А.Е. Конкабаева, Д.Ю. Сирман, А.Ш. Сарсембаева,
А.В. Покоева, Р. Колосов, А.Ж. Садыкова

ИЗМЕНЕНИЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ У КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НЕФТЕПРОДУКТАМИ

Карагандинский государственный университет им. Е.А. Букетова,
Казахстан

Бензин представляет собой многокомпонентное смешанное углеводородное соединение, широко применяемое как топливо. В его состав входят смеси различных углеводородов, выкипающих в пределах 30-205 °С. В состав бензинов, кроме углеводородов (парафиновых, олефиновых, нафтеновых и ароматических), могут входить примеси: серо-, азот- и кислородсодержащие соединения [1]. Многие составляющие бензина являются токсичными для организма человека, в особенности летучие углеводороды, к которым развивается токсикомания, однако влияние бензинов на нервную систему не изучено комплексно ввиду сложности их состава.

Наряду с этим, к настоящему времени известно, что парафиновые углеводороды вызывают наркоз и судороги; ароматические и нафтеновые – действуют на кровь и кроветворные органы. При хроническом действии летучих фракций нефти отмечаются функциональные изменения центральной нервной системы, низкое кровяное давление, замедление пульса, а также признаки поражения печени. При действии многосернистой нефти отмечается некоторая заторможенность, ослабляется обоняние, нарушается функция печени, щитовидной железы, нарушается нормальный ход эмбриогене-за [2, 3, 4]. В эксперименте с грызунами, содержавшихся на нефтяной диете, обнаружено повышение интенсивности метаболизма, вызывающее увеличение индексов сердца и почек. Отмечена напряженность энергетического обмена, проявлявшаяся в гипертрофии печени и увеличении у экспериментальных зверьков индекса надпочечников [5]. Хроническое ингаляционное воздействие летучими фракциями нефти на крыс в различных концентрациях приводило к значимому увеличению частоты встречаемости клеток с хромосомными аберрациями в костном мозге в ряду поколений. Помимо нарушений структуры хромосом, происходили геномные изменения (анеуплоидии, полиплоидии) [6]. При комплексном влиянии бензола, входящего в состав бензина возникает разбалансировка (диспропорция) между уровнем продукции нонапептидов и уровнем их высвобождения из терминалей аксонов нейросекреторных клеток, что является признаком «изнашивания» ГГАКС и ограничения ее адаптивных возможностей [7]. Учитывая широкое применение нефти и нефтепродуктов (бензинов), а также присутствие в них высокотоксичных летучих углеводородов, влияющих на нервную систему, возникает необходимость их изучения в эксперименте на животных.

Репозиторий КарГУ

Материалы и методы исследования. Объектом исследования были 22 беспородные белые крысы. Средний вес животных составил 220±25 г. При выполнении работы были соблюдены этические принципы, изложенные в Директиве Европейского Сообщества (86/609ЕС) и требованиях Всемирного общества защиты животных (WSPA). Животных содержали в условиях свободного доступа к воде и пище. Опыты проводили в летний период, в первую половину дня.

Крысы были поделены на 2 группы. Для эксперимента использовался бензин АИ-92 Павлодарского нефтехимического завода. Первая группа - контрольная, со стандартным рационом кормления, который содержал 30 г твердых, сухих кормов, 10 г овощных кормов и 20 мл свободно доступной воды на каждую особь. Вторую группу составили самцы, в стандартный рацион которых был добавлен раствор бензина из расчета 0,1 г/кг на крысу [5]. Кормление бензином длилось 5 месяцев. Фиксировались результаты поведенческих тестов до начала кормления, спустя три месяца и через пять месяцев кормления нефтепродуктами.

Для проведения теста «открытое поле» использовали установку, представляющую собой круглую матовую арену с бортов высотой 45 см и дном диаметром 1 м, фиксированную на деревянном каркасе. Дно расчерчено на три ряда секторов одинаковой площади для визуальной регистрации двигательной активности в центре, на периферии и в промежуточной части арены. Конструкция арены соответствует литературным рекомендациям [8-10].

Маркированную крысу помещали с краю арены и с помощью видеокамеры фиксировали передвижение ее в установке в течение 5 минут, позже заполняли протоколы и сводные таблицы. После тестирования каждого животного арену мыли для устранения запаха.

Регистрировали следующие параметры:

1) горизонтальную активность - число пересеченных квадратов;

2) вертикальную активность - количество стоек и общее время;

3) исследовательскую активность - количество обнюхиваний и время;

4) выход в центр установки - количество выходов и общее время проведенное в центре;

5) реакция замирания - количество раз и общее время неподвижности крысы в установке;

6) груминг короткий - количество раз и общее время;

7) груминг длительный;

8) дефекация - число актов и число болюсов;

9) уринация.

Для тестирования в установке «приподнятый крестообразный лабиринт» крысу помещали в центр «лабиринта», располагая мордой в центр открытого рукава лабиринта, и запускали отсчет времени. В ходе эксперимента регистрировались следующие поведенческие показатели:

1) исследовательская активность (число выходов в открытые рукава лабиринта, число вертикальных стоек);

Репозиторий КарГУ

2) оценка риска (заглядывания вниз из открытых рукавов лабиринта, возврат в открытые рукава лабиринта, вытягивание на задних лапах без опоры);

3) показатели тревожности (число выходов в открытые рукава лабиринта, длительность пребывания в открытых рукавах лабиринта, соотношение времени пребывания в открытых и закрытых рукавах, уринация, дефекация, груминг);

4) двигательная активность (общее количество выходов в рукава лабиринта).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2007. Полученные результаты подвергли параметрическому анализу.

Результаты и их обсуждения. Установлено, что при длительном кормлении животных малыми дозами бензина у крыс в результате нейроинтоксикации происходило изменение структуры поведения. Это проявлялось в увеличении количества двигательных актов, оцениваемых в тесте «открытое поле» по сравнению с контролем (табл. 1).

Таблица 1 – Сравнительная характеристика количественных показателей поведенческих актов у крыс в тесте «открытое поле»

Поведенческие акты	Количество (усл. ед.)		
	Группы животных		
	Контрольная группа	После 3 месяцев эксперимента	После 5 месяцев эксперимента
Стойка	1,0±0	5,2±1,8*	10,4±4,6**
Исследовательская активность	3±1,2	6,0±1,2*	26,2±11,5**
Выход в центр	0,0	1,0±0,0*	2,0±0,0**
Реакция замирания	2,5±1,2	1,5±0,5*	33,3±8,8**
Груминг короткий	1,5±0,5	0,0	0,0
Груминг длительный	0,0	0,0	0,0
Примечание: *p<0,05, **p<0,01, *** p<0,001			

Статистически значимо увеличилось количество стоек, выходов в центр, исследовательская активность. Наряду с этим, отмечается увеличение количества фризинга (реакция замирания), который является проявлением видоспецифического врожденного поведения, свидетельствующего о высоком уровне тревожности. Исследовательское поведение также может рассматриваться в качестве защитной реакции, если его рассматривать как поиск выхода из стрессовой обстановки [11]. Выход же в центр поля, является одним из видов амбулации и рассматривается как показатель «смелости» и «храбрости», который в нашем случае достоверно превышал контроль как через 3, так и через 5 месяцев от начала экспериментов.

Длительность поведенческих актов достоверно снизилась по показателю фризинг, груминг по сравнению с контролем, а исследовательская активность, стойки и выход в центр были более

Репозиторий КарГУ

продолжительными через 3 и 5 месяцев эксперимента по сравнению с контролем (p<0,05, p<0,01) (табл. 2).

Таблица 2 – Сравнительная характеристика длительности поведенческих актов у крыс в тесте «открытое поле»

Поведенческие акты	Длительность (сек.)		
	Группы животных		
	Контрольная группа	После 3 месяцев эксперимента	После 5 месяцев эксперимента
Стойка	1,5±0,5	2,5±1,0*	4,8±1,8**
Исследовательская активность	10,6±3,7	15,0±6,0*	67,6±29,1**
Выход в центр	0,0	1,0±0*	2,0±0**
Реакция замирания	203,5±29	7,6±1,7***	115±78,4**
Груминг короткий	9,0±0	0,0	0,0
Груминг длительный	0,0	0,0	0,0
*Примечание:**p<0,05, **p<0,01, *** p<0,001			

Таким образом, высокая двигательная активность исследуемых животных, сопровождаемая высоким уровнем тревожности характеризует нестабильность поведенческих реакций с проявлением тормозных реакций.

Изучение поведения животных в крестообразном лабиринте позволило выявить снижение двигательной активности, что доказывает наличие неблагоприятного влияния малых доз бензина на структуру поведения животных. Так, число свешиваний, количество вертикальных стоек, количество посещений открытого и закрытого рукава уменьшилось как через 3 месяца, так и через 5 месяцев, однако, достоверными были различия через 5 месяцев (p<0,05) (рис. 1).

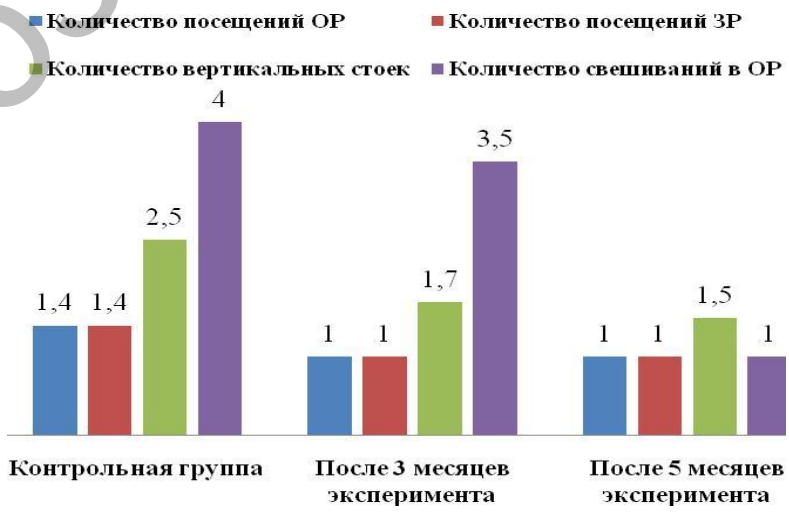

Рисунок 1 - Количество отдельных поведенческих реакций у крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт»

Репозиторий КарГУ

Длительность времени посещения закрытого рукава достоверно увеличивалась (p<0,05), а время посещения открытого рукава достоверно уменьшалось (p<0,01) после 3 и 5 месяцев эксперимента (рис. 2).

Рисунок 2 - Длительность отдельных поведенческих реакций у крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт»

В целом, полученные результаты в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» указывают на выраженную заторможенность животных и подавленность поведенческой активности, обусловленные токсическим воздействием растворов бензина вводимых per os.

Таким образом, длительное введение в организм экспериментальных животных раствора бензина в малых дозах вызывало нарушения в ЦНС, обусловленное токсикантом. Изменения в структуре поведения экспериментальных животных характеризовалось с одной стороны активизацией двигательных реакций и длительностью фризинга в тесте «открытое поле», с другой стороны снижением локомоторной активности, повышением уровня тревожности в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». Оценивая в целом результаты эксперимента, можно заключить с высокой долей вероятности проявления неблагоприятного тормозящего воздействия токсиканта при длительном введении.

Список литературы

1. http://www.xumuk.ru/encyklopedia
2. Панов Г.Е., Петряшин Л.Ф., Лысяный Г.Н.Охрана окружающей среды на предприятиях нефтяной и газовой промышленности. - М.: Недра, 1986. - 244 с.
3. Черкашин С.А.Отдельные аспекты влияния углеводородов нефти на рыб и ракообразных // Вестник ДВО РАН. - 2005. - № 3. - С. 83–91.
4. Draft Toxicological Intake Values for Priority Contaminants in Soil. - Wel-lington: Ministry for the Environment, 2010. - 168 p.

Репозиторий КарГУ

5. Елифанов А.В., Гашев С.Н., Моисеенко Т.И. Влияние сырой нефти на организм грызунов в подостром эксперименте // Труды Карельского научного центра РАН. – 2012. - № 2. - С. 76–83.

6. Гумарова Ж.Ж., Бигалиев А.Б., Ерубаева Г.К., Гумарова Л.Ж. Исследование мутагенного действия нефти при хроническом воздействии на лабораторных животных // Гигиена и санитария. – 2012. - № 4. - С. 69-73.

7. Ермолина Е.В., Стадников А.А., Михайлова И.В., Смолягин А.И. Исследование длительного комбинированного влияния бензола и хрома на морфофункциональное состояние нейроэндокринной и иммунной систем крыс вистар // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т. 14, № 5 (2). - С. 444-447.

8. Буслович С.Ю. Интегральный метод оценки поведения белых крыс в открытом поле / С.Ю. Буслович, А.И. Котеленец, Р.М. Фридлянд // Журнал высшей нервной деятельности. – 1989. – Т. 39, № 1. – С. 168-170.

9. Комаров Ф.И. Хронобиология и хрономедицина / Ф.И. Комаров, С.И. Рапопорт. – М.: Триада–Х, 2000. - 488 с.

10. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения: Пер. с англ. Е.Н. Живописцевой / Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П.; под редакцией Батуева А.С. – М.: Высшая школа, 1991. – 399 с.

11. Walsh R., Cammins R. The open-field test: A critical review // Psychol. Bull. – 2006. - Vol. 83. - P. 482-504.

Репозиторий КарГУ