-й группы с гипотиреоидным состоянием, что подтверждало необратимые процессы гибели нервных клеток.

Заключение

Таким образом, проведенное исследование позволило установить, что у животных при гипотиреозе в сочетании со свинцовой интоксикацией угнетение ориентировочно-исследовательского, локомоторного поведения и повышение тревожности более выражены по сравнению с крысами, имеющими интоксикацию свинцом без наличия гипотиреоза. Гистологический анализ подтверждает изменения в ткани головного мозга при свинцовой интоксикации: увеличение числа дегенеративно измененных нейронов и актов нейронофагии, глиоз. При гипотиреозе в сочетании с отравлением ацетатом свинца в нервной ткани наблюдалось нарастание числа дегенеративных нейронов, нейронофагии, снижение количества клеток астроглии, необратимых нейродегенеративных процессов в сенсорной коре височно-теменного и затылочного отделов головного мозга по сравнению с особями после воздействия свинца.

Риск развития тяжелых осложнений при бытовых и экологически обусловленных свинцовых интоксикациях на фоне гипотиреоза делает актуальной медико-биологическую проблему изучения структуры поведения и морфологических изменений в головном мозге при сочетании этих патологий.

Литература

1. Балакирев Н.А., Дельцов А.А., Максимов В.И. [и др.]. Поведенческая активность крыс при экспериментальном гипотиреозе и его коррекции йодсодержащими препаратами // Рос. сельскохозяйственная наука. 2019. № 1. С. 58–61. DOI: 10.31857/S2500-26272019158-61.
2. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая шк., 1991. 400 с.
3. Гамма Т.В., Катюшина О.В., Коренюк И.И. [и др.]. Модификация поведения крыс при интоксикации организма тяжелыми металлами // Таврический мед.-биол. вестн. 2012. Т. 15, № 1 (57). С. 341–344.
4. Горбачёва Л.Р., Помыткин И.А., Сурин А.М. [и др.]. Астроциты и их роль в патологии центральной нервной системы // Рос. педиатр. журн. 2018. Т. 21, № 1. С. 46–53. DOI: 10.18821/1560-9561-2018-21-1-46-53.
5. Дёмин Д.Б. Эффекты тиреоидных гормонов в развитии нервной системы (обзор) // Журн. мед.-биол. исслед. 2018. № 2. С. 115–127. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2018.6.2.115.
6. Камиллов Ф.Х., Ганеев Т.И., Козлов В.Н. [и др.]. Выбор способа применения и дозы тиамазола для моделирования гипотиреоза у лабораторных крыс // Биомедицина. 2018. № 1. С. 59–70.

7. Синицына Ю.В., Котова С.М., Точилев В.А. Распространенность депрессии при гипотиреозе // Вестн. Сев.-Зап. гос. мед. ун-та им. И.И. Мечникова. 2015. Т. 7, № 3. С. 108–112.
8. Ambrogini P., Cuppini R., Ferri P. Thyroid Hormones Affect Neurogenesis in the Dentate Gyrus of Adult Rat // *Neuroendocrinology*. 2005. Vol. 81, N 4. P. 244–253. DOI: 10.1159/000087648.
9. Ashraf S., Ahmed A. Effects of Cadmium (Cd) and Lead (Pb) on the Structure and Function of thyroid gland // *African Journal of Environmental Science and Technology*. 2009. N 4. P. 78–85. DOI: 10.5897/AJEST08.157.
10. Bouyatas M.M., Abbaoui A., Gamrani H. Neurobehavioral effects of acute and chronic lead exposure in a desert rodent *Meriones shawi*: Involvement of serotonin and dopamine // *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 2019. Vol. 102. Art. 101689. DOI: 10.1016/j.jchemneu.2019.101689.
11. Briffa J., Sinagra E., Blundell R. Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans // *Heliyon*. 2020. Vol. 6, N 9. e04691. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e04691.
12. Mousa A.M.A., Elshahat M.A., Renno W.M. Effect of developmental lead exposure on neurogenesis and cortical neuronal morphology in Wistar rats // *Toxicology and Industrial Health*. 2018. Vol. 34, N 10. P. 665–678. DOI: 10.1177/0748233718781283.
13. Saleh S., Meligy F. Study on Toxic Effects of Lead Acetate on Cerebellar Cortical Tissue of Adult Albino Rats and the Role of Vitamin E as a Protective Agent // *Ain Shams Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology*. 2018. N 31. P. 110–118. DOI: 10.21608/ajfm.2018.15884.
14. Shvachiy L., Gerald V., Amaro-Leal A., Rocha I. Intermittent low-level lead exposure provokes anxiety, hypertension, autonomic dysfunction and neuroinflammation // *Neurotoxicology*. 2018. N 69. P. 307–319. DOI: 10.1016/j.neuro.2018.08.001.
15. Villa-Cedillo S.A., Nava-Hernández M.P., Saucedo-Cárdenas O. [et al.]. Neurodegeneration, demyelination, and astrogliosis in rat spinal cord by chronic lead treatment // *Cell Biology International*. 2019. Vol. 43, N 6. P. 706–714. DOI: 10.1002/cbin.11147.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией статьи.
Поступила 26.10.2020 г.

Участие авторов: Н.Л. Якимова – концепция, дизайн исследования, создание экспериментальных моделей, выполнение затравок, изучение поведения лабораторных животных, обработка, анализ результатов, написание статьи; Е.А. Титов – забор материала, выполнение морфологических исследований, обработка, анализ результатов, написание статьи.

Для цитирования. Якимова Н.Л., Титов Е.А. Изменения поведенческих и морфологических показателей у крыс при свинцовой интоксикации, отягощенной лекарственным гипотиреозом // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. 2021. № 1. С. 89–96. DOI: 10.25016/2541-7487-2021-0-1-89-96

Behavioural and morphological changes in rats with lead poisoning aggravated by medicinal hypothyroidism

Yakimova N.L., Titov E.A.

Eastern-Siberian Institute of Medical and Ecological Research (3, 12a distr., Angarsk, 665827, Russia)

✉ Natalya Leonidovna Yakimova – PhD Biol. Sci., Senior Research Associate, Laboratory of biomodeling and translational medicine, Eastern-Siberian Institute of Medical and Ecological Research (3, 12a distr., Angarsk, 665827, Russia), e-mail: ynl-77@list.ru

Evgeny Alekseevich Titov – PhD Biol. Sci., Senior Research Associate, Laboratory of biomodeling and translational medicine, Eastern-Siberian Institute of Medical and Ecological Research (3, 12a distr., Angarsk, 665827, Russia), e-mail: g57097@yandex.ru

Abstract

Relevance. Metals are transported by run-off from human settlements and industrial plants and accumulate in the sediments of water bodies. Lead is found in high concentrations in the soil of agricultural land. Lead can be transported with water, seafood, animal products and plants to humans. Poisoning may occur in workers and in the population in contact with lead. At the same time, hypothyroidism is a widespread disease, often due to living in areas of endemic iodine deficiency in water and soil. Latent hypothyroidism can aggravate occupational effects of heavy metals in exposed workers.

Intention. To study behavioural and morphological changes in rats with lead poisoning aggravated by medicinal hypothyroidism.

Methodology. 32 albino outbred adult male rats were studied. Lead poisoning was induced by lead acetate at a dose of 60 mg/kg body weight in drinking water tanks for 30 days. Hypothyroidism in rats was induced from the ninth day of the experiment with daily injections of thyrozol (thyroid static substance) at a dose of 30 mg/kg for 21 days. Behavioral responses in rats were studied using open field tests, and survey records were processed using Real Timer. For morphological analysis, layered serial cuts of brain tissue were prepared and painted using the Nissl method, and slides were visualized via observation microscopy.

Results and Discussion. Under lead poisoning, animals demonstrated decreased locomotor and exploration activity and increased anxiety with increasing intoxication combined with hypothyroidism. Changes in the rat brain after exposure to lead were confirmed histologically: increased neuron degeneration, neuronophagia and glyosis. New histological data were obtained in case of lead-thyrozol combination: increased neuronal death, decreased number of astroglial cells compared to animals exposed to lead only. This suggests predominant irreversible neurodegeneration due to combined effects of lead poisoning and thyroidstatic exposure.

Conclusion. Under combined exposure to lead and thyrozol, the thyroidstatic substance exacerbated decline in locomotor and exploration activity as well as lead-associated neurodegenerative processes in the rat brain.

Keywords: emergency, ecology, environmental pollution, poisoning, lead, hypothyroidism, nervous system, rat.

References

- Balakirev N.A., Deltsov A.A., Maksimov V.I. [et al.]. Povedencheskaja aktivnost' krysa pri jeksperimental'nom gipotireoze i ego korrrekcii jodsoderzhashchimi preparatami [Behavioral activity of rats in experimental hypothyroidism, and its correction with iodine-containing preparations]. *Rossijskaja sel'skohozjajstvennaja nauka* [Russian Agricultural Sciences]. 2019. N 1. Pp. 58–61. DOI: 10.31857/S2500-26272019158-61. (In Russ.)
- Buresh Ja., Bureshova O., H'juston D.P. Metodiki i osnovnye jeksperimenty po izucheniju mozga i povedenija [Techniques and basic experiments in the study of brain and behavior]. Moskva. 1991. 400 p. (In Russ.)
- Gamma T.V., Katyushina O.V., Korenyuk I.I. [et al.]. Modifikacija povedenija krysa pri intoksikacii organizma tjazhelymi metallami [Modification of rat behavior during intoxication with heavy metals]. *Tavriceskiy Mediko-Biologiceskiy Vestnik*. 2012. Vol. 15, N 1. Pp. 341–344. (In Russ.)
- Gorbacheva L.R., Pomytkin I.A., Surin A.M. [et al.]. Astrocity i ih rol' v patologii central'noj nervnoj sistemy [Astrocytes and their role in the pathology of the central nervous system] *Rossijskij pediatričeskij zhurnal* [The Russian journal of pediatrics]. 2018. Vol. 21, N 1. Pp. 46–53. DOI: 10.18821/1560-9561-2018-21-1-46-53. (In Russ.)
- Demin D.B. Jeffekty tireoidnyh gormonov v razvitii nervnoj sistemy (obzor) [Effects of thyroid hormones in the development of the nervous system (review)]. *Zhurnal mediko-biologiceskih issledovanij* [Journal of Medical and Biological Research]. 2018. N 2. Pp. 115–127. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2018.6.2.115. (In Russ.)
- Kamilov F.H., Ganeyev T.I., Kozlov V.N. [et al.]. Vybora sposoba primenenija i dozy tiamazola dlja modelirovanija gipotireoza u laboratornyh krysa [The choice of a method of application and dosage of thiamazole for modeling hypothyroidism in laboratory rats]. *Biomedicina* [Biomedicine]. 2018. N 1. Pp. 59–70. (In Russ.)
- Sinitcina Ju.V., Kotova S.M., Tochilov V.A. Rasprostranennost' depressii pri gipotireoze [Prevalence of depression in patients with hypothyroidism]. *Vestnik Severo-Zapadnogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta imeni I.I. Mechnikova* [Herald of the Northwestern state medical university named after I.I. Mechnikov]. 2015. Vol. 7, N 3. P. 108–112. (In Russ.)
- Ambrogini P., Cuppini R., Ferri P. Thyroid Hormones Affect Neurogenesis in the Dentate Gyrus of Adult Rat. *Neuroendocrinology*. 2005. Vol. 81, N 4. Pp. 244–253. DOI: 10.1159/000087648.
- Ashraf S., Ahmed A. Effects of Cadmium (Cd) and Lead (Pb) on the Structure and Function of thyroid gland. *African Journal of Environmental Science and Technology*. 2009. N 4. Pp. 78–85. DOI: 10.5897/AJEST08.157.
- Bouyatas M.M., Abbaoui A., Gamrani H. Neurobehavioral effects of acute and chronic lead exposure in a desert rodent *Meriones shawi*: Involvement of serotonin and dopamine. *Journal of Chemical Neuroanatomy*. 2019. Vol. 102. Art. 101689. DOI: 10.1016/j.jchemneu.2019.101689.
- Briffa J., Sinagra E., Blundell R. Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*. 2020. Vol. 6, N 9. e04691. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e04691.
- Mousa A.M.A., Elshahat M.A., Renno W.M. Effect of developmental lead exposure on neurogenesis and cortical neuronal morphology in Wistar rats. *Toxicology and Industrial Health*. 2018. Vol. 34, N 10. Pp. 665–678. DOI: 10.1177/0748233718781283.
- Saleh S., Meligy F. Study on Toxic Effects of Lead Acetate on Cerebellar Cortical Tissue of Adult Albino Rats and the Role of Vitamin E as a Protective Agent. *Ain Shams Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology*. 2018. N 31. Pp. 110–118. DOI: 10.21608/ajfm.2018.15884.
- Shvachiy L., Gerald V., Amaro-Leal A., Rocha I. Intermittent low-level lead exposure provokes anxiety, hypertension, autonomic dysfunction and neuroinflammation. *Neurotoxicology*. 2018. N 69. Pp. 307–319. DOI: 10.1016/j.neuro.2018.08.001.
- Villa-Cedillo S.A., Nava-Hernández M.P., Saucedo-Cárdenas O. [et al.]. Neurodegeneration, demyelination, and astrogliosis in rat spinal cord by chronic lead treatment. *Cell Biology International*. 2019. Vol. 43, N 6. Pp. 706–714. DOI: 10.1002/cbin.11147.

Received 26.10.2020

For citing. Yakimova N.L., Titov E.A. Izmeneniya povedencheskikh i morfologiceskikh pokazateley u krysa pri svintsovoy intoksikacii, otyagoshchennoj lekarstvennym gipotireozom. *Mediko-biologiceskie i sotsial'no-psikhologiceskie problemy bezopasnosti v chrezvychajnykh situatsiyakh*. 2021. N 1. Pp. 89–96. (In Russ.)

Yakimova N.L., Titov E.A. Behavioural and morphological changes in rats with lead poisoning aggravated by medicinal hypothyroidism. *Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations*. 2021. N 1. Pp. 89–96. DOI: 10.25016/2541-7487-2021-0-1-89-96