

УДК: 616.45-092.9:612.821.14:546.821.

***ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ КРЫС ПРИ
ПЕРОРАЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ГИДРОКСИДА АЛЮМИНИЯ***

Якупова Т.Г.

научный сотрудник лаборатории генетики

ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека»,

Уфа, Россия

Хуснутдинова Н.Ю.

научный сотрудник лаборатории токсикологии

ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека»,

Уфа, Россия

Каримов Д.О.

кандидат медицинских наук,

*заведующий отделом токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой
лабораторных животных*

ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека»,

Уфа, Россия

Лукашенко К.В.

преподаватель кафедры профессиональной подготовки

ФГКОУ ВО УЮИ МВД России

Уфа, Россия

Аннотация: Алюминий является широко распространённым поллютантом, связанным с развитием нейродегенеративных болезней. Цель исследования заключалась в оценке влияния перорального введения гидроксида алюминия в различных дозах на поведение белых крыс в тесте «Открытое поле».

Эксперимент проведён на 40 самках крыс, разделённых на контрольную и четыре группы с дозами 0,015; 0,15; 1,5 и 15 мг/кг $\text{Al}(\text{OH})_3$. Животным вводили суспензию 5 раз в неделю в течение месяца. Поведенческие показатели оценивали по дистанции, средней скорости и времени пребывания в центральной и периферической частях арены. Заметное увеличение двигательной активности было зарегистрировано только при дозе 0,15 мг/кг, без значимых изменений исследовательского поведения. Результаты свидетельствуют, что низкая доза алюминия стимулирует двигательную активность, не вызывая выраженной нейротоксичности.

Ключевые слова: алюминий, гидроксид алюминия, подострая интоксикация, нейротоксичность, поведенческие тесты, крысы

FEATURES OF BEHAVIORAL REACTIONS IN RATS UNDER ORAL ALUMINUM HYDROXIDE EXPOSURE

Yakupova T.G.

Researcher, Genetics Laboratory

*Federal Budgetary Institution of Science «Ufa Research Institute of Occupational
Health and Human Ecology»*

Ufa, Russia

Khusnutdinova N.Yu.

Researcher, Toxicology Laboratory

*Federal budgetary institution of science «Ufa Research Institute of Occupational
Health and Human Ecology»*

Ufa, Russia

Karimov D.O.

PhD in Medical Sciences,

Head of the Department of Toxicology and Genetics with Experimental Clinic of

Дневник науки | www.dnevniknauki.ru | СМИ ЭЛ № ФС 77-68405 ISSN 2541-8327

Laboratory Animals

Federal budgetary institution of science «Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology»

Ufa, Russia

Lukashenko K.V.

Lecturer, Department of Professional Training

Ufa Law Institute of the Ministry of Internal Affairs of Russia

Ufa, Russia

Abstract: Aluminum is a widely distributed pollutant associated with the development of neurodegenerative diseases. The aim of the study was to assess the effects of oral administration of aluminum hydroxide at various doses on the behavior of white rats in the Open Field test. The experiment was conducted on 40 female rats divided into a control group and four experimental groups receiving doses of 0.015, 0.15, 1.5, and 15 mg/kg of $\text{Al}(\text{OH})_3$. The animals were given the suspension five times a week for one month. Behavioral parameters were evaluated based on distance traveled, average speed, and time spent in the central and peripheral areas of the arena. A significant increase in locomotor activity was observed only at the 0.15 mg/kg dose, with no significant changes in exploratory behavior. The results indicate that a low dose of aluminum stimulates locomotor activity without causing pronounced neurotoxicity.

Keywords: aluminum, aluminum hydroxide, subacute intoxication, neurotoxicity, behavioral tests, rats

Алюминий является самым распространенным металлом в окружающей среде и широко используется в различных областях благодаря своим уникальным физическим и химическим свойствам. Человек может подвергаться воздействию данного металла при приеме различных лекарственных средств, Дневник науки | www.dnevniknauki.ru | СМН ЭЛ № ФС 77-68405 ISSN 2541-8327

питьевой воды, продуктов питания и пищевых добавок, вдыхании воздуха и профессиональном воздействии. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, в среднем поступление Al в организм человека из всех возможных источников (вода, пищевые продукты, упаковка, воздух) варьирует от 11 до 136 мг в неделю [1,2].

При поступлении в организм тем или иным способом данный металл может накапливаться в различных органах, концентрируясь в костях, печени, почках, а также в головном мозге и других отделах нервной системы, приводя к широкому спектру заболеваний. Еще в 1980-х годах было установлено, что ионы алюминия из воды могут диффундировать в плазму крови и проникать через гематоэнцефалический барьер, вызывая поражение нервной системы. А экспериментальные исследования на крысах и мышах показали, что алюминий может накапливаться в коре головного мозга, гиппокампе и мозжечке [3].

Хроническое воздействие алюминия связано с развитием нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, Паркинсона и деменция. Исследования показывают, что алюминий может нарушать процессы синтеза и метаболизма нейротрансмиттеров, вызывать оксидативный стресс и воспалительные реакции в нервной ткани [4,5].

Алюминий способствует развитию неврологических патологий через несколько механизмов. Одним из ключевых путей является нарушение функции и активация глиальных клеток, которые играют решающую роль в поддержании гомеостаза центральной нервной системы и обеспечении нормального нейроразвития. Другие механизмы включают индукцию окислительного стресса, снижение уровня восстановленного глутатиона, прямое и косвенное негативное воздействие на производительность и целостность митохондрий, а также увеличение производства провоспалительных цитокинов как в мозге, так и в периферических тканях [6].

Цель исследования заключалась в изучении влияния перорального поступления гидроксида алюминия в различных дозах на поведенческие реакции крыс в тесте «Открытое поле».

Материалы и методы. Исследование проведено на 40 белых аутбредных крысах женского пола с массой тела 170–230 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария, характеризующихся постоянством комнатной температуры (20–25°C) и уровнем влажности (30–70%), с 12-часовым искусственным освещением (с 08:00 до 20:00). Условия содержания и кормления были одинаковы для всех групп животных. При уходе за животными, питании и проведении экспериментов руководствовались базисными нормативными документами: ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур»; рекомендациями комитета по экспериментальной работе с использованием животных при Минздраве России; рекомендациями ВОЗ; рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей.

В начале эксперимента животные методом случайной выборки были разделены на 5 групп по 8 особей в каждой: контрольная группа (К) и 4 экспериментальные группы. Расчёт дозы гидроксида алюминия проводили для каждой крысы индивидуально с учётом массы тела. Для оценки токсического действия металла животным 1-, 2-, 3-, 4-й экспериментальных групп 5 раз в неделю в течение 1 месяца, вводили per os через специальный зонд, гидроксид алюминия в 2% растворе крахмала в четырех рабочих дозах 0,015 мг/кг, 0,15 мг/кг, 1,5 мг/кг, 15 мг/кг, соответственно. Животные контрольной группы получали эквивалентное количество 2% раствора крахмала.

Поведенческую активность животных оценивали в тесте «Открытое поле». Тест «Открытое поле» проводили с помощью квадратной установки (UgoBasil, Италия) со сторонами 95 см и высотой бортов 40 см. Арена освещалась неярким светом красной лампы мощностью 40 Вт, которая расположена на высоте 2 м. В Дневник науки | www.dnevniknauki.ru | СМИ Эл № ФС 77-68405 ISSN 2541-8327

начале тестирования крысу помещали в центр арены. За поведением животного наблюдали в течение 5 минут. Животные тестировались однократно. Параметры поведения регистрировали визуально, а также велась видеозапись поведения крыс для анализа с использованием программы ANY-maze (Sloelting and Co., США). При этом регистрировались следующие поведенческие показатели: дистанция, средняя скорость, количество пересеченных линий, количество заходов в центр, время в центре, дистанция в центре, количество заходов в периферию в центр, время в периферии, количество заходов в углы, время в углах. После тестирования животное возвращалось в клетку, а поверхность поля тщательно отмывалась перед помещением следующей крысы.

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics 21 (IBM, USA). Проверка распределений на нормальность осуществлялась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Для оценки значимости различий между группами использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) и апостериорные критерии Тьюки и Тамхейна. Данные представлены как среднее арифметическое и стандартная ошибка. Критический уровень значимости (p) принят равным 0,05.

Для оценки равенства дисперсий применялся F-критерий Ливиня, для оценки различий между группами – t-тест Стьюдента и однофакторный дисперсионный анализ. При проведении дисперсионного анализа в качестве апостериорной поправки на множественность сравнений был использован критерий Тьюки.

Результаты и их обсуждение. Результаты и обсуждение. Результаты, зарегистрированные для двигательной активности крыс, исследованных с помощью теста «Открытое поле», показаны в Таблице 1.

Таблица 1. Параметры двигательной активности крыс в тесте «Открытое поле»

Показатель	Контроль	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа
Общая дистанция, м.	23,3 ± 3,3	32,9 ± 5,3	41,4 ± 3,1*	38,0 ± 5,1	33,3 ± 3,3
Средняя скорость, м/с.	0,08 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,14 ± 0,01*	0,13 ± 0,02	0,11 ± 0,01
Количество пересеченных линий, ед.	109,1 ± 16,5	155,3 ± 26,4	198,0 ± 13,3*	181,9 ± 27,8	145,3 ± 16,9
Количество заходов в центр, ед.	4,1 ± 1,4	6,9 ± 2,1	14,5 ± 2,9*	12,4 ± 3,5	8,4 ± 2,8
Дистанция в центре, м.	2,1 ± 0,9	2,9 ± 1,1	5,9 ± 1,2*	4,3 ± 1,2	3,1 ± 1,1
Время в центре, с.	7,9 ± 3,7	10,2 ± 3,9	21,6 ± 6,2	17,6 ± 5,5	15,0 ± 4,8
Количество заходов в периферию, ед.	16,6 ± 2,6	28,6 ± 4,7	34,9 ± 3,5*	25,5 ± 5,6	23,4 ± 4,5
Время в периферии, с.	284,1 ± 3,6	274,2 ± 6,2	268,2 ± 6,7	274,7 ± 6,6	279,4 ± 5,3
Дистанция в периферии, м.	21,1 ± 2,9	29,8 ± 4,4	35,3 ± 2,2*	33,6 ± 4,2	30,2 ± 2,7
Количество заходов в углы, ед.	35,3 ± 2,7	45,1 ± 7,4	50,8 ± 2,6*	53,0 ± 7,5	53,9 ± 5,0*
Время в углах, с.	68,4 ± 13,7	63,7 ± 12,6	57,98 ± 4,3	68,5 ± 9,7	78,8 ± 5,3
Дистанция в углах, м.	4,8 ± 0,6	6,67 ± 1,0	8,6 ± 0,5*	8,6 ± 1,2*	7,5 ± 0,6*

* – статистически значимая разница с контрольной группой при $p \leq 0,05$

Анализ средних значений показателя дистанции в тесте «Открытое поле» на различных сроках воздействия показал, что через 1 месяц в группе с дозировкой 0,15 мг/кг средний показатель дистанции (41,35) был значительно выше, чем в контрольной группе (23,31) с $p=0,001$. В то же время, группы с дозировками 0,015 мг/кг, 1,5 мг/кг и 15 мг/кг не продемонстрировали статистически значимых различий по сравнению с контрольной.

Результаты анализа средних значений показателя «Средняя скорость» в тесте «Открытое поле» были сопоставлены между группами по различным дозам. Через 1 месяц группа 0,15 мг/кг показала увеличение средней скорости

Дневник науки | www.dnevniknauki.ru | СМИ Эл № ФС 77-68405 ISSN 2541-8327

(0,14) по сравнению с контрольной (0,08), что было статистически значимо ($p=0,001$). В других сравнениях между группами значительных различий не наблюдалось.

Анализ средних значений показателя «Количество пересеченных линий» в тесте «Открытое поле» показал, что на сроке 1 месяц в группе, получавшей 0,15 мг/кг, количество пересеченных линий (198,0) оказалось значительно выше, чем в контрольной группе (109,1, $p=0,000$). Тем не менее, в группах, получавших 0,015 мг/кг, 1,5 мг/кг и 15 мг/кг, статистически значимых различий по сравнению с контрольной группой не было.

Результаты статистического анализа, проведенного на показателе «Количество заходов в центр» в тесте «Открытое поле», продемонстрировали, что животные, получавшие гидроксид алюминия чаще посещали центр, чем крысы из контрольной группы. Однако статистически значимое увеличение данного показателя было зарегистрировано лишь в группе, получавшей дозу 0,15 мг/кг (14,5), по сравнению с контрольной группой (4,1) ($p=0,007$). Другие экспериментальные группы не продемонстрировали значительных изменений по сравнению с контрольной.

Результаты анализа средних значений показателя «Время в центре» в тесте «Открытое поле» показали, что животные, подверженные воздействию гидроксида алюминия проводили больше времени в центре, чем крысы из контрольной группы. Максимальное значение по данному показателю было достигнуто во 2 группе (21,6). Тем не менее статистически значимых различий не было обнаружено ($p > 0,05$).

В процессе сравнения результатов по показателю «Дистанция в центре» не были обнаружены значимые различия между группами.

Результаты статистического анализа средних значений показателя «Количество заходов в периферию» в тесте «Открытое поле» на сроке 1 месяц продемонстрировали, что среднее значение в группе 0,15 мг/кг (34,9) превышает

такое в контрольной группе (16,6) с уровнем значимости $p=0,00$. В то же время, другие группы не показали значимых различий по сравнению с контрольной.

При анализе данных по показателю «Время в периферии» не были обнаружены значимые различия между группами.

Анализ данных через 1 месяц показал, что в группе с дозировкой 0,15 мг/кг средние значения показателя «Дистанция в периферии» (41,4) были значительно выше, чем в контрольной группе (23,3) с уровнем значимости $p=0,001$. В то же время, группы с дозировками 0,015 мг/кг, 1,5 мг/кг и 15 мг/кг не продемонстрировали статистически значимых различий по сравнению с контрольной.

Результаты статистического анализа, проведенного по показателю «Количество заходов в углы» в тесте «Открытое поле», демонстрируют интересные результаты в зависимости от дозы воздействия. Через месяц воздействия наблюдались различия между группами: в группе с дозой 0,15 мг/кг средний уровень показателя (50,8) превышал таковой в контрольной группе (35,3) с уровнем значимости $p=0,00$. В группе с дозой 15 мг/кг также зафиксировано увеличение среднего уровня показателя (53,9) по сравнению с контрольной группой ($p=0,005$). Дальнейшие сравнения между другими группами не выявили значительных различий.

Результаты оценки показателя «Время в углах» в тесте «Открытое поле» не показали статистически значимых различий между контрольной и экспериментальными группами на всех временных промежутках.

Результаты статистического анализа по показателю «Дистанция в углах» в тесте «Открытое поле» продемонстрировали следующие значимые различия. После 1 месяца воздействия, группа, получающая 0,15 мг/кг, показала средние значения «Дистанция в углах» (8,6), которые были выше, чем в контрольной группе (4,8, $p=0,00$). Группы с дозами 1,5 мг/кг и 15 мг/кг также продемонстрировали более длительную дистанцию в углах по сравнению с контрольной группой (8,6 и 7,6 соответственно, $p=0,024$ и $p=0,013$).

Различные исследования на животных показали, что воздействие алюминия вызывает нейropатологические, нейropоведенческие и нейpохимические изменения [7,8]. Согласно предыдущим отчетам, алюминий влияет более чем на 200 клеточных путей, что может привести к возникновению метаболических нарушений, включая нейpодегенерацию [9,10].

Согласно полученным данным, крысы, подвергавшиеся воздействию гидроксида алюминия в дозе 0,15 мг/кг демонстрировали повышенную двигательную активность по сравнению с контрольной группой. Однако время, проведенное в разных частях арены не отличалось от такового у контрольной группы, хотя и было незначительно выше в некоторых экспериментальных группах. Также отмечено, что крысы из группы, получавшей максимальную дозу токсиканта показатели «Количество заходов в углы» и «Дистанция в углах» было значительно выше, чем у крыс из контрольной группы.

В работах, посвященных изучению влияния алюминия на поведение крыс в тесте «Открытое поле», неоднократно отмечалось снижение двигательной и исследовательской активности, а также повышение уровня тревожности у животных, после введения хлорида алюминия [11-14].

Похожие результаты были получены в эксперименте на мышах линии CD-1, которым в виде инъекции вводили раствор гидроксида алюминия в дозе 50 мкг/кг шесть раз в течение двух недель. Результаты показали, что мыши, которым вводили гидроксид алюминия, показали следующие изменения в поведении: более короткую общую дистанцию, более медленную скорость движения, меньший процент времени в движении, а также меньше входов в центр открытого поля и более позднее вхождение в центр по сравнению с контрольной группой [15].

Однако в нашем исследовании были получены противоположные результаты. Крысы, получавшие гидроксид алюминия в дозе 0,15 мг/кг, напротив демонстрировали гиперактивное поведение, выражающееся в более активном перемещении по арене и более высокой скорости передвижения по

Дневник науки | www.dnevniknauki.ru | СМИ Эл № ФС 77-68405 ISSN 2541-8327

сравнению с контролем. Кроме того, время, проведенное в центре, а также количество заходов в центр было выше в группах животных, подверженных воздействию алюминия, что может свидетельствовать об отсутствии тревожности. Интересно отметить, что крысы из 4 группы, по-видимому, предпочитали исследовать более затемненные участки – углы, что может быть некоторым проявлением тревожного состояния. Исходя из полученных результатов можно предположить, что небольшие дозы алюминия могли вызвать стимулирующий эффект, приводя к возбуждению нервной системы, тогда как при более высокой дозе 15 мг/кг могли проявляться начальные признаки, свойственные для тревожного состояния (обследование углов).

Такие различия в полученных результатах подтверждают, что путь воздействия и форма алюминия могут быть важными факторами, которые определяют потенциал токсичности. По-видимому, гидроксид алюминия при пероральном поступлении обладает более низким потенциалом токсичности, по сравнению с хлоридом алюминия. Однако, как показано в работе Shaw с соавторами, может вызывать нейротоксические эффекты при инъекционном типе введения [15]. Вместе с тем, в доступной научной литературе отсутствуют исследования, посвященные изучению воздействия перорального поступления соединений алюминия в низких дозах, которые могли бы либо подтвердить, либо опровергнуть гипотезу о потенциальном стимулирующем влиянии данного металла на деятельность центральной нервной системы.

Заключение. Пероральное введение суспензии $\text{Al}(\text{OH})_3$ в течение 1 месяца вызвало значительное повышение двигательной активности у крыс, получавших токсикант в дозе 0,15 мг/кг. Учитывая недостаточное количество данных, представленных в литературе, для лучшего понимания эффектов, связанных с низкими дозами $\text{Al}(\text{OH})_3$, необходимо проведение дополнительных исследований в различных схемах эксперимента, включая применение различных химических соединений алюминия, доз, способов введения и периодов экспозиции.

Библиографический список:

1. Скупневский С. В., Иванов Д. В. Воздействие алюминия и его соединений на функции органов и тканей человека (обзорная статья) // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2023; 17(1): 110–124. doi: 10.24412/2075-4094-2023-1-3-7
2. Benford D.J., Thatcher N., Mason D., et al. Aluminium from all sources, including food additives and contaminants (addendum). First draft. In: Safety evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Food Additives. 2007; 58: 119.
3. Colomina M.T., Peris-Sampedro F. Aluminum and Alzheimer's disease. In: Neurotoxicity of Metals. 2017: 183–197. doi: 10.1007/978-3-319-60189-2_9
4. Klotz K., Weistenhöfer W., Neff F., et al. The health effects of aluminum exposure. Dtsch Arztebl Int. 2017; 114(39): 653–659. doi: 10.3238/arztebl.2017.0653.
5. Kandimalla R., Vallamkondu J., Corgiat E., Gill K. Understanding aspects of aluminum exposure in Alzheimer's disease development. Brain Pathol. 2016; 26(2): 139–154. doi: 10.1111/bpa.12333.
6. Kawahara M., Tanaka K., Kato-Negishi M. Neurotoxicity of aluminum and its link to neurodegenerative diseases. Metallomics Res. 2021; 1: 47–65. doi: 10.11299/metallomicsresearch.MR202104
7. Colomina M.T., Roig J.L., Sánchez D.L., Domingo J.L. Influence of age on aluminium-induced neurobehavioral effects and changes in rat brain. Neurotoxicology. 2002; 23(6): 775–781. doi: 10.1016/S0161-813X(02)00008-6.
8. Kaur A., Joshi K., Walker R.M., Gill K.D. Neurofilament phosphorylation and disruption: a possible mechanism of chronic aluminium toxicity in Wistar rats. Toxicology. 2006; 219(1–3): 1–10. doi: 10.1016/j.tox.2005.09.015
9. Kawahara M., Kato-Negishi M. Link between aluminum and the pathogenesis of Alzheimer's disease: the integration of the aluminum and amyloid cascade hypotheses. Int J Alzheimers Dis. 2011; 2011: 276393. doi: 10.4061/2011/276393

10. Crisponi G., Fanni D., Gerosa C., et al. The meaning of aluminium exposure on human health and aluminium-related diseases. *Biomol Concepts*. 2013; 4(1): 77–87. doi: 10.1515/bmc-2012-0045.
11. Cao Z., Wang F., Xiu C., et al. Hypericum perforatum extract attenuates behavioral, biochemical, and neurochemical abnormalities in aluminum chloride-induced Alzheimer's disease rats. *Biomed Pharmacother*. 2017; 91: 931–937. doi: 10.1016/j.biopha.2017.05.022
12. Temitayo G.I., Olawande B., Emmanuel Y. O., et al. Inhibitory potentials of Cymbopogon citratus oil against aluminum-induced behavioral deficits and neuropathology in rats. *Anat Cell Biol*. 2020; 53(3): 342–354. doi: 10.5115/acb.20.099.
13. Thenmozhi A.J., Raja T. R. W., Janakiraman U., Manivasagam T. Neuroprotective effect of hesperidin on aluminum chloride-induced Alzheimer's disease in Wistar rats. *Neurochem Res*. 2015; 40(4): 767–776. doi: 10.1007/s11064-015-1525-1
14. Taïr K., Kharoubi O., Taïr O. A., et al. Aluminium-induced acute neurotoxicity in rats: Treatment with aqueous extract of Arthrophytum (Hammada scoparia). *J Acute Dis*. 2016; 5(6): 470–482. doi: 10.1016/j.joad.2016.08.028
15. Shaw C.A., Petrik M.S. Aluminum hydroxide injections lead to motor deficits and motor neuron degeneration. *J Inorg Biochem*. 2009; 103(11): 1555–1562. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2009.05.019.