УДК 616.153.915-092:599.324.4

Н.Л. Якимова, В.А. Вокина

ХАРАКТЕР ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ, ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ И СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА ФОНЕ ГИПЕРЛИПИДЕМИИ У БЕЛЫХ КРЫС

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», Ангарск, Россия

В тесте экстраполяционного избавления не справились с задачей 70,59 % особей с интоксикацией на фоне липидной нагрузки против 45 % в группе с воздействием свинца. ЭКГ крыс с экспозицией свинцом после атерогенной диеты характеризовалась тахикардией и удлинением интервалов внутрижелудочковой проводимости. Нарушения липидного обмена проявлялись повышением уровня холестерина ЛПНП у крыс со свинцовой интоксикацией на фоне гиперлипидемии до 0,86 (0,69–1,14) ммоль/л, по сравнению со данным показателем (0,67 (0,58–0,79) ммоль/л) у животных с интоксикацией свинцом.

Ключевые слова: *свинец, гиперлипидемия, электрокардиография, поведение, крысы*

NATURE BEHAVIORAL RESPONSES, LIPID PROFILE AND STATE OF CARDIOVASCULAR SYSTEM IN LEAD INTOXICATION MODELLING ON THE BACKGROUND OF HYPERLIPIDEMIA IN ALBINO RATS

N.L. Yakimova, V.A. Vokina

East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, Russia

The article describes the comparative study of the effect of lead intoxication in healthy animals and in terms of modelled hyperlipidemic condition on lipid metabolism, ECG performance, behavior in the test of the extrapolation of deliverance. The study was performed on 40 albino outbred adult male rats. Modeling hyperlipidemic condition was carried out daily by feeding natural unsalted fat at the rate of 8 grams per animal for 16 days. Lead intoxication was created after the atherogenic diet by adding lead acetate into drinking water in a dose of 50 mg/kg of body weight for 4 weeks. To investigate the lipid metabolism was measured in serum total cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol, LDL cholesterol. In the test of extrapolation deliverance 70 % of animals with lead intoxication on the lipid load background did not cope with the task versus 40 % of albino rats in the group with lead acetate exposure alone. All control animals successfully solved the problem of the deliverance test. The deterioration of the functioning of the cardiovascular system of rats with lead poisoning on the background of atherogenic diet was manifested by elongation of intraventricular conduction intervals on an electrocardiogram as compared with animals with lead intoxication alone. Disorders of lipid metabolism were manifested by increased levels of LDL cholesterol in rats with lead intoxication on the background of hyperlipidemia to 0.86 (0.69–1.14) mmol/l compared with the value of 0.67 (0.58–0.79) mmol/l in animals with lead intoxication.

Key words: *lead, hyperlipidemia, electrocardiography, behavior, rats*

ВВЕДЕНИЕ

Проблема атеросклероза признана одной из самых актуальных в настоящее время. Фактором риска развития атеросклероза является нарушение липидного обмена в организме [9]. Население РФ, имеющее метаболические нарушения, в том числе уже с детского возраста, представляет трудовой потенциал и может контактировать с производственными токсикантами. Однако остаётся неизученным формирование и развитие интоксикаций на фоне имеющихся нарушений обмена веществ в организме, что является чрезвычайно важным для улучшения эффективности профилактических мероприятий, раннего диагностирования нарушений здоровья работающих.

В настоящее время производственно обусловленная свинцовая интоксикация сменилась экологически обусловленной патологией. В то же время, по данным Росстата, количество выбросов свинца и его неорганических соединений (в пересчёте на свинец) от стационарных источников загрязнения атмосферы в РФ не снижается (в 2014 г. – 88 893 т, в 2013 г. – 93 710 т). Многие населённые пункты РФ входят в перечень с умеренно опасной категорией загрязнения почв свинцом по наблюдениям за 2007–2014 гг. [6]. Далее токсикант по пищевой цепи из почвы попадает в организм человека. По данным В.С. Кошкиной с соавт. (2013), максимальная зависимость концентрации свинца в крови детей от содержания его в продуктах питания наметилась в возрастные периоды от 2 до 3 и от 6 до 7 лет, что связано с высоким общим обменом веществ в эти периоды онтогенеза и повышенной абсорбцией свинца в ЖКТ [3]. В России примерно у 1,9 млн детей содержание свинца в крови может превышать 9,9 мкг/дл. В наиболее загрязнённых городах Красноуральск, Белово и Саратов в 30–65 % случаев содержание свинца в крови детей превышает 10 мкг/дл [7]. Вместе с тем накопление свинца свыше 10 мкг/дл в крови детей и свыше 8–9 мкг/г в волосах вызывает анемию, снижение интеллектуальных возможностей, частые респираторные заболевания, нарушение со стороны сердечно-сосудистой системы [11]. Кроме того, негативные последствия обнаруживаются и в отдалённом периоде после воздействия свинца в раннем возрасте [4].

Экспериментальные работы по изучению воздействия на организм химического фактора с атерогенной нагрузкой немногочисленны.

В связи с этим **целью работы** явилось моделирование у белых крыс свинцовой интоксикации на фоне гиперлипидемии с оценкой состояния сердечно-сосудистой системы, показателей липидного обмена и поведения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводили на 40 половозрелых беспородных белых крысах-самцах. Животные содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде. Исследования проведены с соблюдением требований Европейской конвенции (Страсбург, 1986). При выведении животных из эксперимента руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утверждёнными приказом МЗ СССР от 12.08.1977. Животные были разделены на четыре группы по 10 особей в каждой. Для создания модели нарушения липидного обмена животных опытной группы (n = 10) дополнительно к стандартному рациону ежедневно на протяжении 16 дней вскармливали несолёным свиным салом в натуральном виде. В исследовании мы опирались на прототип модели атеросклероза, предложенный В.И. Гарец с соавт. (1993) [8]. Модификация состояла в том, что в нашей работе нагрузка жирами в целом была выше: ежедневно каждое животное получало по 8 г сала, тогда как в прототипе нагрузка была неравномерной (3–8 г), кроме того продолжительность диеты увеличена с 7 до 16 дней. На следующий день после окончания диеты всем животным были проведены нагрузочные тесты для создания нагрузки на сердечно-сосудистую систему (ССС). Для этого всех животных иммобилизировали в вертикальном положении на 2,5 ч в «домиках» с целью гидростатического накопления тканевой жидкости в брюшном отделе аорты и развития стресса. Затем в качестве функциональной нагрузки для формирования брадикардии опытной группе (n = 10) четырёхкратно с интервалом 15 мин вводили внутрибрюшинно обзидан в дистиллированной воде из расчёта 1 мг на 100 г массы [8], а особям контрольной группы (n = 10) – дистиллированную воду. Контрольные животные находились в аналогичных условиях, но без вскармливания салом. Свинцовую интоксикацию моделировали сразу после окончания атерогенной диеты путём запаивания ацетата свинца с питьевой водой в дозе 50 мг/кг массы тела (по свинцу) в течение 4 недель. Животные 3-й группы получали раствор ацетата свинца после прекращения высокожировой диеты.

Способность нахождения выхода из стрессовой ситуации оценивалась в тесте экстраполяционного избавления (ТЭИ) по количеству поднырнувших под край цилиндра крыс в течение 2 мин.

ЭКГ-графию выполняли во II стандартном отведении с помощью ветеринарного кардиографа «Поли-Спектр 8/В» («Нейрософт», г. Иваново). Анализ ЭКГ проводился автоматически по отрезку «чистого» участка записи продолжительностью 10 с с применением программного обеспечения «Поли-Спектр». Интерпретация результатов ЭКГ проведена по методикам Мартина М (2012) [5].

Животных декапитировали под лёгким эфирным наркозом спустя 8 дней после окончания воздействия. В сыворотке крови определяли содержание общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) и холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) с помощью фотометрического метода, согласно протоколам, предложенным производителем, с использованием реагентов «Витал» (г. Санкт-Петербург).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета Statistica 6.1 (StatSoft) (лицензия № AXXR004E642326FA) с применением непараметрического метода Краскела – Уоллиса и критерия Манна – Уитни. Проверка на нормальность распределения признаков проводилась с помощью критерия Колмогорова – Смирнова.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В стрессовой ситуации 70,59 % особей группы со свинцовой интоксикацией на фоне нагрузочной гиперлипидемии не поднырнули под край цилиндра ТЭИ. Среди животных с интоксикацией свинцом с задачей не справились 45,00 %, тогда как у всех контрольных белых крыс попытки избавления являлись успешными. Полученные результаты могут свидетельствовать о нарушениях поведения животных при свинцовой интоксикации и об их усугублении гиперлипидемическим состоянием. Нарушения поведения проявились в когнитивных нарушениях, которые, по данным клинических исследований, становятся выраженными при поражении атеросклерозом церебральных и коронарных сосудов [10].

При анализе ЭКГ выявлено, что у крыс 3-й группы развивалась тахикардия, частота ЧСС превышала таковую как по сравнению с контрольными особями (p = 0,001), так и относительно животных 2-й группы (p = 0,03).

Деятельность желудочков сердца у белых крыс 2-й и 3-й групп характеризовалась значительным удлинением интервала внутрижелудочковой проводимости QRS (p = 0,002) и продолжительности механической систолы (QTc), по сравнению с контролем (p = 0,027 и p = 0,001 соответственно). Кроме того, в 3-й группе происходило значительное увеличение времени механического сокращения миокарда желудочков (QT) (p = 0,005), электрическая ось сердца отклонилась влево (p = 0,09). У белых крыс 4-й группы также наблюдалось увеличение QRS-комплексов и отклонение электрической оси сердца влево.

В таблице 1 представлен липидный профиль экспериментальных животных.

Непосредственно после окончания обогащённой жирами диеты у белых крыс 4-й группы нарушения липидного обмена проявились в повышении содержания в сыворотке крови ТГ до 1,05 (0,72–1,21) ммоль/л, по сравнению со значением контрольной группы 0,38 (0,28–0,45) ммоль/л (p = 0,001). По результатам исследования А.П. Барсукова с соавт. (2007), повышенный уровень ТГ свидетельствует о высоком риске развития сердечно-сосудистых заболеваний [1].

После создания модели свинцовой интоксикации на фоне гиперлипидемии у белых крыс происходило

Таблица 1

Показатели липидного обмена в сыворотке крови белых крыс, Me (LQ–UQ)

Показатели, ммоль/л	Группы животных			
	1-я группа, контроль (*n* = 10)	2-я группа, ацетат свинца (*n* = 10)	3-я группа, атерогенная диета + ацетат свинца (*n* = 10)	4-я группа, атерогенная диета (*n* = 10)
Холестерин	1,56 (1,22–1,79)	1,53 (1,53–1,79)	1,44 (1,24–1,53)	1,83 (1,55–2,01)
Триглицериды	0,38 (0,28–0,45)	0,74 (0,66–1,02)*	0,28 (0,21–0,49)°	0,84 (0,65–1,10)
Холестерин ЛПВП	1,14 (0,98–1,33)	0,65 (0,62–0,73)*; #	0,34 (0,24–0,46)*; °	1,29 (1,09–1,45)
Холестерин ЛПНП	0,18 (0,11–0,16)	0,67 (0,58–0,79)*; #	0,86 (0,69–1,14)*; °	0,20 (0,13–0,32)

Примечание: * – различия между опытными и контрольной группами статистически значимы при $p < 0,008$; ° – различия между 3-й и 4-й группами статистически значимы при $p < 0,008$; # – различия между 2-й и 4-й группами статистически значимы при $p < 0,008$.

снижение уровня ТГ, по сравнению с данным показателем группы с интоксикацией ацетатом свинца (p = 0,017) и группы после атерогенной диеты (p = 0,005). Также у животных 3-й группы относительно 2-й группы имелась тенденция к возрастанию содержания ХС ЛПНП (p = 0,08). Кроме того, выявлено значительное снижение уровня ХС ЛПВП (p = 0,002) при резком повышении количества ХС ЛПНП (p = 0,002) у крыс с интоксикацией на фоне атерогенного рациона, по сравнению с группой, находившейся на обогащённой жирами диете. Таким образом, спустя месяц после прекращения вскармливания животных салом у особей со свинцовой интоксикацией на фоне гиперлипидемического состояния липиды крови перераспределились в сторону увеличения атерогенной фракции ХС ЛПНП, что является крайне неблагоприятным прогностическим признаком.

Что касается функционального состояния сердца, то увеличение ЧСС и продолжительности внутрижелудочковой проводимости, наблюдавшееся у крыс со свинцовой интоксикацией, согласуется с результатами Г.Е. Верич (1984) в том, что воздействие соединений свинца вызывало учащение сердечного ритма, ухудшение внутрижелудочковой проводимости у крыс [2]. Об отягощающем влиянии гиперлипидемии на течение свинцовой интоксикации свидетельствовало нарастание аритмии, нарушение внутрижелудочковой проводимости в виде укорочения среднего расстояния между QRS-комплексами, продолжительности сокращения миокарда желудочков в виде удлинения интервала QTc.

Таким образом, гиперлипидемическое состояние вызывало у белых крыс усугубление последствий свинцовой интоксикации в форме ухудшения когнитивных способностей, патологических изменений липидного обмена и сердечно-сосудистых нарушений относительно животных, затравленных свинцом.

Созданная модель свинцовой интоксикации на фоне гиперлипидемии позволит изучать механизмы действия на организм факторов химической природы на фоне метаболических нарушений, а также оценивать эффективность лечения его последствий.

ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES

1. Барсуков А.П., Антонов А.Р. Особенности липидного профиля и показателей массы тела взрослого населения на территории компактного проживания коренных жителей республики Саха (Якутия) // Актуальные вопросы здравоохранения регионов Сибири: матер. науч.-практ. конф. молодых учёных. – Красноярск, 2007. – Вып. 6. – С. 251–253.

Barsukov AP, Antonov AR (2007). Features of lipid profile and body mass indices of adult population in the territory of compact residence of indigenous inhabitants of the Republic of Sakha (Yakutia) [Osobennosti lipidnogo profilya i pokazateley massy tela vzroslogo naseleniya na territorii kompaktnogo prozhivaniya korennykh zhiteley respubliki Sakha (Yakutiya)]. *Aktual'nye voprosy zdravookhraneniya regionov Sibiri: materialy nauchno-prakticheskoy konferentsii molodykh uchenykh*, (6), 251-253.

2. Верич Г.Е. Влияние уксуснокислого свинца на системное артериальное давление и показатели ЭКГ // Врачебное дело. – 1984. – № 5. – С. 112–114.

Verich GE (1984). Effect of acetic lead on the systemic arterial pressure and ECG values [Vliyanie uksusnokislogo svintsa na sistemnoe arterial'noe davlenie i pokazateli EKG]. *Vrachebnoe delo*, (5), 112-114.

3. Кошкина В.С., Котляр Н.Н., Котельникова Л.В., Долгушина Н.А. Клинико-токсикологическая характеристика свинца и его соединений // Медицинские новости. – 2013. – № 1. – С. 20–25.

Koshkina VS, Kotlyar NN, Kotelnikova LV, Dolgushina NA (2013). Clinical and toxicological characteristics of plumbum and its compounds [Kliniko-toksikologicheskaya kharakteristika svintsa i ego soedineniy]. *Meditsinskie novosti*, (1), 20-25.

4. Кулкыбаев Г.А., Намазбаева З.И., Мукашева М.А. Принцип гигиенической оценки городской среды в системе эколого-гигиенического мониторинга (обзор литературы) // Здоровье и болезнь. – Алматы, 2005. – № 9. – С. 4–8.

Kulkybaev GA, Namazbaeva ZI, Mukasheva MA (2005). The principle of hygienic assessment of the urban environment in the environmental and health monitoring system (review of literature) [Printsip gigienicheskoy otsenki gorodskoy sredy v sisteme ekologo-gigienicheskogo monitoringa (obzor literatury)]. *Zdorov'e i bolezn'*, (9), 4-8.

5. Мартин М. Руководство по электрокардиографии мелких домашних животных / Под ред. А.И. Зориной. – М.: Аквариум Принт, 2012. – 144 с.

Martin M (2012). Guidelines on electrocardiography of small animals [Rukovodstvo po elektrokardiografii melkikh domashnikh zhivotnykh], 144.

6. О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2014 году: Государственный доклад. – М.; 2015.

On the state and protection of the environment in the Russian Federation in 2014. State report (2015) [O sostoyanii i ob okhrane okruzhayushchey sredy Rossiyskoy Federatsii v 2014 godu: Gosudarstvennyy doklad].

7. Ревич Б.А. Об особенностях эколого-эпидемиологического изучения специфических экологически обусловленных изменений состояния здоровья населения // Гигиена и санитария. – 2001. – № 5. – С. 49–53.

Revich BA (2001). On the peculiarities of ecological and epidemiological study of specific environment-related changes in health status of the population [Ob osobennostyakh ekologo-epidemiologicheskogo izucheniya spetsificheskikh ekologicheski obuslovlennykh izmeneniy sostoyaniya zdorov'ya naseleniya]. *Gigiena i sanitariya*, (5), 49-53.

8. Способ моделирования атеросклероза: Патент № 2033646 Рос. Федерация; МПК G09B23/28 / Гарец В.И., Федченко Н.П., Конча Л.И.; заявители Гарец В.И., Федченко Н.П., Конча Л.И.; патентообладатель Гарец В.И. – № 93032126/14; заявл. 07.07.1993; опубл. 20.04.1995.

Garets VI, Fedchenko NP, Koncha LI (1995). Method of atherosclerosis modelling: Patent 2033646 of the Russian Federation [Sposob modelirovaniya ateroskleroza: Patent № 2033646 Ros. Federatsiya].

9. Титов В.Н. Общность атеросклероза и воспаления: специфичность атеросклероза как воспалительного процесса (гипотеза) // Российский кардиологический журнал. – 1999. – № 5. – С. 48–56.

Titov VN (1999). Commonability of atherosclerosis and inflammation: specificity of atherosclerosis as an inflammatory process (hypothesis) [Obshchnost' ateroskleroza i vospaleniya: spetsifichnost' ateroskleroza kak vospalitel'nogo protsessa (gipoteza)]. *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal*, (5), 48-56.

10. Шпрах В.В., Саютина С.Б., Ромазина Т.А., Михалевич И.М. Прогнозирование развития когнитивных нарушений у больных сочетанным атеросклерозом церебральных и коронарных артерий // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – № 6. – С. 57–59.

Shprakh VV, Sayutina SB, Romazina TA, Mikhalevich IM (2011). Predicting the development of cognitive disorders in patients with combined atherosclerosis of cerebral and coronary arteries [Prognozirovanie razvitiya kognitivnykh narusheniy u bol'nykh sochetannym aterosklerozom tserebral'nykh i koronarnykh arteriy]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*, (6), 57-59.

11. WHO (2007). Level of lead in children's blood.

Сведения об авторах
Information about the authors

Якимова Наталья Леонидовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» (665827, г. Ангарск, 12а микрорайон, 3; тел.: 8 (3955) 55-40-79; e-mail: tox_lab@mail.ru)
Yakimova Natalya Leonidovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer of the Laboratory of Biological Modeling and Translational Medicine of East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research (665827, Angarsk, 12a microdistrict; tel.: +7 (3955) 55-40-79; e-mail: tox_lab@mail.ru)

Вокина Вера Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» (e-mail: vokina.vera@gmail.com)
Vokina Vera Aleksandrovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer of the Laboratory of Biological Modeling and Translational Medicine of East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research (e-mail: vokina.vera@gmail.com)