

УДК 615.9

ИЗМЕНЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ СВИНЦА НА ФОНЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ И ЭФФЕКТ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ НА ЦЕНТРАЛЬНУЮ НЕРВНУЮ СИСТЕМУ КРЫС

Рябова Ю.В.^{1,3}, Кунгурцева А.К.¹, Петрунина Е.М.¹, Никогосян К.М.¹, Клинова С.В.¹, Минигалиева И.А.^{1,3}, Сутункова М.П.^{1,2}

¹ ФБУН «Екатеринбургский медицинский-научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора

² ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

³ ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, безопасной дозы свинца не существует, даже малые его концентрации могут оказывать негативный эффект на нервную систему. Следовательно, актуальной становится задача повышения резистентности организма к негативному воздействию этого тяжелого металла.

Цель исследования: оценка воздействия свинца изолированно и на фоне физической нагрузки на центральную нервную систему крыс, а также снижение этого вредного действия с помощью мер биологической профилактики.

Материалы и методы. Интоксикация моделировалась 6-недельным повторным внутрибрюшинным воздействием ацетата свинца на самцов белых крыс в разовой дозе 11 мг/кг массы тела. В качестве физической нагрузки выступал вынужденный бег на тредмиле со скоростью 25 м/мин (10 мин/день, 5 дней/неделю). Часть животных получала с питьем и кормом биопрофилактический комплекс, подобранный исходя из различных механизмов действия свинца на организм. По окончании экспозиционного периода проводили поведенческие тесты, косвенно характеризующие состояние центральной нервной системы животных, и оценивали гистоморфометрические показатели головного мозга (зоны СА1, СА2, СА3 гиппокампа крыс).

Результаты. Физическая нагрузка влияла на свинцовую интоксикацию неоднозначно, где-то усиливая и где-то ослабляя ее, что было продемонстрировано изменением поведенческих и гистоморфометрических параметров гиппокампа крыс зон СА1, СА2, СА3. Положительный эффект биопрофилактического комплекса наблюдался в тестах «Открытое поле с норками» и «Темно-светлая камера», а также по следующим показателям: в зонах СА2 и СА3 нормализовалась площадь ядра нейронов, в зонах СА2 и СА3 снизилась доля нейронов с потерей ядрышка в ядре, во всех исследуемых зонах гиппокампа снизилась доля дегенеративно-измененных нейронов.

Заключение. Показан защитный эффект биологической профилактики против вредного действия свинца на фоне физической нагрузки на структуру головного мозга. Такая мера может служить инструментом управления риском возникновения патологических состояний центральной нервной системы у экспонированного населения.

Ключевые слова: свинец, интоксикация, мышечные нагрузки, нейротоксичность, центральная нервная система, биопрофилактика, биопрофилактический комплекс.

Для цитирования: Рябова Ю.В., Кунгурцева А.К., Петрунина Е.М., Никогосян К.М., Клинова С.В., Минигалиева И.А., Сутункова М.П. Изменение действия свинца на фоне физической нагрузки и эффект биологической профилактики на центральную нервную систему крыс. Медицина труда и экология человека. 2024; 2:191-210.

Для корреспонденции: Рябова Юлия Владимировна, заведующий лабораторией научных основ биологической профилактики ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП, ryabovayuvl@yandex.ru.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24412/2411-3794-2024-10213>

CHANGES IN HEALTH EFFECTS OF LEAD EXPOSURE CAUSED BY EXERCISE AND THE IMPACT OF BIOLOGICAL PROPHYLAXIS ON RATS' CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Ryabova Yu.V.^{1,3}, Kungurtseva A.K.¹, Petrunina E.M.¹, Nikogosyan K.M.¹, Klinova S.V.¹, Minigalieva I.A.^{1,3}, Sutunkova M.P.^{1,2}

¹Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection among Industrial Workers, Yekaterinburg, Russia

²Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

³The Yeltsin Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

Introduction. According to the World Health Organization, the no-observed-adverse-effect-level of lead is nonexistent and even its small concentrations can negatively affect the nervous system. Consequently, the task of increasing the body resistance to harmful effects of this heavy metal becomes urgent.

The **purpose** of our study was to assess the effects of lead, alone and in combination with exercise, on the central nervous system of rats and to reduce its detrimental impact using means of biological prophylaxis.

Materials and methods. Toxicity was modeled by 6-week repeated intraperitoneal instillation of lead acetate to male albino rats at a single dose of 11 mg/kg body weight. Forced treadmill running at a speed of 25 m/min (10 min/day, 5 days/week) was included in the experiment as exercise. Some of the animals received a bioprophylactic complex composed given various mechanisms of effect of lead with feed and drink. At the end of the exposure period, we conducted behavioral tests indirectly characterizing the state of the central nervous system of the animals, and evaluated histomorphometric parameters of the brain (CA1, CA2, and CA3 regions of the rat hippocampus).

Results. Physical activity had varying effects on lead poisoning, either strengthening or weakening it to a certain extent, which was demonstrated by changes in the behavioral and histomorphometric parameters of the hippocampus of rats in the CA1, CA2, and CA3 regions. Beneficial effects of the bioprophylactic complex were evidenced by the hole-board test, light-dark box test, and the following laboratory findings: normalization of the area of neuron nuclei in CA2 and CA3 regions, a decrease in the proportion of neurons with missing nucleolus in the nucleus in CA2 and CA3 regions, and a reduced proportion of degenerated neurons in all regions of the hippocampus tested.

Conclusion. We have demonstrated the protective effect of biological prophylaxis against the adverse effects of lead combined with physical stress on the structure of the brain. Such a measure can serve as a tool for managing risks of central nervous system disorders in the exposed population.

Keywords: lead, toxicity, exercise, neurotoxicity, central nervous system, bioprophylaxis, bioprophylactic complex.

Citation: Ryabova Yu.V., Kungurtseva A.K., Petrunina E.M., Nikogosyan K.M., Klinova S.V., Minigalieva I.A., Sutunkova M.P. Changes in health effects of lead exposure caused by exercise and the impact of biological prophylaxis on rats' central nervous system.

Occupational health and human ecology. 2024; 2:191-210.

Correspondence: Yuliya V. Ryabova, Cand. Sc. (Medicine), Head of the Laboratory of Scientific Fundamentals of Biological Prophylaxis, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection among Industrial Workers, 620146, Yekaterinburg, Russia, E-mail: ryabovayuvl@yandex.ru.

Financing: The study had no financial support.

Conflict of interest: The authors declare no conflicts of interest.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24412/2411-3794-2024-10213>

Общеизвестно, что свинец не выполняет никакой биологической функции в организме человека. Большинство исследователей сходится во мнении, что

тяжелые металлы (среди которых свинец), воздействующие на структуры нервной системы (далее – НС), способствуют повышенному риску возникновения нейродегенеративных заболеваний и патологических явлений в НС, смежных органах и системах организма, в том числе врожденных пороков и изменений, носящих необратимый характер [1, 2]. Необратимость повреждений обусловлена главным образом воздействием свинца, в том числе на головной мозг, в критические периоды формирования и развития нервных структур, во время беременности и в раннем детском возрасте [3].

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, даже малые концентрации свинца могут оказывать негативное действие, следовательно, безопасной дозы свинца не существует. При этом 30% идиопатических интеллектуальных расстройств возникают по причине воздействия свинца [4]. Трудоспособная часть населения, особенно в регионах с развитой промышленностью, подвержена воздействию не только вредных веществ, но и физической нагрузке, так как условия труда в данной отрасли зачастую характеризуются высокой степенью тяжести трудового процесса. Ряд исследований показал, что токсичность тяжелых металлов существенно усиливается при сочетании их воздействия с физической нагрузкой по сравнению с изолированным воздействием вредных веществ [5, 6]. Важной задачей в области охраны здоровья населения остается предупреждение негативных последствий действия токсичных веществ, однако не всегда профилактические меры позволяют полностью исключить такое воздействие ввиду различных технологических, экономических, региональных причин.

Таким образом, **целью** настоящего исследования является оценка воздействия свинца изолированно и на фоне физической нагрузки на центральную нервную систему крыс и снижение этого вредного действия с помощью мер биологической профилактики.

Материалы и методы. Эксперимент был смоделирован на половозрелых аутбредных крысах-самцах собственного разведения со средней массой тела $253,23 \pm 1,76$ г на начало исследования (разброс между животными не превышал $\pm 10\%$) и возрастом 12-15 недель. Животные содержались в условиях специально организованного вивария, получали полнорационный сбалансированный корм и воду питьевую, доочищенную до первой категории качества (ТУ 11.07.11-006-06786053-2019). В качестве подстилочного материала использовали гранулы кукурузных початков. Средняя температура за день в помещении не выходила за пределы нормы ($16-22^{\circ}\text{C}$ при относительной влажности воздуха $30-70\%$).

Проведение эксперимента одобрено локальной комиссией по биоэтике ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора (протокол №8 от 08.11.2018).

Животные были поделены на четыре группы случайным образом, по 12 животных в каждой. Первая группа животных являлась контрольной («Контроль»), вторая подвергалась воздействию ацетата свинца («Pb»), третья подвергалась воздействию ацетата свинца на фоне физической нагрузки (ФН) («ФН+Pb»), четвертая подвергалась воздействию на фоне перорального приема биопротекторного комплекса («ФН+Pb+БПК»). В течение 6 недель 3 раза в неделю внутрибрюшинно животным групп «Pb», «ФН+Pb+БПК» и «ФН+Pb» вводили по 2 мл раствора 3-водного ацетата свинца в дозировке 11 мг/кг массы тела, соответствующей 1/20 LD50. Остальные животные получали стерильный физраствор в объеме 2 мл. Моделирование физической нагрузки в соответствующих группах выполняли с использованием тредмила TSE Treadmill System GmbH (TSE Systems International Group, Германия). Животные подвергались вынужденному бегу по 10 минут в день 5 дней в неделю на скорости 25 м/мин в течение 6 недель. Такие параметры бега переносились животными без явных затруднений, что позволило рассматривать этот бег как модель умеренной мышечной работы.

Биопрофилактический комплекс на 1 животное включал в себя пектин (200 мг), глутамат натрия (160 мг), N-ацетилцистеин (30 мг), глицин (12 мг), рутин (1,4 мг), кальций (160 мг), магний (1,18 мг), калий (1,32 мг), йод (4 мг), селен (2 мг), витамины А (0,013 мг), Е (5 мг), С (1,4 мг), В6 (0,2 мг), D3 (1,64 мг), а также препарат рыбьего жира с высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) класса омега-3 (1 капля, что приблизительно соответствует ПНЖК омега-3 – 13,3 мг). Вышеперечисленные компоненты вводились в рацион животных в виде разрешенных на территории РФ фармакологических препаратов с кормом после физической нагрузки, за исключением глутамата, который давался крысам с питьем в виде 1,5% водного раствора (животные имели свободный доступ к питью).

По завершении экспозиционного периода изучалась поведенческая активность крыс. Все животные перед началом тестов несколько часов проводили в тихом, затемненном помещении без посторонних раздражителей. В это время не допускалось кормление, перемещение и замена животных, а также другие манипуляции с ними. Для получения корректных результатов после каждого животного оборудование обрабатывалось раствором дезинфицирующего и/или дезодорирующего средств. Для оценки поведенческих реакций крыс нами были

использованы следующие методики: открытое поле с норками, приподнятый крестообразный лабиринт, тест на социальное взаимодействие.

В тесте «Открытое поле с норками» лабораторное животное помещалось в центр открытой площадки, наблюдение велось в течение 5 минут с поминутной регистрацией таких показателей, как количество пересеченных квадратов, количество обнюхиваний «норок» и заглядываний в них, вертикальная активность, груминг, акты дефекации.

В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» лабораторное животное во время теста помещалось в центр установки головой к открытому рукаву. Длительность тестирования каждого лабораторного животного составляла 5 минут, что позволяет дать животному время для адаптации, а также выбора стратегии исследования или нахождения в безопасной зоне. В рамках тестирования регистрировались такие показатели, как время, проведенное в темных/светлых рукавах, количество пересечений центра, вертикальная активность, количество выглядываний из темных рукавов.

В тесте «Социальное взаимодействие» экспериментальных животных подвергли суточной социальной изоляции за день до тестирования, параллельно с экспериментальными группами была сформирована группа лабораторных животных того же пола и возраста, которая выступала в качестве социального партнера. Каждое экспериментальное животное и социальный партнер помещались в клетку со свежим чистым подстилом на 10 минут. Регистрировались такие показатели, как избегание социального партнера (отворачивания, отталкивания, игнорирование), количество обнюхиваний социального партнера, груминг социальный/индивидуальный, драки игровые/серьезные и т.д.

По завершении экспозиции после умерщвления животных методом полной декапитации было проведено препарирование с визуальным осмотром внутренних органов, масса которых была зафиксирована. Для дальнейшего гистоморфометрического анализа исследуемые органы фиксировались в нейтральном забуференном 10% формалине Labico (Россия), далее из материала вырезались кусочки толщиной до 4 мм, которые проводились по батарею изопропиловых спиртов фирмы «Химпродукция» (Россия), парафинизировались и заливались в парафиновые блоки компании Biovitrum (Россия). На микротоме изготавливались срезы толщиной 3-4 мкм и далее окрашивались гематоксилином и эозином фирмы Labico. Зоны CA1, CA2 и CA3 гиппокампа определялись анатомически. Изучение гистологических препаратов, их микрофотографирование

и морфометрию проводили с использованием компьютерной программы Zen 3.0 при помощи микроскопа AxioLab.A1 с цветной цифровой камерой AxioCam 208.

Результаты. После 6 недель субхронической экспозиции были зафиксированы изменения в поведенческих реакциях крыс в тестах «Открытое поле с норками» и «Темно-светлая камера», но не «Крестообразный лабиринт» и «Социальное взаимодействие» (таблица 1).

Таблица 1. Оценка поведенческих реакций крыс контрольной и опытных групп

Table 1. Assessment of behavioral reactions of lead-exposed and control rats

Показатель	Группа			
	Контроль	Pb	Pb + ФН	Pb + ФН + БПК
Тест «Открытое поле с норками»				
Количество заглядываний в норки	3,75 ± 1,80	3,25 ± 1,25	1,25 ± 0,63*■	5,50 ± 3,28#
Количество пересеченных квадратов	16,50 ± 5,07	12,25 ± 1,49	4,50 ± 1,55*■	16,75 ± 8,48
Количество свешиваний с платформы	5,25 ± 0,77	3,00 ± 0,38	0,25 ± 0,16*■	2,25 ± 0,67*#
Тест «Темно-светлая камера»				
Время до первого захода в темный отсек	11,50 ± 3,80	8,25 ± 2,29	36,50 ± 19,87	7,25 ± 3,47
Время, проведенное в светлом отсеке	11,75 ± 3,75	14,00 ± 6,42	84,50 ± 65,85	17,50 ± 8,80
Время, проведенное в темном отсеке	288,25 ± 3,75	286,00 ± 6,42	215,50 ± 65,85	282,50 ± 8,80
Количество выглядываний из	3,50 ± 0,50	4,00 ± 0,71	3,50 ± 0,96	5,00 ± 1,35

темного отсека в светлый				
Количество выглядываний из светлого отсека в темный	$0,75 \pm 0,25$	$0,75 \pm 0,48$	$1,50 \pm 0,87$	$1,25 \pm 0,63$
Кол-во вставаний на задние лапы	$1,75 \pm 0,41$	$1,75 \pm 0,77$	$5,50 \pm 1,64^* \blacksquare$	$1,75 \pm 0,73\#$
Тест «Крестообразный лабиринт»				
Количество посещений светлого рукава	$1,00 \pm 0,41$	$0,75 \pm 0,25$	$0,75 \pm 0,25$	$1,25 \pm 0,25$
Кол-во посещений темного рукава	$1,25 \pm 0,25$	$1,25 \pm 0,63$	$0,75 \pm 0,25$	$0,75 \pm 0,25$
Длит. пребывания в светлом рукаве	$61,25 \pm 30,58$	$55,25 \pm 53,60$	$30,00 \pm 25,71$	$102,75 \pm 66,63$
Длит. пребывания в темном рукаве	$238,75 \pm 30,58$	$169,75 \pm 75,73$	$195,00 \pm 69,18$	$197,25 \pm 66,63$
Количество пересечений центра	$1,25 \pm 0,48$	$0,75 \pm 0,75$	$0,75 \pm 0,75$	$1,00 \pm 0,41$
Количество вставаний на задние лапы	$1,75 \pm 0,63$	$2,00 \pm 1,08$	$2,00 \pm 1,08$	$1,25 \pm 0,75$
Количество свешиваний с платформы	$0,50 \pm 0,50$	$0,00 \pm 0,00$	$0,25 \pm 0,25$	$0,25 \pm 0,25$

Тест «Социальное взаимодействие»				
Избегание соцпартнера	4,50 ± 0,87	3,00 ± 2,38	6,25 ± 2,66	3,75 ± 1,52
Обнюхивание соцпартнера	11,25 ± 1,44	18,00 ± 6,70	9,00 ± 1,29	12,75 ± 1,92
Грумминг социальный	2,50 ± 1,04	0,50 ± 0,50	0,75 ± 0,48	0,75 ± 1,30
Грумминг индивидуальный	3,50 ± 0,87	1,25 ± 0,75	1,50 ± 0,50	3,00 ± 1,47

Значком * показаны отличия от контрольной группы, ■ – отличия группы «Pb» от «Pb + ФН», # – отличия группы «Pb + ФН» от «Pb + ФН + БПК»

Notes: * compared with the controls; ■ comparison between "Pb exposure" and "Pb exposure + Exercise" groups; # comparison between "Pb exposure + Exercise" and "Pb exposure + Exercise + Bioprophylactic complex" groups.

Изменения, выявленные в поведенческих тестах, свидетельствуют о выраженном снижении двигательной и исследовательской активности в тесте «Открытое поле с норками» при воздействии свинца на фоне физической нагрузки, но не при изолированном его действии на организм. При одномоментном приеме биопротекторного комплекса поведение животных практически не отличается от контрольных значений. Результаты теста «Темно-светлая камера» свидетельствуют о повышенной тревожности животных, проявляющейся увеличением числа вставаний за задние лапы и статистически незначимым, но очевидным увеличением времени захода в темный отсек.

При визуальном осмотре головного мозга животных любой из указанных групп патологических изменений не выявлено, масса тела головного мозга животных (относительная и абсолютная) не отличалась от контрольных значений.

При гистологическом исследовании гиппокампа головного мозга животных опытных и контрольной группы было выявлено, что физическая нагрузка влияла на состояние головного мозга неоднозначно. С одной стороны, нормализовалась площадь ядер в зонах CA1, CA2 гиппокампа, снизилась потеря ядрышек в ядре в зоне CA3, с другой – увеличилось число дегенеративно-измененных нейронов во всех исследованных зонах, снизилась толщина слоя в зоне CA2. В некоторых случаях физическая нагрузка не оказывала никакого эффекта (таблица 2).

Изменения в головном мозге крыс, подвергавшихся воздействию свинца как изолированно, так и на фоне физической нагрузки в наибольшей степени, были

выражены в зоне СА2 (таблица 2). Отмечалось умеренное истончение пирамидного слоя зон гиппокампа СА1, СА2, но не СА3. Дегенеративно-измененные нейроны встречались во всех зонах, чаще - в зоне СА2. Не изменилась общая клеточность ни в одном из случаев, площадь ядра клеток снижалась в зонах СА1 и СА2 при изолированном свинцовом воздействии. Наблюдалась потеря ядрышек в ядре, статистически значимая в зонах СА2 и СА3 гиппокампа, но не СА1, где изменения имели характер тенденции.

При приеме биопрофилактического комплекса при экспозиции к свинцу на фоне физической нагрузки отмечалось снижение соотношения дегенеративно-измененных нейронов во всех зонах головного мозга, нормализовалась доля клеток с потерей ядрышек в ядре в зонах СА2 и СА3. Практически не повлияло употребление БПК на толщину слоя, за исключением зоны СА1.

Таблица 2. Гистоморфометрические показатели зон гиппокампа головного мозга крыс опытных и контрольной группы

Table 2. Histomorphometric parameters of the hippocampal regions of the brain of lead-exposed and control rats

Показатель	Группа			
	Контроль	Pb	Pb + ФН	Pb + ФН + БПК
<i>Зона СА1 гиппокампа головного мозга</i>				
Толщина слоя, мкм	71,44 ± 1,47	53,90 ± 1,24*	54,07 ± 0,85*	60,67 ± 2,03*#
Площадь ядра, мкм ²	75,06 ± 1,27	71,63 ± 1,34*	78,41 ± 1,63■	77,75 ± 3,48
Потеря ядрышек в ядре, %	4,75 ± 1,49	8,67 ± 2,03	9,33 ± 2,60	5,25 ± 0,75
Дегенеративно-измененные нейроны, %	1,25 ± 0,25	5,75 ± 0,31*	8,50 ± 1,09*■	5,50 ± 0,57*#
Клеточность, кл. на 10 ⁴ мкм ²	26,75 ± 2,78	34,00 ± 2,74	28,33 ± 3,93	24,75 ± 2,75

<i>Зона СА2 гиппокампа головного мозга</i>				
Толщина слоя, мкм	100,38 ± 3,50	92,43 ± 3,33	66,35 ± 1,19*	66,08 ± 1,59*
Площадь ядра, мкм ²	85,62 ± 2,07	72,42 ± 1,75*	90,10 ± 2,89	89,01 ± 2,24
Потеря ядрышек в ядре, %	3,22 ± 1,95	9,01 ± 1,88*	8,67 ± 1,67*	4,75 ± 0,63#
Дегенеративно-измененные нейроны, %	1,50 ± 0,19	5,00 ± 1,53*	11,50 ± 2,25*■	4,25 ± 0,63*#
Клеточность, кл. на 10 ⁴ мкм ²	24,50 ± 2,33	29,50 ± 0,87	25,67 ± 2,19	23,00 ± 2,71
<i>Зона СА3 гиппокампа головного мозга</i>				
Толщина слоя, мкм	71,93 ± 4,05	75,65 ± 2,41	76,87 ± 1,36	68,26 ± 1,90#
Площадь ядра, мкм ²	87,39 ± 1,63	92,03 ± 2,57	85,76 ± 2,87	89,48 ± 2,71
Потеря ядрышек в ядре, %	3,00 ± 0,58	11,00 ± 3,00*	6,67 ± 0,88*■	3,25 ± 0,63#
Дегенеративно-измененные нейроны, %	1,25 ± 0,25	3,50 ± 3,18	8,00 ± 1,22*	4,25 ± 0,75*#
Клеточность, кл. на 10 ⁴ мкм ²	26,00 ± 2,08	28,00 ± 2,31	30,00 ± 1,47	25,00 ± 3,37

Значком * показаны отличия от контрольной группы, ■ – отличия группы «Pb» от «Pb + ФН», # – отличия группы «Pb + ФН» от «Pb + ФН + БПК»

Notes: * compared with the controls; ■ comparison between "Pb exposure" and "Pb exposure + Exercise" groups; # comparison between "Pb exposure + Exercise" and "Pb exposure + Exercise + Bioprophylactic complex" groups.

Визуально определялись умеренное истончение пирамидного слоя зон гиппокампа, апоптотические и воспалительные изменения (рисунок 1). Гистоморфометрическая картина зоны СА1 гиппокампа головного мозга крыс контрольной группы соответствовала норме. В группе, экспонированной к свинцу изолированно, отмечены единичные безъядрышковые ядра, а также ядра с пикнозом. В группах, экспонированных к свинцу на фоне физической нагрузки, истончался пирамидный слой зон гиппокампа. В зоне СА1 отмечались немногочисленные пикнотически измененные ядра полигональной формы, уменьшение размеров ядер и конденсация хроматина. В части ядер отсутствовали ядрышки. В этой же зоне при исследовании определялся очаговый гиперхроматоз цитоплазмы нейронов, перицеллюлярный отек, переваскулярный отек в некоторых полях зрения.

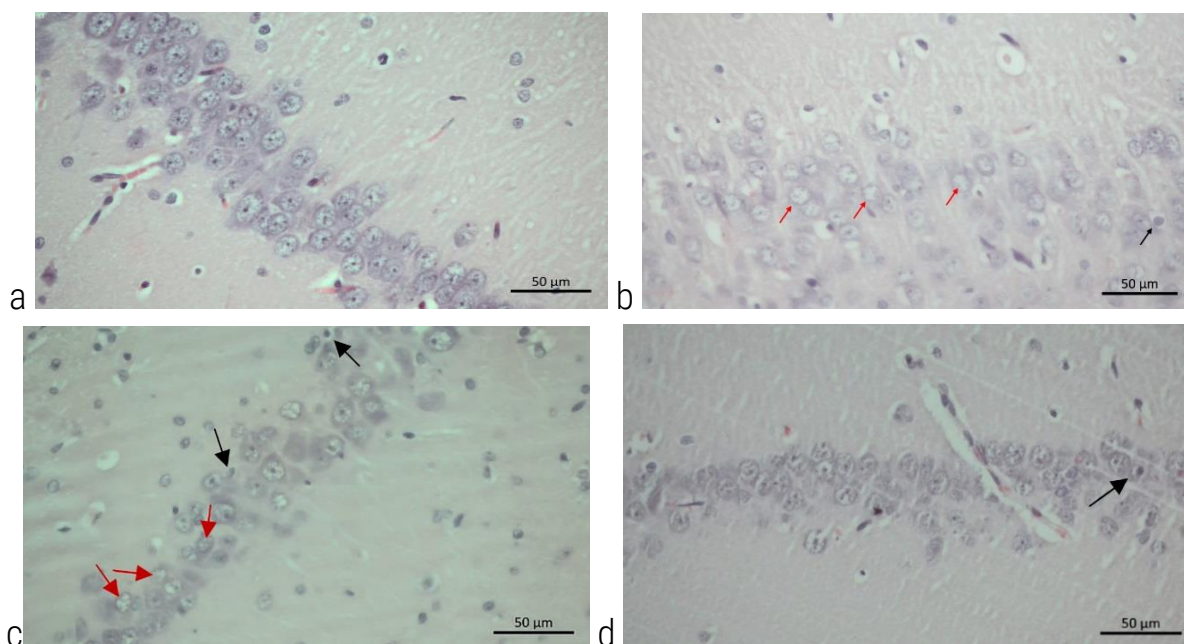


Рис. 1. Гистологическая картина зоны СА1 гиппокампа крыс: у контрольной группы гистоморфологическая картина соответствует норме (а); группы, подвергавшейся воздействию свинца: красные стрелки указывают на потерю ядрышек в ядрах, черная - на дегенеративно-измененное ядро (пикнотические изменения) (b); группы, подвергавшейся воздействию свинца на фоне физической нагрузки: красные стрелки указывают на отсутствие ядрышек в ядрах пирамидных нейронов, черные стрелки указывают на дегенеративно-измененные ядра пирамидных нейронов (с); группы, подвергавшейся аналогичному воздействию на фоне приема БПК: черная стрелка указывает на единственный случай дегенеративно-измененного ядра пирамидных нейронов в поле зрения (d). Окр. гематоксилином и эозином, ув. 400х.

Fig. 1. Histological images of the CA1 region of the rat hippocampus, hematoxylin and eosin staining, 400× magnification; (a) *Control group*: the histomorphological image is normal; (b) *Lead exposure group*: red arrows point at missing nucleoli in the nuclei, black arrows point at damaged nuclei (pyknotic degeneration); (c) *Lead exposure + Exercise group*: red arrows show the absence of nucleoli in the nuclei of pyramidal neurons, black arrows point at damaged nuclei of pyramidal neurons; and (d) *Lead exposure + Exercise + Bioprophylactic complex group*: the black arrow points at a single degenerated nucleus of pyramidal neurons in the field of view.

В зоне CA2 экспонированных к свинцу групп визуально отмечалось уменьшение толщины слоя пирамидных нейронов, а также многочисленные ядра с потерей ядрышек и дегенеративные изменения ядра и цитоплазмы в виде пикноза гиперхроматоза (рисунок 2). При экспозиции к свинцу на фоне физической нагрузки и одномоментном приеме биопрофилактики измененных ядер визуально меньше.

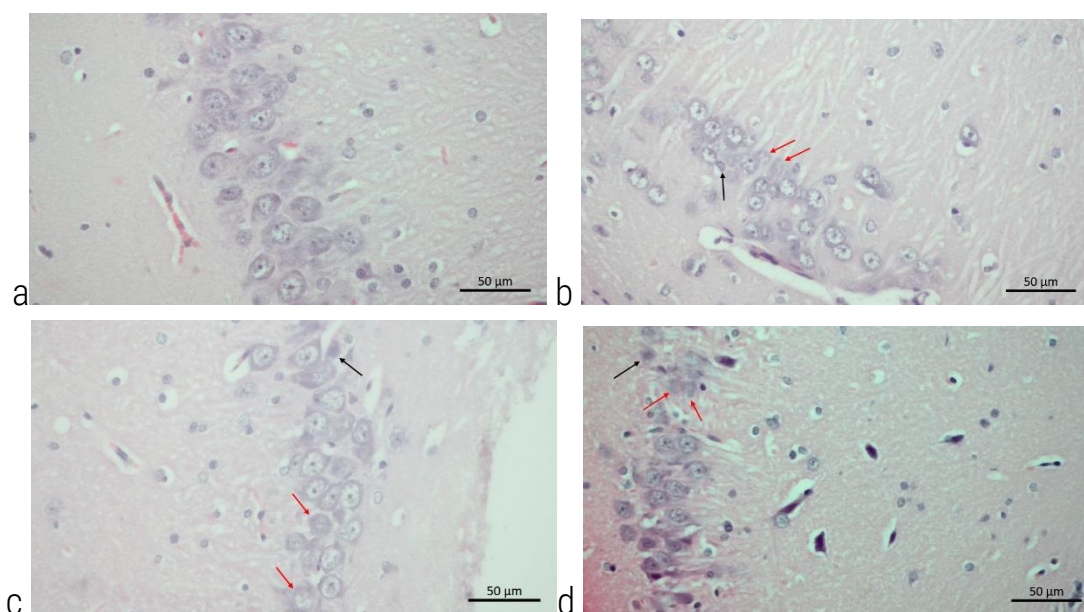


Рис. 2. Гистологическая картина зоны CA2 гиппокампа крыс: у контрольной группы гистоморфологическая картина соответствует норме (а); группы, подвергавшейся воздействию свинца: красными стрелками отмечено отсутствие ядрышек в ядрах пирамидных нейронов, черными - дегенеративно-измененные ядра пирамидных нейронов (b); группы, подвергавшейся воздействию свинца на фоне физической нагрузки: черные стрелки указывают на дегенеративные изменения ядра пирамидных нейронов, красные стрелки - на потерю ядрышек в ядрах пирамидных

нейронов, (с); группы, подвергавшейся аналогичному воздействию на фоне приема БПК: красными стрелками отмечены ядра пирамидных нейронов, в которых отсутствуют ядрышки, черными - ядра пирамидных нейронов с дегенеративными изменениями (d). Окр. гематоксилином и эозином, ув. 400х.

Fig. 2. Histological images of the CA2 region of the rat hippocampus, hematoxylin and eosin staining, 400× magnification; (a) *Control group*: the histomorphological image is normal; (b) *Lead exposure group*: red arrows show the absence of nucleoli in the nuclei of pyramidal neurons, black arrows point at damaged nuclei of pyramidal neurons; (c) *Lead exposure + Exercise group*: black arrows point at damaged nuclei of pyramidal neurons, red arrows show missing nucleoli in the nuclei of pyramidal neurons; and (d) *Lead exposure + Exercise + Bioprophylactic complex group*: red arrows point at nuclei of pyramidal neurons, and the black arrows point at degenerated nuclei of pyramidal neurons.

Зона СА3 гиппокампа животных, экспонированных к свинцу, по гистоморфометрическим изменениям практически не отличалась от зоны СА2: также присутствовали ядра с отсутствующими или смещенными от центра к краю ядрышками. Также отмечены перичеллюлярный и переваскулярный отеки некоторых нейронов (рисунок 3).

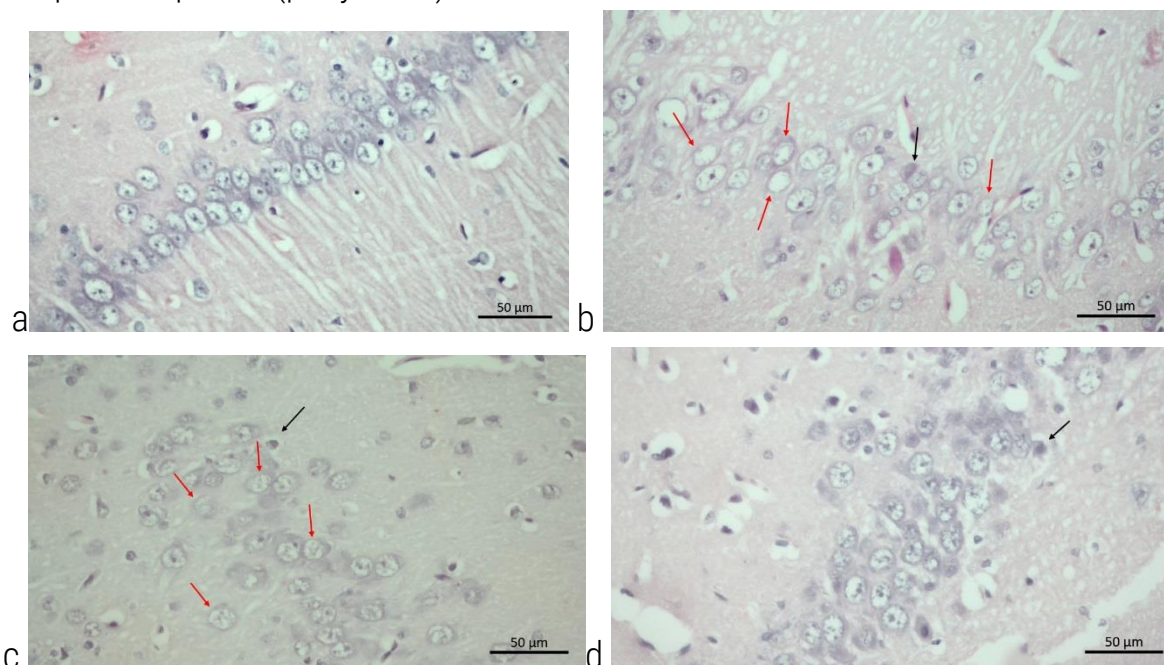


Рис. 3. Гистологическая картина зоны СА3 гиппокампа крыс: у контрольной группы гистоморфологическая картина соответствует норме (а); группы, подвергавшейся воздействию свинца: красные стрелки указывают на отсутствие ядрышек в ядрах пирамидных нейронов, черные стрелки - на дегенеративно-измененные ядра

пирамидных нейронов (b); группы, подвергавшейся воздействию свинца на фоне физической нагрузки: красными стрелками выделены ядра пирамидных нейронов с потерей ядрышек, черными – дегенеративно-измененные ядра пирамидных нейронов (c); группы, подвергавшейся аналогичному воздействию на фоне приема БПК: черная стрелка указывает на единственный случай дегенеративно-измененного ядра пирамидного нейрона в поле зрения (d). Окр. гематоксилином и эозином, ув. 400х.

Fig. 3. Histological images of the CA3 region of the rat hippocampus, hematoxylin and eosin staining, 400x magnification; (a) *Control group*: the histomorphological image is normal; (b) *Lead exposure group*: red arrows point at missing nucleoli in the nuclei of pyramidal neurons, black arrows point at damaged nuclei of pyramidal neurons; (c) *Lead exposure + Exercise group*: red arrows show the absence of nucleoli in the nuclei of pyramidal neurons, black arrows point at damaged nuclei of pyramidal neurons; and (d) *Lead exposure + Exercise + Bioprophylactic complex group*: the black arrow points at a single degenerated nucleus of pyramidal neurons in the field of view.

Обсуждение. Зафиксированные изменения поведенческих реакций крыс в группе, экспонированной свинцом на фоне физической нагрузки, в сравнении с контролем свидетельствуют о нарушении двигательной активности, исследовательского поведения и стрессе, при сохранении желания к социальному взаимодействию (таблица 1). Действительно, по данным научной литературы, воздействие свинца на центральную нервную систему может быть связано с подобными поведенческими патологиями. Свинец способен проходить через гематоэнцефалический барьер во многом за счет своей способности замещать ионы кальция и непосредственно в головном мозге индуцировать повреждение префронтальной коры, гиппокампа и мозжечка, что может существенно нарушать их функции [7]. В ряде исследований на лабораторных животных, у крыс, подвергшихся воздействию свинца в детстве и во внутриутробном периоде, наблюдались значительные нарушения двигательной активности и исследовательского поведения [8], снижалась нейромоторная активность [9], регистрировались нарушения функции обучения и памяти на фоне свинцовой экспозиции [10]. Эти же данные подтверждаются другими исследованиями: выявлено статистически значимое увеличение латентного времени побега в лабиринте Морриса у крыс, подверженных свинцовой экспозиции, по сравнению с интактными крысами [11, 12]. Вместе с тем такой эффект может быть характерным только для экспозиции свинцом в раннем возрасте, а в нашем исследовании были использованы половозрелые взрослые животные.

При визуальном осмотре головного мозга животных любой из указанных групп патологических изменений не выявлено. Масса головного мозга животных (относительная и абсолютная) не отличалась от контрольных значений. По данным литературы, воздействие свинца может стать причиной снижения массы головного мозга – в частности, это было показано в эпидемиологическом исследовании с привлечением добровольцев. Выяснено, что воздействие свинца в детстве связано с региональным уменьшением объема серого вещества у взрослых, особенно у мужчин [13]. Результаты косвенно подтверждались в другом исследовании, где в результате воздействия свинца масса мозга крысят снизилась в среднем на 14% [9]. Вместе с тем такой эффект может быть характерным только для экспозиции свинцом в раннем возрасте, поскольку в других исследованиях при субхронической экспозиции на взрослых животных также не было показано изменений массовых параметров [14].

Выраженные изменения были зафиксированы при гистоморфометрическом исследовании тканей гиппокампа головного мозга (таблица 2, рисунки 1, 2, 3). Физическая нагрузка влияет на развитие свинцовой интоксикации неоднозначно, что уже было продемонстрировано нами ранее и подтверждается результатами настоящего исследования [6].

Признаки повреждения нейронов в виде полиморфных изменений ядра, очагового гиперхроматоза цитоплазмы, а также перипеллюлярного и переваскулярного отеков могут свидетельствовать о повреждении клеток в указанных областях [15], но не их гибели, поскольку нами не было зафиксировано снижения общей клеточности (таблица 2). Также подтверждением нейротоксического действия ацетата свинца на головной мозг крыс могут служить статистически значимое уменьшение толщины слоя пирамидных нейронов и увеличение количества дегенеративно-измененных нейронов. Все вышеперечисленные эффекты реализуются за счет основных точек приложения свинцовой интоксикации: изменения антиоксидантного статуса, замещения ионов двухвалентных элементов, изменения структуры и функций внутриклеточных органелл [16].

Выявленные структурные изменения головного мозга у животных после субхронического воздействия свинца на фоне физической нагрузки в нашем исследовании не привели к выраженному нарушению функции (отсутствуют значимые изменения поведения), которое может быть обнаружено при более продолжительном воздействии вредных факторов.

Положительный эффект биопрофилактического комплекса наблюдался по следующим показателям: в зонах CA2 и CA3 нормализовалась площадь ядра

нейронов, в зонах СА2 и СА3 снизилась доля нейронов с потерей ядрышка в ядре, во всех исследуемых зонах гиппокампа – доля дегенеративно-измененных нейронов. Такой эффект достигался за счет одномоментного воздействия компонентов, нацеленных на разные точки приложения против механизмов токсикодинамики и токсикокинетики в целом для токсикантов и в частности для свинца. Большое значение имеют неспецифическое мембраностабилизирующее действие глутамата и в то же время его специфический эффект, поскольку известно – свинец препятствует релизу глутамата в гиппокампе, что, как следствие, может приводить к нарушению глутаматергической нейротрансмиссии [17]. Вероятно, дополнительное поступление глутамата в мозг компенсирует патологические эффекты свинца [18]. Кроме того, для нивелирования вредного действия свинца был использован энтеросорбент пектин и антагонисты свинцовой интоксикации (кальций и магний), повышенное поступление с пищей которых также снижает абсорбцию свинца. Дополнительно витамины и микроэлементы в биотических дозах способствуют повышению неспецифической сопротивляемости организма к действию вредных факторов, а также оказывают корректирующее действие на обменные процессы.

Заключение. При субхроническом 6-недельном внутрибрюшинном воздействии ацетата свинца на самцов белых крыс в разовой дозе 11 мг/кг м.т. не было зафиксировано отклонений массы головного мозга, как при изолированном свинцовом воздействии, так и на фоне физической нагрузки. Изменения, отмеченные в тестах «Открытое поле с норками» и «Темно-светлая камера», свидетельствуют о снижении двигательной и исследовательской активности, о повышенной тревожности.

Физическая нагрузка влияет на развитие свинцовой интоксикации неоднозначно, что было продемонстрировано по изменению гистоморфометрических параметров гиппокампа крыс зон СА1, СА2, СА3. Зоны СА1 и СА2 гиппокампа в целом продемонстрировали большую чувствительность к свинцу: наблюдалось истончение слоя нейронов, увеличение доли дегенеративно- измененных нейронов, увеличение доли нейронов с потерей ядрышек в ядре. После воздействия свинца и физической нагрузки выявлены структурные изменения головного мозга, которые пока даже при субхронической экспозиции проявились нарушением функции (изменения поведенческих реакций).

Положительный эффект биопрофилактического комплекса наблюдался по следующим показателям: в зонах СА2 и СА3 нормализовалась площадь ядра нейронов, в зонах СА2 и СА3 снизилась доля нейронов с потерей ядрышка в ядре,

во всех исследуемых зонах гиппокампа – дегенеративно-измененных нейронов. Эффект достигался за счет одномоментного воздействия компонентов, нацеленных на разные точки приложения против механизмов токсикодинамики и токсикокинетики свинца. Показан защитный эффект биологической профилактики против вредного действия свинца на фоне физической нагрузки на структуру головного мозга. Такая мера может служить инструментом управления риском возникновения патологических состояний центральной нервной системы у экспонированного населения.

Список литературы:

1. Moulton P.V., Yang W. Air pollution, oxidative stress, and Alzheimer's disease. *J Environ Public Health*. 2012;2012:472751. doi: 10.1155/2012/472751
2. Jayaraj R.L., Rodriguez E.A., Wang Y., Block M.L. Outdoor ambient air pollution and neurodegenerative diseases: The neuroinflammation hypothesis. *Curr Environ Health Rep*. 2017;4(2):166-179. doi: 10.1007/s40572-017-0142-3
3. Smith M.R., Yevo P., Sadahiro M., et al. Integrative bioinformatics identifies postnatal lead (Pb) exposure disrupts developmental cortical plasticity. *Sci Rep*. 2018;8(1):16388. doi: 10.1038/s41598-018-34592-4
4. WHO (2021): The public health impact of chemicals: knowns and unknowns – data addendum for 2019. 6 July 2021. Accessed March 13, 2024. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HEP-ECH-EHD-21.01>
5. Клинова С.В., Минигалиева И.А., Сутункова М.П., Шабардина Л.В. Интегральные показатели кардиотоксичности свинца и кадмия на фоне физической нагрузки. *Гигиена и санитария*. 2023;102(11):1228-1235. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-11-1228-1235>.
6. Минигалиева И.А., Рябова Ю.В., Сутункова М.П., Гурвич В.Б., Привалова Л.И., Панов В.Г., Клинова С.В., Соловьева С.Н., Сахаутдинова Р.Р., Кацнельсон Б.А. Сочетанное действие свинца и физической нагрузки на организм крыс в субхроническом эксперименте. *Гигиена и санитария*. 2021;100(12):1404-1411. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-12-1404-1411>
7. Sanders T., Liu Y., Buchner V., Tchounwou P.B. Neurotoxic effects and biomarkers of lead exposure: A review. *Rev Environ Health*. 2009;24(1):15-45. doi: 10.1515/reveh.2009.24.1.15
8. Chintapanti S., Pratap Reddy K., Sreenivasula Reddy P. Behavioral and neurochemical consequences of perinatal exposure to lead in adult male Wistar rats: Protective effect by *Centella asiatica*. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018;25(13):13173-85. doi: 10.1007/s11356-018-1500-x
9. Hossain S., Bhowmick S., Jahan S., et al. Maternal lead exposure decreases the level of brain development and cognition-related proteins with concomitant upsurges of oxidative stress, inflammatory response and apoptosis in the offspring rats. *Neurotoxicology*. 2016;56:150-8. doi: 10.1016/j.neuro.2016.07.013
10. Rao Barkur R., Bairy L.K. Evaluation of passive avoidance learning and spatial memory in rats exposed to low levels of lead during specific periods of early brain development. *Int J Occup Med Environ Health*. 2015;28(3):533-44. doi: 10.13075/ijom.1896.00283

11. Wang X.-M., Liu W.-J., Zhang R., Zhou Y.-K. Effects of exposure to low-level lead on spatial learning and memory and the expression of mGluR1, NMDA receptor in different developmental stages of rats. *Toxicol Ind Health*. 2013;29(8):686-96. doi: 10.1177/0748233712436641
12. Ouyang L., Zhang W., Du G., et al. Lead exposure-induced cognitive impairment through RyR-modulating intracellular calcium signaling in aged rats. *Toxicology*. 2019;419:55-64. doi: 10.1016/j.tox.2019.03.005
13. Cecil K.M., Brubaker C.J., Adler C.M., et al. Decreased brain volume in adults with childhood lead exposure. *PLoS Med*. 2008;5(5):e112. doi: 10.1371/journal.pmed.0050112
14. Protsenko Y.L., Katsnelson B.A., Klinova S.V., et al. Effects of subchronic lead intoxication of rats on the myocardium contractility. *Food Chem Toxicol*. 2018;120:378-89. doi: 10.1016/j.fct.2018.07.034
15. Tverskoy A.V., Dolzhikov A.A., Bobintsev I.I., Kryukov A.A., Belykh A.E. Morphological changes of CA1 and CA3 hippocampal regions in rats under chronic immobilization stress (morphometric study). *Chelovek i ego zdorov'e*. 2014;(3):37-41. (In Russ.) <https://cyberleninka.ru/article/n/morfologicheskie-izmeneniya-neyronov-oblastey-sa1-i-sa3-gippokampa-krys-pri-hronicheskom-immobilizatsionnom-stresse-morfometricheskoe>
16. Сутункова М.П., Никогосян К.М., Рябова Ю.В., Кескевич А.А., Минигалиева И.А., Бутакова И.В., Шеломенцев И.Г., Шаихова Д.Р. Современное представление о механизмах токсического действия свинца на центральную нервную систему (обзор литературы). *Медицина труда и экология человека*. 2023;(4):196-215. doi: 10.24412/2411-3794-2023-104115
17. White L.D., Cory-Slechta D.A., Gilbert M.E., et al. New and evolving concepts in the neurotoxicology of lead. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2007;225(1):1-27. doi: 10.1016/j.taap.2007.08.001
18. Привалова Л.И., Кацнельсон Б.А., Сутункова М.П., Минигалиева И.А., Гурвич В.Б., Шур В.Я., Макеев О.Г., Валамина И.Е. Повышение резистентности организма к вредному действию металлосодержащих наночастиц как перспективный подход к управлению рисками для здоровья. *Медицина труда и промышленная экология*. 2016;(10):29-33.

References:

1. Moulton P.V., Yang W. Air pollution, oxidative stress, and Alzheimer's disease. *J Environ Public Health*. 2012;2012:472751. doi: 10.1155/2012/472751
2. Jayaraj R.L., Rodriguez E.A., Wang Y., Block M.L. Outdoor ambient air pollution and neurodegenerative diseases: The neuroinflammation hypothesis. *Curr Environ Health Rep*. 2017;4(2):166-179. doi: 10.1007/s40572-017-0142-3
3. Smith M.R., Yevo P., Sadahiro M., et al. Integrative bioinformatics identifies postnatal lead (Pb) exposure disrupts developmental cortical plasticity. *Sci Rep*. 2018;8(1):16388. doi: 10.1038/s41598-018-34592-4
4. WHO (2021): The public health impact of chemicals: knowns and unknowns – data addendum for 2019. 6 July 2021. Accessed March 13, 2024. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HEP-ECH-EHD-21.01>
5. Klinova S.V., Minigalieva I.A., Sutunkova M.P., Shabardina L.V. Integral indicators of cardiotoxicity of lead and cadmium on the background of physical activity. *Gigiena i sanitariya*. 2023;102(11):1228-35. (In Russ) doi: 10.47470/0016-9900-2023-102-11-1228-1235

6. Minigalieva I.A., Ryabova Iu.V., Sutunkova M.P., et al. The combined action of lead and physical load in a subchorionic experiment on rats. *Gigiena i sanitariya*. 2021;100(12):1404-11. (In Russ) doi: 10.47470/0016-9900-2021-100-12-1404-1411
7. Sanders T., Liu Y., Buchner V., Tchounwou P.B. Neurotoxic effects and biomarkers of lead exposure: A review. *Rev Environ Health*. 2009;24(1):15-45. doi: 10.1515/reveh.2009.24.1.15
8. Chintapanti S., Pratap Reddy K., Sreenivasula Reddy P. Behavioral and neurochemical consequences of perinatal exposure to lead in adult male Wistar rats: Protective effect by *Centella asiatica*. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018;25(13):13173-85. doi: 10.1007/s11356-018-1500-x
9. Hossain S., Bhowmick S., Jahan S., et al. Maternal lead exposure decreases the level of brain development and cognition-related proteins with concomitant upsurges of oxidative stress, inflammatory response and apoptosis in the offspring rats. *Neurotoxicology*. 2016;56:150-8. doi: 10.1016/j.neuro.2016.07.013
10. Rao Barkur R., Bairy L.K. Evaluation of passive avoidance learning and spatial memory in rats exposed to low levels of lead during specific periods of early brain development. *Int J Occup Med Environ Health*. 2015;28(3):533-44. doi: 10.13075/ijom.1896.00283
11. Wang X.-M., Liu W.-J., Zhang R., Zhou Y.-K. Effects of exposure to low-level lead on spatial learning and memory and the expression of mGluR1, NMDA receptor in different developmental stages of rats. *Toxicol Ind Health*. 2013;29(8):686-96. doi: 10.1177/0748233712436641
12. Ouyang L., Zhang W., Du G., et al. Lead exposure-induced cognitive impairment through RyR-modulating intracellular calcium signaling in aged rats. *Toxicology*. 2019;419:55-64. doi: 10.1016/j.tox.2019.03.005
13. Cecil K.M., Brubaker C.J., Adler C.M., et al. Decreased brain volume in adults with childhood lead exposure. *PLoS Med*. 2008;5(5):e112. doi: 10.1371/journal.pmed.0050112
14. Protsenko Y.L., Katsnelson B.A., Klinova S.V., et al. Effects of subchronic lead intoxication of rats on the myocardium contractility. *Food Chem Toxicol*. 2018;120:378-89. doi: 10.1016/j.fct.2018.07.034
15. Tverskoy A.V., Dolzhikov A.A., Bobintsev I.I., Kryukov A.A., Belykh A.E. Morphological changes of CA1 and CA3 hippocampal regions in rats under chronic immobilization stress (morphometric study). *Chelovek i ego zdorov'e*. 2014;(3):37-41. (In Russ). <https://cyberleninka.ru/article/n/morfologicheskie-izmeneniya-neyronov-oblastey-sa1-i-sa3-gippokampa-krys-pri-hronicheskom-immobilizatsionnom-stresse-morfometricheskoe>
16. Sutunkova M.P., Nikogosyan K.M., Ryabova Yu.V., et al. Current understanding of the mechanisms of lead toxic effects on the central nervous system (literature review). *Meditsina truda i ekologiya cheloveka*. 2023;(4):196-215. (In Russ). doi: 10.24412/2411-3794-2023-104115
17. White L.D., Cory-Slechta D.A., Gilbert M.E., et al. New and evolving concepts in the neurotoxicology of lead. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2007;225(1):1-27. doi: 10.1016/j.taap.2007.08.001
18. Privalova L.I., Katsnelson B.A., Sutunkova M.P., et al. Increasing resistance against hazardous effects of metals-containing nanoparticles as a prospective approach to health risks management. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2016;(10):29-33. (In Russ).

Поступила/Received: 15.04.2024

Принята в печать/Accepted: 17.05.2024