



Минигалиева И.А.¹, Рябова Ю.В.¹, Сутункова М.П.¹, Гурвич В.Б.¹, Привалова Л.И.¹,
Панов В.Г.^{1,2}, Клинова С.В.¹, Соловьева С.Н.¹, Сахаутдинова Р.Р.¹, Кацнельсон Б.А.¹

Сочетанное действие свинца и физической нагрузки на организм крыс в субхроническом эксперименте

¹ФБУН «Екатеринбургский медицинский – научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промышленных предприятий» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 620014, Екатеринбург, Россия;

²ФГБУН «Институт промышленной экологии Уральского отделения Российской академии наук», 620990, Екатеринбург, Россия

Введение. Экспозиция организма к свинцу, связанная с условиями труда (особенно в горно-металлургическом производстве), как правило, сочетается с мышечной работой. Однако влияние этого сочетания на развитие патологического процесса досконально не изучено.

Материалы и методы. В течение 6 нед белые беспородные крысы-самцы получали внутривенно ацетат свинца в дозе 11 мг/кг, соответствующей 1/20 LD₅₀, 3 раза в неделю. Физическая нагрузка животных осуществлялась на тредмиле 5 раз в неделю (вынужденный бег со скоростью 25 м/мин по 10 мин в день).

Результаты. Развившаяся интоксикация в группе, подвергавшейся воздействию только свинца, может быть охарактеризована как умеренно выраженная: из числа оценённых показателей состояния организма крыс статистически значимые неблагоприятные сдвиги в сравнении с контролем были отмечены по 33,5% показателей, среди которых увеличение содержания копропорфирина в моче, увеличение процентного соотношения ретикулоцитов в периферической крови, снижение среднего содержания гемоглобина в эритроците. Под влиянием физической нагрузки в 23,7% показателей вредный эффект свинца усилен, в 28,9% – ослаблен, в 47,4% фактически не изменился.

Заключение. Развившаяся у крыс интоксикация при изолированном действии свинца была умеренно выраженной и неоднозначно изменялась под влиянием мышечных нагрузок. Математический анализ, основанный на модели поверхности отклика, показал, что сочетанное действие этих двух факторов характеризуется типологическим разнообразием в зависимости не только от того, по какому конкретному эффекту оно оценивается, но также от дозы и уровня эффекта.

Ключевые слова: свинец; свинцовая интоксикация; мышечные нагрузки; тредмил; сочетанное действие; изоболы; поверхность отклика

Для цитирования: 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>

Для корреспонденции: Минигалиева Ильзира Амировна, зав. отд. токсикологии и биопрофилактики, ФБУН «ЕМНЦ ПОЗРПП» Роспотребнадзора, 620014, Екатеринбург. E-mail: ilzira-minigalieva@yandex.ru

Участие авторов: Минигалиева И.А. – концепция и дизайн исследования, написание текста, утверждение окончательного варианта статьи; Рябова Ю.В. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка, иллюстрации, написание текста; Сутункова М.П. – концепция и дизайн исследования, утверждение окончательного варианта статьи; Гурвич В.Б. – редактирование, утверждение окончательного варианта статьи; Привалова Л.И. – концепция и дизайн исследования, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи; Панов В.Г. – статистическая обработка, иллюстрации; Клинова С.В. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка; Соловьева С.Н. – концепция и дизайн исследования; Сахаутдинова Р.Р. – сбор и обработка материала; Кацнельсон Б.А. – концепция и дизайн исследования, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Заключение комиссии по биоэтике. Локальная комиссия по биоэтике ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора одобрила это исследование, проведённое в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или других научных целей (ETS N 123), Директивой Европейского Парламента и Совета Европейского союза 2010/63 / EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых в научных целях.

Поступила: 16.11.2021 / Принята к печати: 25.11.2021 / Опубликована: 30.12.2021

Ilzira A. Minigalieva¹, Iuliya V. Ryabova¹, Marina P. Sutunkova¹, Vladimir B. Gurvich¹,
Larisa I. Privalova¹, Vladimir G. Panov^{1,2}, Svetlana N. Klinova¹, Svetlana N. Solovyeva¹,
Renata R. Sakhautdinova¹, Boris A. Katsnelson¹

The combined action of lead and physical load in a subchorionic experiment on rats

¹Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation;

²The Institute of Industrial Ecology, the Urals Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620990, Russian Federation

Introduction. Exposure to lead associated with working conditions (especially in mining and metallurgical production) is usually combined with muscular work. However, the influence of this combination on the pathological process development has not been thoroughly studied.

Materials and methods. During six weeks, white outbred male rats received intraperitoneal lead acetate at a dose of 11 mg / kg, corresponding to 1/20 LD₅₀, three times a week and/or five times a week physical exercises (forced running for 10 minutes at a speed of 25 m/min).

Results. As can be seen from the results, lead caused statistically significant shifts in 33.5% of the organism's status indices, pointing to the onset of a moderate subchronic intoxication. Content of coproporphyrin in urine and percentage of reticulocytes in the peripheral blood increased, the average content of haemoglobin in the erythrocyte decreased. Under physical activity the harmful effect of lead enhanced in 23.7% of indices and weakened in 28.9% of indices. We did not find changes in 47.4% of indices.

Original article

Conclusion. Lead intoxication changes ambiguously under the influence of physical exercises. The type of combined effect of lead toxicity and physical activities depends on the outcome by which this type is assessed, on this outcome's level and the dose ratio.

Keywords: lead; lead intoxication; exercise; treadmill; combined toxicity; response surface methodology; isobolograms

For citation: Minigalieva I.A., Ryabova Iu.V., Sutunkova M.P., Gurvich V.B., Privalova L.I., Panov V.G., Klinova S.V., Solovyeva S.N., Sakhautdinova R.R., Katsnelson B.A. The combined action of lead on the physical exercise background in a subchorionic experiment on rats. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2021; 100(12): 1404-1411. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-12-1404-1411> (In Russ.)

For correspondence: Ilzira A. Minigalieva, MD, PhD, Head of the Department of Toxicology and Bioprophylaxis, Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russia. E-mail: ilzira-minigalieva@yandex.ru

Information about the authors:

Minigalieva I.A., <https://orcid.org/0000-0002-0097-7845> Privalova L.I., <https://orcid.org/0000-0002-1442-6737> Sakhautdinova R.R., <https://orcid.org/0000-0002-2726-9259> Sutunkova M.P., <https://orcid.org/0000-0002-1743-7642> Gurvich V.B., <https://orcid.org/0000-0002-6475-7753> Katsnelson B.A., <https://orcid.org/0000-0001-8750-9624> Ryabova Iu.V., <https://orcid.org/0000-0003-2677-0479> Panov V.G., <https://orcid.org/0000-0001-6718-3217> Solovyeva S.N., <https://orcid.org/0000-0001-8580-403X> Klinova S.V., <https://orcid.org/0000-0002-0927-4062>

Contribution: Minigalieva I.A. – the concept and design of the study, writing the text; Ryabova Yu.V. – concept and design of research, collection and processing of material, statistical processing, preparation of drawings, writing the text; Sutunkova M.P. – concept and design of the study; Gurvich V.B. – editing; Privalova L.I. – concept and design of the study, editing; Panov V.G. – statistical processing, preparation of drawings; Klinova S.V. – concept and design of research, collection and processing of material, statistical processing; Solovyeva S.N. – the concept and design of the study; Sakhautdinova R.R. – collection and processing of material; Katsnelson B.A. – research concept and design, editing.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement. The study had no sponsorship.

The conclusion of the committee on biomedical ethics: the Local ethics committee of the Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers approved this study carried out under the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experiments or Other Scientific Purposes (ETS N 123), Directive of the European Parliament and Council of the European Union 2010/63/EU of 22.09.2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

Received: October 16, 2021 / Accepted: November 25, 2021 / Published: December 30, 2021

Введение

Экспозиция организма к вредным веществам, связанная с условиями труда, как правило, сочетается с мышечной работой большей или меньшей тяжести, однако влияние этого сочетания на развитие патологических процессов, связанных с той или иной вредной экспозицией, изучено недостаточно. Если такая экспозиция является ингаляционной, то при мышечной нагрузке неизбежно увеличивается поглощённая доза в результате повышенной лёгочной вентиляции. Однако можно ожидать, что и выраженность реакции организма на единицу дозы изменится в ту или иную сторону по разным механизмам, связанным с этой нагрузкой. Например, в давно проведённых исследованиях [1] показано, что у крыс с развивающимся экспериментальным силикозом этот процесс может быть как усилен, так и ослаблен на фоне ежедневных сеансов вынужденного бега на тредмиле в зависимости от его скорости.

Как известно, физическая нагрузка активирует систему кровообращения, что может сделать различные внутренние органы более доступными действию токсических веществ, в частности свинца, так что токсичность свинца при физической нагрузке может усиливаться [2]. С другой стороны, физическая нагрузка усиливает обмен веществ, что может способствовать более быстрому метаболическому обезвреживанию ядов. Имеются также данные о том, что тренирующая мышечная нагрузка спортсменов может повысить резистентность организма к свинцовой и некоторым другим металлоинтоксикациям [3, 4]. В экспериментальных исследованиях [5, 6] найдено, что регулярные упражнения при умеренной нагрузке на беговой дорожке могут значительно снизить нейротоксичность и уменьшить окислительный стресс у крыс, подвергшихся воздействию ацетата свинца, в то время как бег до истощения не был связан с этими полезными эффектами.

Учитывая, что для условий труда на современных предприятиях не характерны ни истощающие мышечные нагрузки, ни высокие риски профессиональных отравлений, мы поставили перед собой задачу экспериментально оценить и математически описать влияние легко переносимой физической работы на развитие умеренно выраженной свинцовой интоксикации.

Материалы и методы

Эксперимент проведён на половозрелых аутбредных крысах-самцах собственного разведения с массой тела 210–290 г на начало исследования. Животные содержались

в условиях специально организованного отделения вивария, соответствующего требованиям «International guiding principles for biomedical research involving animals» (the Council for International Organizations of Medical Sciences, the International Council For Laboratory Animal Science, 2012) [7, 8]. Проведение эксперимента было одобрено локальной комиссией по биоэтике ФБУН ЕМНЦ ПОЗРПП Роспотребнадзора.

Крысы получали полнорационный комбикорм, сбалансированный по аминокислотному составу, минеральным веществам и витаминам, 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 °С при относительной влажности воздуха 30–70%).

Животные были разделены на 4 группы случайным образом, в каждой группе от 10 до 15 животных. Первая группа подвергалась воздействию ацетата свинца («Pb»), вторая – беговой физической нагрузки (ФН), третья – воздействию двух этих факторов («Pb + ФН»), четвёртая группа являлась контрольной («Контроль»).

В течение 6 нед 3 раза в неделю внутрибрюшинно животным 1-й и 3-й групп вводили раствор 3-водного ацетата свинца в дозировке 11 мг/кг массы тела, соответствующий 1/20 ЛД₅₀. Остальные животные получали физраствор в объёме 2 мл.

Моделирование физической нагрузки во 2-й и 3-й группах выполняли с использованием тредмила (беговой дорожки) «TSE Treadmill System GmbH» («TSE Systems International Group», Германия), причём крысы бегали 10 мин в день 5 дней в неделю на скорости 25 м/мин в течение 6 нед.

Для оценки состояния животных по окончании эксперимента определяли многочисленные биохимические, цитохимические, цитоморфологические показатели. При эвтаназии методом цервикальной дислокации осуществляли забор проб крови. Оценивали активность сукцинатдегидрогеназы по количеству гранул формазана в лимфоцитах крови [9, 10]. Для определения гематологических показателей использовали анализатор «Methic 18». Лейкоцитарную формулу подсчитывали в окрашенных мазках крови. Биохимические показатели были определены с помощью стандартных методов и диагностических наборов. Тканевые мазки-отпечатки с поперечных срезов органов высушивали при комнатной температуре и окрашивали по Лейшману. Клеточный состав и признаки повреждения клетки оценивали на 200 клеток при световой микроскопии. Оценку коэффициента фрагмента-

ции ДНК проводили методом анализа полиморфизма длин амплифицированных фрагментов ДНК на ядерных клетках циркулирующей крови. Рандомизированные олигонуклеотидные и NotI-STS праймеры были сконструированы online с помощью сервиса Oligo version 3.0 (www.oligo.net) и синтезированы на автоматическом синтезаторе ASM 800 (фирма «Биосет»).

Оптимальный режим амплификации выбирали, исходя из длины амплифицируемого фрагмента после пробного цикла моделирования температурного градиента. Стадии начальной денатурации (2 мин при 94 °С) и конечной полимеризации (3 мин при 72 °С) были обязательными в каждом пробном цикле амплификации. Количество циклов подбирали эмпирически для наибольшего выхода специфичного ампликона при минимальном содержании неспецифических фрагментов. Смесь в количестве 25 мкл помещали в амплификатор с заданной программой температурно-временных циклов: T_{ден} 94 °С – 2 мин (T_{ден} 95 °С – 0,2 мин, T_{отж} 64 °С, T_{элон} 72 °С – 0,5 мин) – 29 циклов, T_{элон} 72 °С – 3 мин.

Для повышения чувствительности при постановке реакции использовали специфические праймеры и нуклеотиды (dCTP, dATP, метил-dTTP, Amersham), меченные тритием. Полученный амплификат разделяли в процессе горизонтального агарозного гель-электрофореза в TAE-буфере при 100 В в течение 15 мин. По окончании электрофореза гелевые пластины были разделены на дорожки, в свою очередь разделённые на участки длиной 5 мм. Фрагменты геля помещали во флаконы, содержащие 3 мл абсолютного изопропанола, и нагревали до 80 °С в течение 2 ч. После экстракции из геля амплифицированных фрагментов, содержащих изотопную метку, во флаконы добавляли простой толуоловый сцинтиллятор (6 мл). Регистрацию результатов производили на автоматическом жидкостном сцинтилляционном счётчике «Бета-2».

Основной технологии идентификации степени повреждения ДНК является то, что в отличие от фрагментированной («хвостовой») ДНК нефрагментированная ядерная ДНК имеет крайне низкую степень миграции в агарозном геле, причём степень миграции прямо пропорциональна степени её повреждения.

Прямое сравнение между группами по критерию активности включенной метки в ядерные и хвостовые части исследуемых образцов не всегда информативно. Поэтому чаще нами используется значение соотношения ядерной и хвостовой частей в рамках одной группы – коэффициент фрагментации ДНК (K_{фр}), рассчитываемый по формуле:

$$K_{фр} = \text{Сумм}_{Ахф} / A_{ядр}$$

где K_{фр} – коэффициент фрагментации; Сумм_{Ахф} – суммарная радиоактивность «хвостовых» фракций; A_{ядр} – радиоактивность «ядра».

Статистическую значимость различий между средними арифметическими значениями по группам оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений.

Как и в большинстве наших ранее проведённых исследований по анализу закономерностей двухфакторной комбинированной токсичности, мы использовали метод построения поверхности отклика (the Response Surface Methodology – RSM). Теория метода RSM показывает, что даже на основе эксперимента, в котором использовались только по два уровня каждого воздействия, можно прогнозировать значение У для любой комбинации x_1 и x_2 в пределах этих уровней [11, 12].

Результат

Развившаяся интоксикация в группе, подвергавшейся воздействию только свинца, может быть охарактеризована как умеренно выраженная, поскольку из общего числа оценённых показателей состояния организма крыс статистически значимые неблагоприятные сдвиги в сравнении

с контролем были отмечены в 33,5% показателей, которые представлены в табл. 1.

Заданные параметры бега на тредмиле переносились большинством животных безотказно, что позволяет считать этот бег моделью вполне умеренной мышечной нагрузки. Её влияние на развитие интоксикации свинцом оказалось неоднозначным, причём в 47,4% показателей фактически не изменилось (табл. 2).

В то же время на фоне физической нагрузки развитие свинцовой интоксикации оказалось ослабленным в 28,9% показателей (табл. 3) и усиленным – в 23,7% показателей (табл. 4).

Приведённые выше показатели (см. табл. 1) указывают на нарушения порфиринового обмена и синтеза гема, типичные для свинцовой интоксикации. В частности, для неё характерны увеличение концентрации дельта-АЛК в моче [13, 14], а также снижение показателей гемоглобина и гематокрита в крови [15] при повышенном проценте ретикулоцитов [16]. Активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в лимфоцитах крови служит показателем биоэнергетического и окислительно-восстановительного обмена в клетке [17, 18]. В группе, подвергавшейся токсическому воздействию свинца, активность СДГ была снижена по сравнению с контролем.

Нарушено состояние белкового обмена: снизился общий белок в сыворотке крови за счёт альбуминовой фракции. В совокупности с увеличением содержания церулоплазмينا и активности гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП) в сыворотке крови эти показатели указывают на возможное нарушение функции печени ввиду токсического воздействия свинца. Обнаружено нарушение липидного обмена, проявляющееся в виде снижения уровня липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), что может быть признаком атерогенных изменений, одним из вероятных механизмов гипертензивного действия свинца [19, 20].

Обнаруженный при цитоморфологическом анализе мазков-отпечатков печени рост числа дегенеративно изменённых гепатоцитов говорит о токсическом поражении печени, а нейтрофилов – о воспалительном процессе в органе. Повышение ploидности гепатоцитов является механизмом защиты наследственного материала от окислительного повреждения [21], компенсаторным учащением деления клеток для поддержания функции органа на адекватном уровне.

Существенно увеличилось число дегенеративных клеток проксимальных канальцев и нейтрофилов в мазках-отпечатках почек, что в совокупности с увеличением концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови, говорит о поражении почек со снижением их выделительной функции.

Увеличилась концентрация тиреотропного гормона (ТТГ) гипофиза в сыворотке крови, что свидетельствует об угнетении тиреоидной активности [22].

Под воздействием физической нагрузки увеличилось процентное соотношение дегенеративно изменённых гепатоцитов в мазках-отпечатках печени (см. табл. 2); дегенеративных клеток проксимальных канальцев в мазках-отпечатках почек (см. табл. 3). Такие изменения могут быть связаны с местным повреждением мышечной ткани и утилизацией продуктов разрушения миоцитов печенью и почками.

Повышенная активность СДГ в лимфоцитах крови (см. табл. 3) можно рассматривать как положительное влияние беговой нагрузки на организм животных. Снижение уровня кальция, вероятно, можно рассматривать как естественную реакцию организма на недостаток витамина D ввиду повышенного его расхода в периоды интенсивной физической нагрузки.

Действие свинца на фоне физической нагрузки увеличивало коэффициент фрагментации ядерной ДНК клеток крови (см. табл. 1, 4), что говорит об усилении генотоксического действия свинца [23].

При RSM-анализе практически в 30% случаев по показателям токсического действия свинца на фоне физической нагрузки наблюдали однофакторное воздействие свинца.

Таблица 1 / Table 1

Некоторые показатели состояния организма животных, подвергавшихся воздействию свинца ($x \pm Sx$)
Some characteristics of the state of the lead-exposed rats' organism ($x \pm Sx$)

Показатель Index	Контроль Control	Pb
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/L	148.60 ± 2.44	107.20 ± 3.38*
Гематокрит, % Hematocrit, %	16.73 ± 0.53	12.81 ± 0.21*
Ретикулоциты периферической крови, ‰ Reticulocytes, ‰	21.75 ± 2.25	68.89 ± 4.90*
Моноциты, 10 ⁶ /мл Monocytes, 10 ⁶ /mL	0.656 ± 0.088	1.32 ± 0.19*
Нейтрофилы сегментоядерные, % Segmented neutrophils, %	13.91 ± 1.27	18.80 ± 1.25*
Активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в лимфоцитах крови, количество гранул формазана в 50 лимфоцитах Succinate dehydrogenase (SDH) activity, number of formazane granules per 50 lymphocytes	450.20 ± 3.50	417.09 ± 6.40*
Общий белок в сыворотке, г/л Total protein content of blood serum, g/L	69.39 ± 1.39	62.24 ± 1.54*
Альбумин в сыворотке крови, г/л Albumin content of blood serum, g/L	44.33 ± 1.43	34.92 ± 0.69*
А/Г индекс A/G index in blood serum	1.698 ± 0.092	1.347 ± 0.046*
АЛТ в сыворотке крови, Е/л ALT activity in blood serum, mM/h*L	53.54 ± 2.74	34.22 ± 1.03*
Коэффициент де Ритиса в сыворотке крови De-Ritis coefficient (AST/ALT ratio) in blood serum	3.41 ± 0.27	5.06 ± 0.30*
Церулоплазмин в сыворотке крови, мг% Ceruloplasmin in blood serum, mg%	91.14 ± 3.37	113.05 ± 3.44*
Мочевая кислота в сыворотке, мкмоль/л Uric acid in blood serum, μmol/L	83.88 ± 3.05	123.78 ± 5.93*
ЛПВП в сыворотке крови, ммоль/л HDLP in blood serum, mmol/L	0.987 ± 0.074	0.745 ± 0.061*
Дельта-АЛК в моче, мкг/мл δ-aminolevulinic acid (ALA) in urine, μg/mL	10.92 ± 2.81	439.50 ± 59.48*
Копропорфирин в моче, нмоль/л Total coproporphyrin in urine, nmol/L	184.30 ± 58.07	614.46 ± 77.83*
Масса селезёнки, г Spleen mass, g	0.877 ± 0.048	1.436 ± 0.077*
Дегенеративно изменённые гепатоциты в мазках-отпечатках, % Degenerated hepatocytes of liver tissue imprints, %	3.17 ± 0.48	6.17 ± 0.40*
Двухядерные клетки в мазках-отпечатках печени, % Binucleated hepatocytes of liver tissue imprints, %	1.00 ± 0.00	1.67 ± 0.211*
Нейтрофилы в мазках-отпечатках печени, % Neutrophils of liver tissue imprints, %	7.50 ± 0.96	14.33 ± 1.12*
Нейтрофилы в мазках-отпечатках селезёнки, % Neutrophils of spleen tissue imprints, %	7.17 ± 1.05	16.67 ± 1.20*
Коэффициент фрагментации геномной ДНК ядросодержащих клеток крови крыс Coefficient of genomic DNA fragmentation of nucleated blood cells	0.4192 ± 0.0030	0.4449 ± 0.0007*

Примечание. Здесь и в табл. 2: * – величины, отличающиеся от соответствующих контрольных статистически значимо при $p < 0,05$ по t -критерию Стьюдента.

Note. Here and in Table 2: * – statistically significantly different from the control ($p < 0.05$ by Student test).

На рис. 1, а показан тип сочетанного действия, который, согласно изобольному анализу, наблюдался практически по всем массовым показателям – однофакторное действие свинца на низких дозах переходит в аддитивность на высоких. На рис. 1, б приведены примеры однофакторного действия свинца при низких дозах, переходящего в противоположенное (явный антагонизм) на высоких, то есть беговая нагрузка уменьшает токсические эффекты свинца. Такое

взаимодействие изученных факторов наблюдалось по большей части гематологических показателей и некоторым биохимическим.

Превалирует однофакторное действие свинца для показателей, отражающих функциональное состояние печени. Наблюдается скрытый антагонизм (субаддитивность) при низких дозах свинца и беговой нагрузке, переходящий в однофакторное действие свинца в высоких дозах по показате-

Таблица 2 / Table 2

Некоторые показатели состояния организма животных, подвергавшихся воздействию свинца, не изменившиеся на фоне физической нагрузки ($\bar{x} \pm Sx$)Some characteristics of the state of the lead-exposed rats' organism after which have not changed under physical exercise ($\bar{x} \pm Sx$)

Показатель Index	Контроль Control	Pb	ФН Physical load	Pb + ФН Pb + Physical load
Масса селезёнки, г/100 г массы тела Spleen mass, g/100 g of body mass	0.290 ± 0.012	0.472 ± 0.017*	0.281 ± 0.028	0.495 ± 0.031*
Гемоглобин, г/л / Hemoglobin, g/L	148.60 ± 2.44	107.20 ± 3.38*	145.64 ± 2.10	115.08 ± 3.87*
Общий белок в сыворотке, г/л Total protein content of blood serum, g/L	69.39 ± 1.39	62.24 ± 1.54*	67.80 ± 0.99	63.29 ± 1.17*
Альбумин в сыворотке крови, г/л Albumin content of blood serum, g/L	44.33 ± 1.43	34.92 ± 0.69*	41.45 ± 0.81	35.43 ± 0.99*
A/G индекс / A/G index in blood serum	1.698 ± 0.092	1.347 ± 0.046*	1.585 ± 0.052	1.252 ± 0.049*
АЛТ в сыворотке крови, Е/л ALT activity in blood serum, mM/h*L	53.54 ± 2.74	34.22 ± 1.03*	46.02 ± 2.34	34.23 ± 0.27*
Коэффициент де Ритиса De Ritis coefficient (AST/ALT ratio) in blood serum	3.41 ± 0.27	5.06 ± 0.30*	3.64 ± 0.26	5.09 ± 0.29*
Мочевая кислота в моче, мкмоль/л Uric acid in urine, μmol/L	300.71 ± 60.30	153.67 ± 21.31*	327.43 ± 32.61	130.00 ± 5.66*
Дельта-АЛК в моче, мкг/мл δ-aminolevulinic acid (ALA) in urine, μg/mL	10.92 ± 2.81	439.50 ± 59.48*	8.18 ± 2.54	378.47 ± 60.76*
Тиреотропный гормон (ТТГ) в сыворотке крови, пг/мл Thyroid-stimulating hormone (TSH) in blood serum, pg/ml	11 502.31 ± 396.57	12 607.65 ± 349.86	12 398.47 ± 233.47	13 259.02 ± 251.25*
Нейтрофилы в мазках-отпечатках селезёнки, % Neutrophils of spleen tissue imprints, %	7.17 ± 1.05	16.67 ± 1.20*	9.83 ± 1.40	22.50 ± 2.51*
Гепатоциты в мазках-отпечатках печени, % Hepatocytes of liver tissue imprints, %	77.33 ± 1.76	64.75 ± 0.25*	67.83 ± 1.58*	65.83 ± 0.70*
Дегенеративно изменённые гепатоциты в мазках-отпечатках печени, % Degenerated hepatocytes of liver tissue imprints, %	3.17 ± 0.48	6.17 ± 0.40*	5.50 ± 0.43*	6.83 ± 0.48*
Нейтрофилы в мазках-отпечатках печени, % Neutrophils of liver tissue imprints, %	7.50 ± 0.96	14.33 ± 1.12*	10.17 ± 1.01	14.50 ± 0.43*

Таблица 3 / Table 3

Некоторые показатели состояния организма животных, подвергавшихся воздействию свинца, улучшившиеся на фоне физической нагрузки ($\bar{x} \pm Sx$)Some characteristics of the state of the lead-exposed rats' organism which were improved under physical exercise ($\bar{x} \pm Sx$)

Показатель Index	Контроль Control	Pb	ФН Physical load	Pb + ФН Pb + Physical load
Активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в лимфоцитах крови, количество гранул формазана в 50 лимфоцитах Succinate dehydrogenase (SDH) activity, number of formazane granules per 50 lymphocytes	450.20 ± 3.50	417.09 ± 6.40*	507.29 ± 4.14*	458.00 ± 3.74**
Глюкоза в сыворотке крови, ммоль/л Glucose in blood serum, mmol/L	5.69 ± 0.17	4.47 ± 0.22*	5.80 ± 0.34	5.08 ± 0.16**.
Мочевая кислота в сыворотке, мкмоль/л Uric acid in blood serum, μmol/L	83.88 ± 3.05	123.78 ± 5.93*	70.23 ± 7.00	90.08 ± 4.48**
Кальций общий в сыворотке, ммоль/л Calcium total in blood serum, mmol/L	2.487 ± 0.042	2.353 ± 0.029*	2.368 ± 0.031*	2.388 ± 0.028
Дегенеративные клетки проксимальных канальцев в мазках-отпечатках почек, % Degenerated proximal tubule cells of kidney tissue imprints, %	4.50 ± 0.971	27.83 ± 1.66*	10.17 ± 1.28*	14.67 ± 1.67**.
Двуядерные клетки в мазках-отпечатках печени, % Binucleated hepatocytes of liver tissue imprints, %	1.00 ± 0.00	1.67 ± 0.211*	1.17 ± 0.17	1.50 ± 0.34

Примечание. Здесь и в табл. 4: * — величины, отличающиеся от соответствующих контрольных; ** — величины, отличающиеся от соответствующих в группе «Pb» статистически значимо при $p < 0,05$ по t -критерию Стьюдента.

Note. Here and in Table 4: * — statistically significantly different from the control; ** — denotes values which are statistically significantly different from the «Pb» group ($p < 0.05$ by Student test).

Таблица 4 / Table 4

Некоторые показатели состояния организма животных, подвергавшихся воздействию свинца, ухудшившиеся на фоне физической нагрузки ($x \pm Sx$)

Some characteristics of the state of the lead-exposed rats' organism which deteriorated under physical exercise ($x \pm Sx$)

Показатель Index	Контроль Control	Pb	ФН Physical load	Pb + ФН Pb + Physical load
Мочевина в моче ммоль/л (Urea in urine, mmol/L)	289.12 ± 49.41	231.56 ± 36.07	315.33 ± 27.01	181.60 ± 11.99*
Креатинин в моче, ммоль/л (Creatinine in urine, μmol/L)	2.53 ± 0.41	1.92 ± 0.28	2.79 ± 0.24	1.63 ± 0.14*
Триглицериды в сыворотке крови, ммоль/л Triglycerides in blood serum, mmol/L	1.41 ± 0.20	1.50 ± 0.15	1.28 ± 0.12	1.848 ± 0.064
Зрелые лимфоциты, пролимфоциты в мазках-отпечатках селезёнки, % Mature lymphocytes and prolymphocytes of spleen tissue imprints, %	81.67 ± 2.33	74.67 ± 1.76*	77.83 ± 1.08	68.00 ± 1.915 **
Коэффициент фрагментации геномной ДНК ядросодержащих клеток крови крыс Coefficient of genomic DNA fragmentation of nucleated blood cells	0.4192 ± 0.0030	0.4449 ± 0.0007*	0.4217 ± 0.0025* **	0.4894 ± 0.0008* **

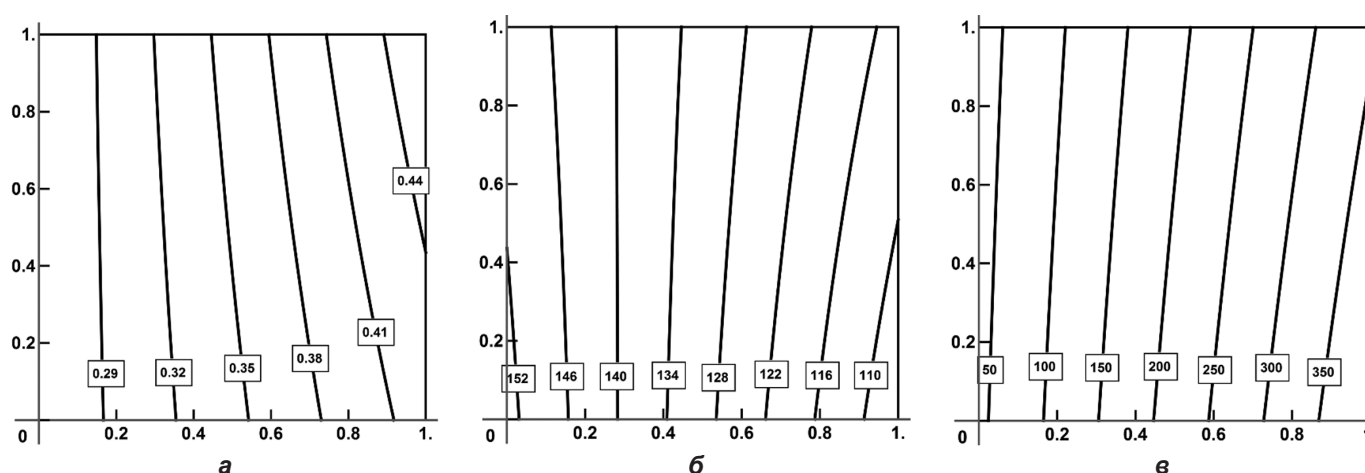


Рис. 1. Однофакторное действие свинца на фоне физической нагрузки на массу селезёнки, г/100 г массы тела, % (а); концентрацию гемоглобина в крови, г/л (б); концентрацию дельта-АЛК в моче, мкг/мл (в). На осях – дозы факторов в долях соответствующей полной дозы; на изоболах – величина соответствующего эффекта.

Fig. 1. Univariate effect of lead on the background of physical activity on spleen weight, g/100 g body weight, % (a); the concentration of hemoglobin in the blood, g/L (b); urinary δ-aminolevulinic acid (ALA) concentration, μg/ml (v). On the axes – doses of factors in fractions of the corresponding total dose; on isobols – the magnitude of the corresponding effect.

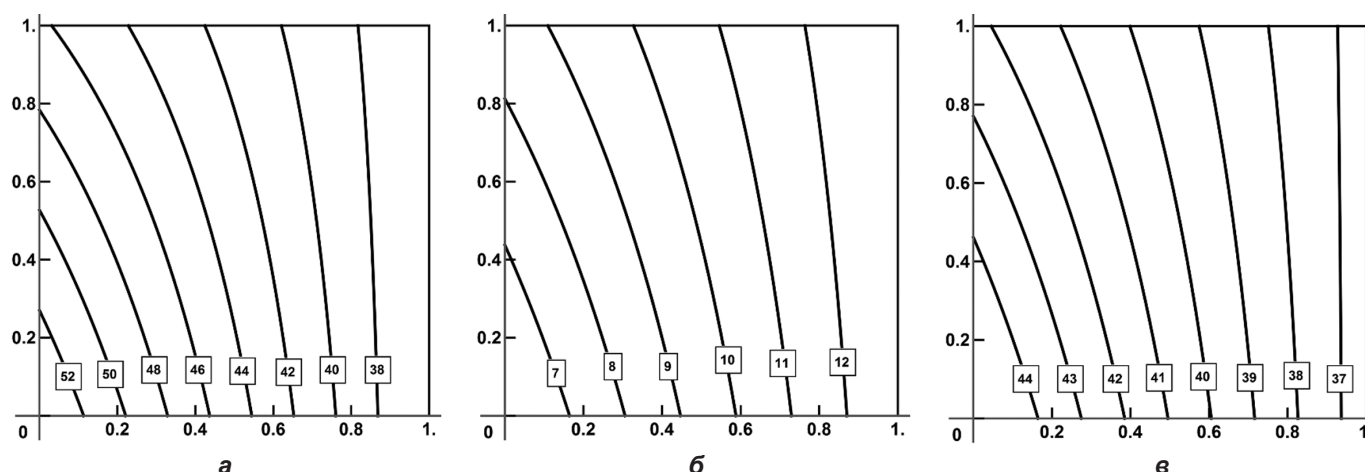


Рис. 2. Изоболограммы, иллюстрирующие сочетанное действие свинца на фоне физической нагрузки на активность АЛТ, е/л (а); нейтрофилы в мазках-отпечатках печени, % (б); альбумины в сыворотке крови, г/л (в). На осях – дозы факторов в долях соответствующей полной дозы; на изоболах – величина соответствующего эффекта.

Fig. 2. Isobolograms characterizing the unidirectional type of action produced by Pb with physical exercises on the ALT activity in blood serum, mM/h*L (a); Neutrophils of liver tissue imprints, % (б); Albumin content of blood serum, g/L (в). The factor doses on the axes are plotted in fractions of the actual ones. On isobols – the magnitude of the corresponding effect.

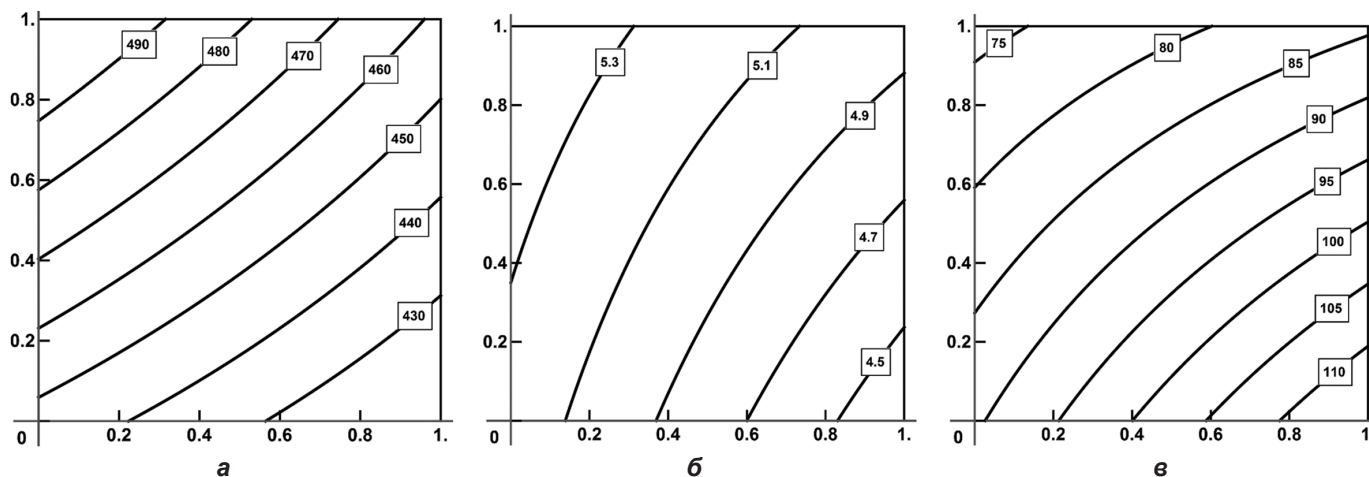


Рис. 3. Противонаправленное действие свинца на фоне физической нагрузки на активность СДГ, количество гранул формазана в 50 лимфоцитах (а); уровень глюкозы в сыворотке крови, ммоль/л (б); уровень мочевой кислоты в сыворотке крови, мкмоль/л (в). На осях – дозы факторов в долях соответствующей полной дозы; на изоболах – величина соответствующего эффекта.

Fig. 3. The opposite effect of lead against the background of physical activity on the activity of SDH, the number of formazan granules in 50 lymphocytes (а); serum glucose level, mmol/l (б); the level of uric acid in the blood serum, $\mu\text{mol/L}$ (в). On the axes – doses of factors in fractions of the corresponding total dose; on isobols – the magnitude of the corresponding effect.

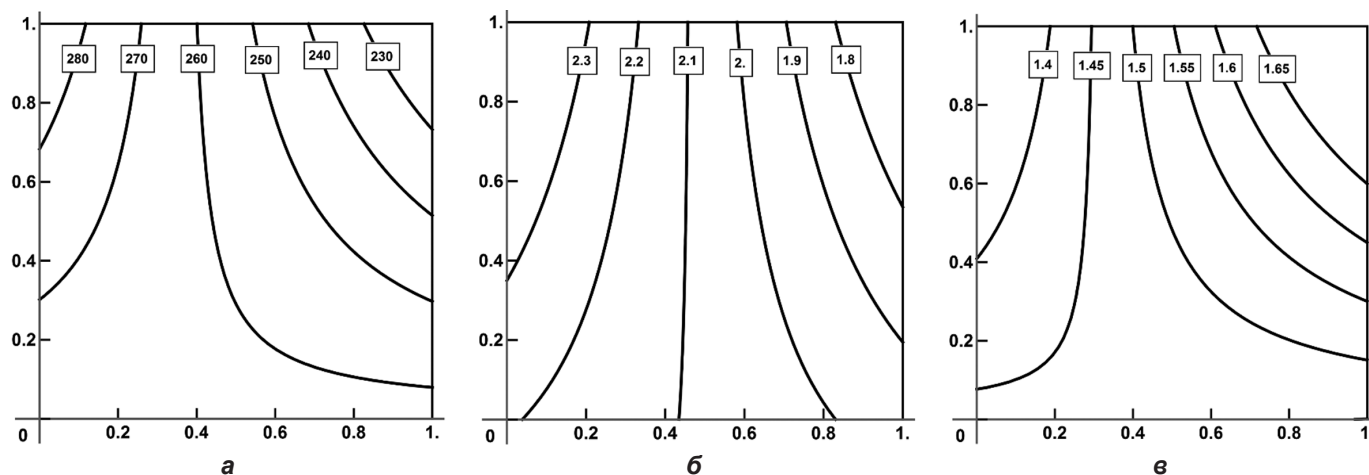


Рис. 4. Неоднозначность воздействия свинцовой интоксикации на фоне физической нагрузки на уровень мочевины в моче ммоль/л (а); уровень креатинина в моче, ммоль/л (б); уровень триглицеридов в сыворотке крови, ммоль/л (в). На осях – дозы факторов в долях соответствующей полной дозы; на изоболах – величина соответствующего эффекта.

Fig. 4. Ambiguity of the effect of lead intoxication against the background of physical activity on the level of urea in urine mmol/L (а); urine creatinine level, mmol/L (б); serum triglyceride level, mmol/L (в). On the axes – doses of factors in fractions of the corresponding total dose; on isobols – the magnitude of the corresponding effect.

лю «активность аланинаминотрансферазы» (АЛТ) (рис. 2, а). Аналогичная картина наблюдается по цитоморфологическому показателю процентного соотношения нейтрофилов в мазках-отпечатках печени и уровню альбуминов в сыворотке крови (рис. 2, б, в).

Более чем в 20% случаев по показателям токсического действия свинца на фоне физической нагрузки обнаружилось противонаправленное действие свинца и физической нагрузки (рис. 3).

Приблизительно в 17% случаев нами было обнаружено защитное действие физической нагрузки при малых дозах свинца (противонаправленное сочетанное действие), переходящее в аддитивность через синергизм на высоких дозах (рис. 4).

Для показателей, отражающих функцию почек, обнаружена неоднозначность сочетанного действия свинца и физической нагрузки. Наблюдается противонаправленное

действие уровня креатинина и мочевой кислоты в сыворотке крови (рис. 3, б, в) и защитное действие физической нагрузки при малых дозах свинца (противонаправленное сочетанное действие), переходящее в аддитивность через синергизм на высоких дозах по показателям уровней мочевины и креатинина в моче (рис. 4, а, б).

Обсуждение

Анализ полученных экспериментальных данных показал, что беговая физическая нагрузка неоднозначно влияет на развитие свинцовой интоксикации по ряду показателей. Аналогичная картина неоднозначности типа сочетанного действия химического и физического фактора была показана при исследовании влияния фтористой интоксикации и магнитных полей [24], а также при исследовании комбинированного действия токсикантов [25].

Заключение

Моделирование субхронической интоксикации путём интраперитонеальных повторных инъекций крысам привело к развитию умеренно выраженной свинцовой интоксикации.

Мышечная нагрузка оказывала незначительное влияние на развитие свинцовой интоксикации: часть показателей не изменились, часть улучшились, по части наблюдались ухудшения. Важно отметить, что сочетанное действие указанных физических и химических факторов увеличивало коэффи-

циент фрагментации ядерной ДНК клеток крови, что говорит о возможном усилении генотоксического действия свинца при физической нагрузке.

Математический анализ, основанный на модели поверхности отклика, показал, что в полном соответствии с ранее проведенными нами исследованиями [24] сочетанное действие химического и физического факторов характеризуется типологическим разнообразием в зависимости не только от того, по какому конкретному эффекту оно оценивается, но также от дозы и уровня эффекта.

Литература

(п.п. 3–7, 11–17, 19–21, 23–25 см. References)

1. Кашельсон Б.А. О некоторых механизмах комбинированного действия, играющих роль в патогенезе силикоза. В кн.: *Комбинированное действие химических и физических факторов производственной среды*. Свердловск; 1972.
2. Кустов В.В., Тиунов Л.А., Васильев Г.А. *Комбинированное действие промышленных ядов*. М.: Медицина; 1975.
3. Р 1.2.3156-13. Оценка токсичности и опасности химических веществ и их смесей для здоровья человека. М.; 2013.
4. Иванова Л.А. *Цитохимия ферментов клеток крови в диагностике, оценке характера течения и эффективности терапии некоторых профессиональных заболеваний*: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. М.; 1991.
5. Кондрашова М.Н. Накопление и использование янтарной кислоты в митохондриях. В кн.: *Митохондрии. Молекулярные механизмы ферментативных реакций*. М.: Наука; 1972: 151–70.
6. Федорин Д.Н., Добычина М.А., Лопырева М.В., Черкасских М.В., Епринцев А.Т. Зависимость экспрессии генов мембранно-связанных субъединиц сукцинатдегидрогеназы от степени метилирования отдельных СО-динуклеотидов их промоторов. *Auditorium*. 2017; (2): 65–70.
7. Абылаев Ж. *Состояние эндокринной системы при хронической свинцовой интоксикации*: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. М.; 1990.

References

1. Katsnelson B.A. Some mechanisms of combined action that play a role in the pathogenesis of silicosis. In: *Combined Action of Chemical and Physical Factors of the Industrial Environment [Kombinirovannoe deystvie khimicheskikh i fizicheskikh faktorov proizvodstvennoy sredy]*. Sverdlovsk; 1972. (in Russian)
2. Kustov V.V., Tiunov L.A., Vasil'ev G.A. *Combined Action of Industrial Poison [Kombinirovannoe deystvie promyshlennykh yadov]*. Moscow: Meditsina; 1975. (in Russian)
3. Llerena F., Maynar M., Barrientos G., Palomo R., Robles M.C., Caballero M.J. Comparison of urine toxic metals concentrations in athletes and in sedentary subjects living in the same area of Extremadura (Spain). *Eur. J. Appl. Physiol*. 2012; 112(8): 3027–31. <https://doi.org/10.1007/s00421-011-2276-6>
4. Maynar-Mariño M., Llerena F., Bartolomé I., Crespo C., Muñoz D., Robles M.C., et al. Effect of long-term aerobic, anaerobic and aerobic-anaerobic physical training in serum toxic minerals concentrations. *J. Trace Elem. Med. Biol*. 2018; 45: 136–41. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2017.10.007>
5. Roshan V.D., Assali M., Moghaddam A.H., Hosseinzadeh M., Myers J. Exercise training and antioxidants: effects on rat heart tissue exposed to lead acetate. *Int. J. Toxicol*. 2011; 30(2): 190–6. <https://doi.org/10.1177/1091581810392809>
6. Shahandeh M., Roshan V.D., Hosseinzadeh S., Mahjoub S., Sarkisian V. Chronic exercise training versus acute endurance exercise in reducing neurotoxicity in rats exposed to lead acetate. *Neural. Regen. Res*. 2013; 8(8): 714–22. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2013.08.006>
7. ICLAS. International guiding principles for biomedical research involving animals; 2012.
8. Р 1.2.3156-13. Assessment of the toxicity and hazard of chemicals and their mixtures for human health. Moscow; 2013. (in Russian)
9. Ivanova L.A. *Cytochemistry of blood cell enzymes in the diagnosis, assessment of the nature of the course and the effectiveness of therapy for certain occupational diseases*: Diss. Moscow; 1991. (in Russian)
10. Kondrashova M.N. Accumulation and utilization of succinic acid in mitochondria. In: *Mitochondria. Molecular Mechanisms of Enzymatic Reactions [Mitokhondrii. Molekulyarnye mekhanizmy fermentativnykh reaktsiy]*. Moscow: Nauka; 1972: 151–70. (in Russian)
11. Katsnelson B.A., Minigalieva I.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B., et al. Some patterns of metallic nanoparticles' combined subchronic toxicity as exemplified by a combination of nickel and manganese oxide nanoparticles. *J. Food Chem. Toxicol*. 2015; 86: 351–64. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.11.012>
12. Minigalieva I.A., Katsnelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B., et al. In vivo toxicity of copper oxide, lead oxide and zinc oxide nanoparticles acting in different combinations and its attenuation with a complex of innocuous bio-protectors. *Toxicology*. 2017; 380: 72–93. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.02.007>
13. Klotz K., Göen T. Human biomonitoring of lead exposure. *Met. Ions. Life Sci*. 2017; 10: 17. <https://doi.org/10.1515/9783110434330-006>
14. Kayaalti Z., Sert S., Kaya-Akyüz D., Söylemez E., Söylemezoğlu T. Association between delta-aminolevulinic acid dehydratase polymorphism and placental lead levels. *Environ. Toxicol. Pharmacol*. 2016; 41: 147–51. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.11.017>
15. Lee S.H. The effects of lead exposure on hematocrit and hemoglobin. *Korean J. Prev. Med*. 1980; 13(1): 41–6.
16. Peters J.L., Perry M.J., McNeely E., Wright R.O., Heiger-Bernays W., Weuve J. The association of cadmium and lead exposures with red cell distribution width. *PLoS One*. 2021; 16(1): e0245173. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245173>
17. Oyedotun K.S., Lemire B.D. The quaternary structure of the saccharomyces cerevisiae succinate dehydrogenase: homology modeling, cofactor docking, and molecular dynamics simulation studies. *J. Biol. Chem*. 2004; 279(10): 9424–31. <https://doi.org/10.1074/jbc.M311876200>
18. Fedorin D.N., Dobychina M.A., Lopyreva M.V., Cherkasskikh M.V., Eprintsev A.T. Dependence of gene expression of membrane-bound subunits of succinate dehydrogenase on the degree of methylation of individual CO dinucleotides of their promoters. *Auditorium*. 2017; (2): 65–70. (in Russian)
19. Tarugi P., Calandra S., Borella P., Vivoli G.F. Heavy metals and experimental atherosclerosis. Effect of lead intoxication on rabbit plasma lipoproteins. *Atherosclerosis*. 1982; 45(2): 221–34. [https://doi.org/10.1016/0021-9150\(82\)90140-X](https://doi.org/10.1016/0021-9150(82)90140-X)
20. Skoczynska A., Smolik R., Jeleń M. Lipid abnormalities in rats given small doses of lead. *Arch. Toxicol*. 1993; 67(3): 200–4. <https://doi.org/10.1007/BF01973308>
21. Anatskaya O.V., Vinogradov A.E. Genome multiplication as adaptation to tissue survival: Evidence from gene expression in mammalian heart and liver. *Genomics*. 2007; 89(1): 70–80. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2006.08.014>
22. Aбылаев Ж. *The state of the endocrine system in chronic lead intoxication*: Diss. Moscow; 1990. (in Russian)
23. García-Lestón J., Méndez J., Páraso E., Laffon B. Genotoxic effects of lead: an updated review. *Environ. Int*. 2010; 36(6): 623–36. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.04.011>
24. Katsnelson B.A., Tsepilov N.A., Panov V.G., Sutunkova M.P., Varaksin A.N., Gurvich V.B., et al. Applying theoretical premises of binary toxicity mathematical modeling to combined impacts of chemical plus physical agents (a case study of moderate subchronic exposures to fluoride and static magnetic field). *Food Chem. Toxicol*. 2016; 95: 110–20. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.06.024>
25. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Sutunkova M.P., Minigalieva I.A., Gurvich V.B., Shur V.Y., et al. Experimental research into metallic and metal oxide nanoparticle toxicity in vivo. In: *Bioactivity of Engineered Nanoparticles*. Singapore; 2017: 259–319.