

# Эффект изолимонной кислоты в модели обучения и памяти у крыс, подвергшихся нейротоксическому воздействию свинца и молибдена

<sup>1</sup>Моргунов И.Г., <sup>1</sup>Камзолова С.В., <sup>2</sup>Карпухина О.В., <sup>3</sup>Бокиева С.В., <sup>2</sup>Иноземцев А.Н.

<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, ФИЦ Пущинский Научный центр биологических исследований РАН, г. Пущино; [morgunovs@rambler.ru](mailto:morgunovs@rambler.ru)

<sup>2</sup>МГУ им. Ломоносова, биологический факультет, кафедра высшей нервной деятельности, г. Москва

<sup>3</sup>Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова, г. Владикавказ

В последние годы обсуждаются перспективы применения (2R,3S)-изолимонной кислоты (ИЛК), произведенной с помощью микробного синтеза. Развивается направление об использовании ИЛК в виде лактонов с хиральными свойствами, перспективными для синтеза соединений с противораковой активностью [1]. Триметилизоцитрат рассматривается в качестве средств лечения болезни Паркинсона [2]. Мы разработали технологию получения препарата монокалийной соли ИЛК, который является эффективным протектором от воздействия тяжелых металлов у одноклеточных организмов и по своему положительному действию превосходит классический антиоксидант – аскорбиновую кислоту [3]. Продолжение изучения антиоксидантных свойств ИЛК при интоксикации тяжелыми металлами актуально в связи с тем, что их широкое распространение в окружающей среде вызывает различные патологии, в том числе, расстройства высших психических функций, такие как обучение и память [4].

Целью настоящей работы было испытание препарата ИЛК в модели обучения и памяти у крыс, подвергшихся нейротоксическому воздействию тяжелых металлов.

Наработка препарата монокалийной соли ИЛК проводилась по ранее разработанному способу [3]. Тестирование препарата ИЛК проводилось с белыми беспородными крысами-самцами. Крысам группы № 1 вводили ИЛК (20 мг/кг); групп № 2 и № 3 - водные растворы диацетата свинца ( $10^{-7}$  М) и молибдата аммония ( $10^{-5}$  М), соответственно; групп № 5 и № 6 – ИЛК в комбинации с солями свинца и молибдена, соответственно. Животные группы № 6 – интактные крысы, получавшие стерильную дистиллированную воду за 1 час до начала опытов с животными других групп. Соли тяжелых металлов вводили внутривентриально по 2 мл за 5 ч до начала опытов, ИЛК – через 4 ч после введения растворов солей тяжелых металлов. У животных в течение 5 опытов (по 25 предъявлений раздражителей в каждом) вырабатывали условную реакцию активного избегания (УРАИ), служащую экспериментальной моделью обучения и памяти [5]. Опыты проводили в челночной камере (60x30x30 см), разделенной перегородкой с отверстием на 2 равные половины. Опыт протекал по следующей схеме: включали звуковой условный раздражитель и через 10 с подавали ток (0,5-0,7 мА) в проводку пола той половины камеры, в которой находилась крыса. Переход животного на другую половину камеры выключал оба стимула. При отсутствии перехода раздражители выключали через 10 с от момента включения тока. Через 30 с раздражители предъявлялись повторно. Условной реакцией активного избегания считали переход крысы на другую половину камеры в ответ на условный стимул. Величину УРАИ оценивали числом правильных реакций в процентах от числа предъявлений стимулов.

Полученные экспериментальные данные приведены в таблице. Под воздействием ИЛК обучение в первые 2 дня проходило быстрее, чем у контрольных крыс, а в остальные дни показатели обучения были сопоставимы с контрольными. Такое избирательное влияние, по-видимому, связано с тем, что в начальный период животные больше всего подвергаются воздействию тока, вызывающего электрошоковый стресс.

Табл. Влияние ИЛК и солей тяжелых металлов на УРАИ

Группа	Вещество	Опытные дни				
		1	2	3	4	5
1	Контроль (H <sub>2</sub> O)	8,8 ± 9,2	28 ± 12,9	54,0 ± 9,7	66,0 ± 12,7	84,0 ± 7,1
2	ИЛК	30,0 ± 11,0*	42,4 ± 10,5*	55,2 ± 11,9	69,6 ± 8,7	80,4 ± 9,5
3	Pb	8,4 ± 14,8	13,6 ± 13,2*	21,6 ± 13,2*	20,0 ± 15,3*	16,8 ± 10,8*
4	Mo	19,6 ± 15,1*	32,4 ± 7,9	40,4 ± 10,0*	57,1 ± 16,1*	68,4 ± 11,5*
5	ИЛК + Pb	11,6 ± 7,2#	35,6 ± 12,9!	46,4 ± 17,3!	63,2 ± 11,8!	78,4 ± 7,1!
6	ИЛК + Mo	36,8 ± 13,6*	54,0 ± 8,1*!	71,2 ± 6,7*!#*	78,4 ± 3,4!#	83,6 ± 9,3!

Данные представлены в виде средней и стандартного отклонения. \* означает  $p < 0,05$  относительно контроля; ! \* -  $p < 0,05$  относительно тяжелых металлов; #\* -  $p < 0,05$  относительно ИЛК.

Так, например, у контрольных крыс в первый день реакций избеганий было меньше 10% (т.е. они в среднем подвергались как минимум 9 ударам тока из каждых 10-ти возможных). Ранее было показано, что выработка УРАИ вызывает помимо электроболевого стресса, и окислительный стресс, при этом антиоксидант карнозин подавляет его и ускоряет обучение [6]. Следовательно, указанное в нашей работе усиление стресса составляет точку приложения для антиоксидантов, что обеспечивает большую возможность для проявления антиоксидантной активности ИЛК. Начиная с 3-его дня число УРАИ увеличивается, а число ударов тока уменьшается, и эффект ИЛК нивелируется. Тяжелые металлы угнетали обучение, хотя и в разной степени. Более сильное угнетающее действие оказал свинец; при его введении животные даже в последний день обучения в среднем получали более 20 ударов тока из 25 возможных. Применение дисперсионного анализа Краскала-Уоллиса показало, что при воздействии диацетата свинца статистически значимого увеличения количества УРАИ, начиная со 2-го опытного дня, не происходило, что свидетельствует о глубоком угнетении обучения и памяти. Эти данные согласуются с ранее полученными [4], что подтверждает хорошую воспроизводимость результатов угнетающего эффекта этого тяжелого металла. В то же время молибден оказывал незначительное угнетение на обучение животных, его применение вызывало статистически значимое уменьшение числа УРАИ относительно контроля только в последние три опытных дня, а в 1-й день, напротив, молибден ускорил обучение. ИЛК противодействует нейротоксической атаке тяжелых металлов на обучение и память. Это видно из того, что число УРАИ при её совместном применении с солями как свинца, так и молибдена превышало таковое при отдельном применении данных солей тяжелых металлов. При этом соль свинца в 1-й опытный день ослабила положительное влияние ИЛК на обучение и память крыс. Следует отметить результаты совместного применения ИЛК с молибдатом аммония: выработка УРАИ при сочетанном воздействии ИЛК и молибдата аммония не только выше выработки УРАИ при воздействии молибдена, но и выше контроля, и выше уровня, полученного под воздействием ИЛК. Таким образом, молибден, в отличие от свинца, усиливает нейропротекторное действие ИЛК.

Таким образом, можно заключить, что ИЛК противодействует электроблевому стрессу, возникающему на начальном этапе выработки УРАИ, и окислительному стрессу, провоцируемому ацетатом свинца и молибдатом аммония.

#### Литература

1. Aurich et al. In: Wang, X., Chen, J., Quinn, P. (Eds.), *Reprogramming microbial metabolic pathways*. Springer, Dordrecht, 2012, pp. 391–424.
2. Yang et al. *PLoS Genet* 2017, 13(8):e1006975.
3. Morgunov et al. *Prep Biochem Biotechnol* 2018, 48(1):1-5.
4. Иноземцев и др. *Вестник Московского университета. Серия 16: Биология*, 2017, 72(3):174-178.
5. Bures et al. *Techniques and basic experiments for the study of brain and behavior*. 2-nd ed. Amsterdam, Elsevier, 1983, 398 p.
6. Бережной и др. *Нейрохимия* 2016, 33(4): 293-300.