

ФІЗИЧНИЙ РОЗВИТОК ЩУРІВ, ЩО ПІДДАЛИСЯ ДІЇ ПОЛІОЛУ У ПРЕНАТАЛЬНИЙ ПЕРІОД

Попова Т.М.¹, Карабан О.М.¹, Мамотенко А.В.².

¹Кафедра ігієни, епідеміології та професійних хвороб ХМАПО

*²Кафедра анатомії та фізіології людини імені проф. д.мед.н. Я.Р. Синельникова
ХНПУ імені Г.С. Сковороди
м. Харків, Україна*

Анотація. У статті представлені результати експерименту з вивчення постнатального онтогенезу щурів лінії Вістар, які у пренатальному періоді розвитку піддавалися впливу поліолу Лапролу-604. На початку експерименту 40 вагітних самиць рандомізовано поділили на 4-и групи. Контрольну групу склали інтактні щури та їхні нащадки. Самицям 1-ої, 2-ої та 3-ої груп, щоденно, внутрішлунково, з 2-го по 20-й гестаційні дні, вводили Лапрол-604 в дозах 0,125; 1,25 та 12,5 мг/кг, відповідно. Досліджували ознаки фізичного розвитку, якість і терміни становлення сенсорно-рухових рефлексів нащадків щурів в продовж 16-ти постнатальних днів за тестами: «перевертання на площині», «негативний геотаксис» та «уникнення обриву». Встановлено, що пренатальна дія Лапролу-604 призвела до статистично значущого зменшення чисельності посліду, маси тіла новонароджених щурят, відставання у фізичному розвитку і термінах формування сенсорно-рухових рефлексів нащадків щурів, у порівнянні з контролем.

Ключові слова: поверхнево-активна речовина, Лапрол-604, поліол, репродуктивна токсичність

Вступ. Поверхнево-активні речовини (ПАР) використовуються у різноманітних галузях народного господарства: нафтопереробній промисловості, сільському господарстві, харчовій промисловості, виробництві фармацевтичних препаратів, миючих та косметичних засобів. Великі обсяги виробництва ПАР призводять до їх потрапляння у навколишнє середовище [1,2,3]. Забруднення ПАР води, ґрунту, повітря, продуктів харчування несе велику загрозу здоров'ю населення, що протягом деяких років може повільно формувати розвиток патологічних станів [4,5]. Це стосується також неіоногенних поліолів, які зазвичай використовують як флотаційні реагенти, емульгатори та ін. [5]. Дані літератури свідчать про різноманітний вплив поліолів на живі організми [6]. З окремих досліджень відома токсична дія ПАР на репродуктивну систему тварин [7].

Мета дослідження. Вивчити постнатальний розвиток нащадків самиць щурів, які отримали неіоногенний поліол Лапрол-604 у гестаційний період.

Матеріали та методи досліджень. Експеримент проведено на 40 вагітних щурах лінії Вістар. В ході дослідження щоденно використовувався 96% розчин Лапролу-604, розведений дистильованою водою. Цю поверхнево-активну речовину було надано науково-виробничою компанією «Синтез ПАР».

На початку дослідження вага всіх відібраних самиць першого гестаційного дня становила 180 ± 20 г. Вагітних самиць рандомізовано поділили на чотири групи по 10 осіб у кожній: контрольну та три експериментальні (1-ша, 2- га та 3-тя

групи). Самицям 1-ої, 2-ої та 3-ої груп, щоденно, внутрішлунково, з 2-го по 21-ий гестаційні дні, вводили Лапрол-604 у дозах 0,125; 1,25 та 12,5 мг/кг, відповідно. Самицям контрольної групи вводили дистильовану воду у кількості 5 мл/ кг, з 2-го по 21-ий гестаційні дні. Тварин всіх груп утримували в індивідуальних поліпропіленових клітках з підстилкою із термообробленої соснової стружки. Мікроклімат приміщення де утримувалися вагітні щури характеризувався температурою 20-22⁰ С, вологістю 50-60% та 12-и годинним світловим режимом (освітлення здійснювали за допомогою ламп денного освітлення в продовж 12-и годин на добу). Живлення тварин здійснювали з вільним доступом до питної води та збалансованим гранульованим кормом, який розміщували у кормушки з широким горлом. У токсикологічному експерименті дотримувалися вимог біоетики «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) та Закону України від 21.02.2006 № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» // Верховна Рада України, 2006, № 27: 230 [8].

Впродовж експерименту щоденно здійснювали контроль за загальним станом самиць: вагою, кількістю спожитої води та їжі, поведінковими реакціями. Починаючи з 22-го гестаційного дня реєстрували кількість щурят у кожній породіллі та досліджували загальний стан новонароджених щурят. Вивчення постнатального розвитку нащадків включало: виживаність щурят, щотижневу реєстрацію маси тіла, термін відлипання вухних раковин, прорізування різців, відкриття очей, опускання сім'яників у самців і відкриття піхви у самок.

Дозрівання сенсорно-рухових рефлексів щурят таких як: «перевертання на площині», «негативний геотаксис» та «уникнення обриву» оцінювали в період з 2-го по 14-й день постнатального розвитку [10,11].

Статистичний аналіз здійснювали за допомогою стандартного пакета програм «Statistica 7,0». Для між групового порівняння, згідно характеру отриманих даних, використовували Н-критерій Краскала-Уоліса і U- критерій Манна-Уїтні. Результати представлені у вигляді $M \pm \sigma$, де М – вибіркове середнє, σ – стандартне відхилення середнього. Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Лапрол-604 продемонстрував токсичний дозозалежний ефект на розвиток нащадків щурів. Так, пренатальна дія досліджуваного ПАР призвела до статистично значимого зменшення кількості новонароджених щурів у 3-й (5,5±1,0), у 2-й (7,1±0,7) та 1-й (8,2±0,6) експериментальних групах, у порівнянні з контролем (9,3±1,1) ($p < 0,01$). Вживання Лапролу-604 вагітними самицями призвело до зниження ваги у новонароджених щурят всіх експериментальних груп в порівнянні з контролем (табл. 1).

Щурята контрольної групи народилися рожевими, проявляли активність впродовж всього постнатального розвитку. Відлипання вухної раковини у них зафіксовані на 2,9±0,6 день після народження, прорізування різців – на 8,4±0,5 день, а відкриття очей – на 14,7±0,8 день. Опускання сім'яників у самців контрольної групи відбулося на 29,3±1,6 добу постнатального онтогенезу, а відкриття вагінального отвору у самиць – на 33,6±1,2 добу. На термін статевої зрілості вага самиць складала 108,6±3,9 г, самців – 112,9 ±5,6 г.

Приріст маси тіла нащадків самиць щурів, які отримували Лапрол-604 у період вагітності (г, М±σ)

Постнатальна доба	Контрольна група	1-ша група	2-га група	3-тя група
1	6,3±0,8	5,9±0,7	5,1±0,6*	4,7±0,8**
2	7,7±0,9	6,7±0,8	5,8±0,6*	4,6±0,7**
3	8,9±0,9	7,8±0,6	6,6±0,8*	—
7	15,8±0,9	14,3±0,7	11,6±0,8*	—
13	25,3±1,6	23,6±0,9	19,8±0,4*	—
22	49,0±2,4	46,2±2,1	38,6±2,1*	—

Примітка: * - вірогідна різниця між 2-ою групою і контрольною групою, $p < 0,05$;
 ** - вірогідна різниця між 2-ою групою і контрольною групою, $p < 0,01$.

На відміну від контролю всі нащадки 3-ої групи були блідими, малорухливими та померли впродовж 48-годин після народження.

50% щурят 2-ої групи померли протягом перших десяти діб з моменту народження, інші 50% – вижили та досягли статевої зрілості, проте, демонстрували затримку у постнатальному розвитку. Пренатальна дія Лапролу-604 призвела до вірогідної ($p < 0,05$) затримки відлипання вухної раковини (відбулося на 4,8±0,7 день) у порівнянні з контролем. За відкриттям очей щури 2-ої групи відставали від контрольних в середньому на 2 доби (16,8±0,6 день, $p < 0,05$).

Відкриття вагінального отвору у самиць відбулося на 39,8±2,6 день, опускання сім'яників у самців – на 37,7±2,4 постнатальну добу, що демонструє вірогідне відставання у статевому розвитку, у порівнянні з контролем, $p < 0,01$. На термін статевого дозрівання вага молодих самиць становила 99,5±2,5 г, самців – 106±2,9 г, що статистично менше у порівнянні з контролем ($p < 0,05$).

Вживання щурят 1-ої групи становило 80% у порівнянні з контролем. Нашадки були активними впродовж постнатального розвитку та досягли статевої зрілості. Проте, серед них зареєстровано тенденцію до зниження набору ваги та відставання за ознаками постнатального онтогенезу у порівнянні з контролем. Так, відлипання вухної раковини у щурів 1-ої групи відбулося на 3,7±0,4 добу, відкривання очей – на 15,2±1,6 добу. На 36,3±2,6 день зафіксовано відкриття вагінального отвору у самиць вагою 101±1,4 г; на 32,4±1,7 день встановлено опускання сім'яників у самців, середня вага, яких складала 98,5±3,6 г.

Найбільш значущим для виявлення ступеня розвиненості нервової системи є дослідження сенсорно-рухових рефлексів і здатності до координації рухів у тварин [10, 12]. Встановлено, що рефлекс «перевертання на площині» у щурів контрольної групи сформувався на 5,2±0,6 постнатальний день, а в 1-ій та 2-ій групах – на 6,2±0,8 і 7,3±0,9 день, відповідно. Дані отриманих результатів представлені на рис.1.

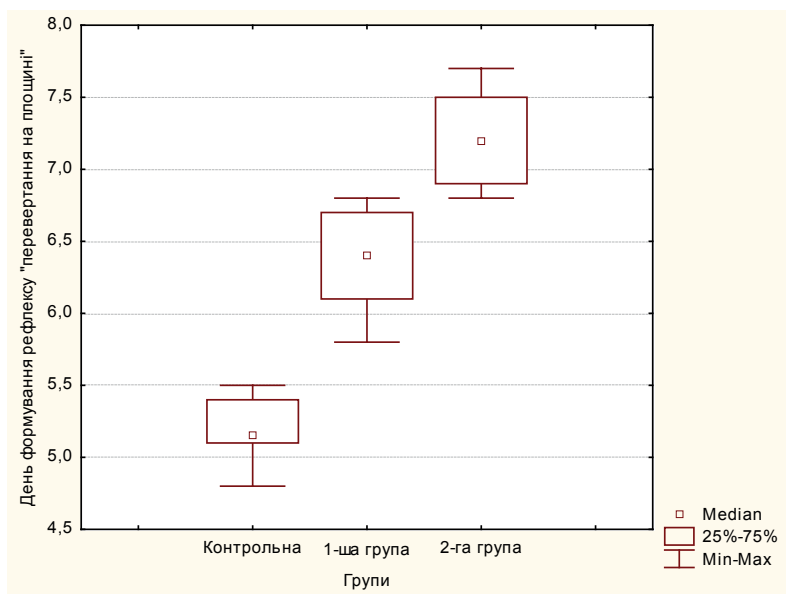


Рис.1. День формування рефлексу «перевертання на площині».

Примітка: Різниця між групами значуще достовірна, Краскала-Уоліса тест $N=25,74$, $p=0,0001$

Рефлекс «негативний геотаксис» у нащадків щурів контрольної групи повністю сформувався на $7,2 \pm 0,6$ день постнатального розвитку, а у тварин 1-ої і 2-ої груп на $8,6 \pm 0,8$ день і на $9,4 \pm 0,8$ день, відповідно. Дані представлені на рис.2.

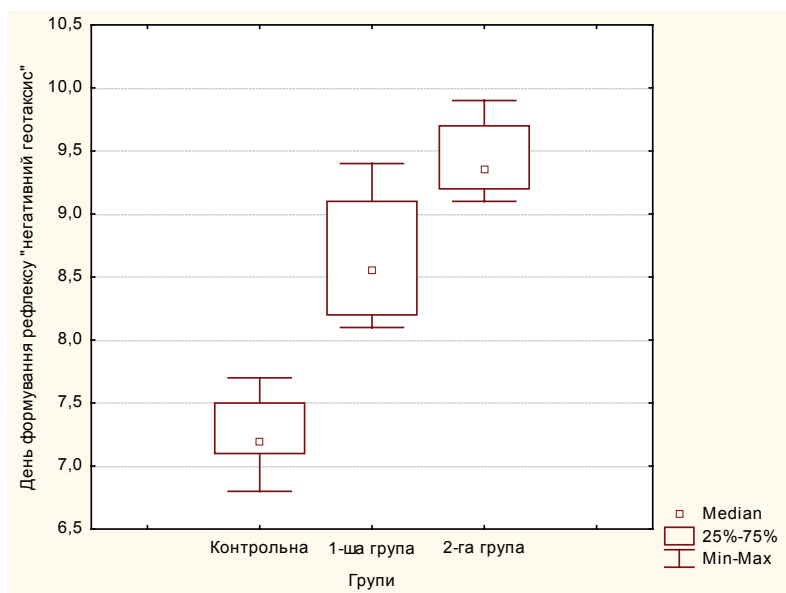


Рис.2. День формування рефлексу «негативний геотаксис».

Примітка: Різниця між групами значуще достовірна, Краскала-Уоліса тест $N=25,65$, $p=0,0001$

Рефлекс «уникнення обриву» у щурят контрольної групи сформувалися на $8,2 \pm 0,6$ день після народження. У нащадків 1-ої групи сформований даний рефлекс виявили на $10,8 \pm 0,9$ день, а у щурів 2-ої групи – $12,4 \pm 0,9$ день. Дані представлені на рис.3.

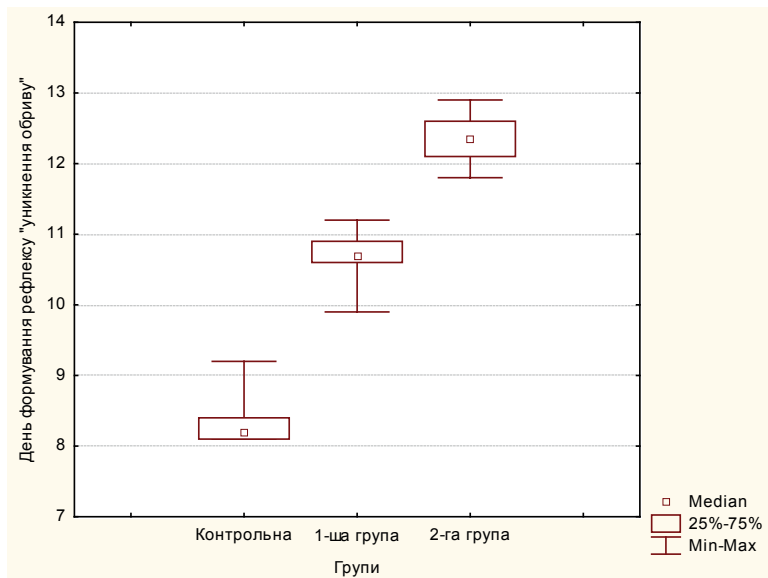


Рис.3. День формування рефлексу «уникнення обриву».

Примітка: Різниця між групами значуще достовірна, Краскала-Уоліса тест $N=25,89$, $p=0,0001$

Одержані результати можуть свідчити про порушення вестибулярного апарату та зниженням їх м'язової сили у щурят 1-ої та 2-ої групи.

Пренатальна дія Лапролу-604 призвела до появи смертності новонароджених щурів у всіх експериментальних групах. Встановлено прямий взаємозв'язок між дефіцитом ваги щурів та відсотком їх смертності (коефіцієнт кореляції Пірсона $r=+0,95$). Вірогідне зменшення кількості нащадків відбулося у всіх експериментальних групах, особливо у 3-й групі. Хоча, 80% щурят 1-ої та 50% щурят 2-ої груп залишилися живими, проте негативний вплив пренатальної дії Лапролу-604 проявився у затримці фізичного розвитку та швидкості дозрівання сенсорно-рухових рефлексів. Так, вони мали дефіцит ваги, затримку у рості, відлипанні вухної раковини, у прорізуванні різців, відкритті очей та статевому дозріванні.

В цілому, пренатальна дія Лапролу-604 позначилася на термінах статевого дозрівання самиць і самців. На відміну від контрольної групи щурів, досліджуваний поліол уповільнював статеве дозрівання самців 2-ої групи на 8 діб, а самиць на 6 діб. Натомість введення меншої дози Лапролу-604 самицям 1-ої групи призвело лише до тенденції у затримці пубертатного розвитку.

Дослідження рухових рефлексів у щурів дозволило оцінити цілісність рефлекторної дуги, стан м'язової сили та вестибулярного апарату щурят на ранніх етапах постнатального розвитку [12].

В даному дослідженні встановлено, що у контрольних щурят рухові рефлекси: «перевертання на площині», «негативний геотаксис» та «уникнення обриву» сформувалися раніше ніж у щурів 1-ої та 2-ої груп, Краскала-Уоліса тест $p=0,0001$. Час,

необхідний для виконання завдання у щурів 1-ої та 2-ої груп достовірно значуще відрізнявся від даних контрольної групи. Уповільнення формування досліджуваних рефлексів безпосередньо пов'язано з часом, який необхідний для їх виконання. Показник часу достовірно значуще збільшився у щурят, які пренатально піддавалися дії Лапролу-604.

Висновки та перспективи

1. Лапролу-604 надав негативний вплив на розвиток нащадків першого покоління самиць щурів, що зазнавали дію поліолу.

2. Вживання щурят експериментальних груп статистично значимо залежало від пренатальної дози Лапролу-604, 3-тя група щурят, що підлягала пренатальної дії Лапролу-604 у дозі 12,5 мг/кг, впродовж 48 постнатальних годин загинула; щурята 2-ої групи, що отримали дозу Лапрола-604 1,25 мг/кг в антенатальний період статистично значуще відставали у фізичному, статевому та сенсорно-руховому розвитку; щурята 1-ої групи, при дозі Лапролу-604 – 0,125 мг/кг, яку отримали у пренатальний період, мали уповільнення постнатального онтогенезу.

3. Наслідки дії Лапролу-604 у пренатальному періоді на щурят зафіксована у затримці формування рухових рефлексів та зниження їх м'язової сили.

У перспективі доцільно вивчити патофізіологічні механізми віддалених наслідків дії Лапролу-604.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ivanković T, Hrenović J. Surfactants in the environment: Arh. Hig. Rad. Toksikol. 2010; 61(1):95-110.
2. Lara-Martin PA, Gomez-Parra A, Gonzalez-Mazo E. Sources, transport and reactivity of anionic and non-ionic surfactants in several aquatic ecosystems in SW Spain: a comparative study: Environmental Pollution. 2008; 156(1):36-45.
3. Olkowska E, Ruman M, Kowalska A and Polkowska Z Determination of surfactants in environmental samples. Part III. Non-ionic compounds: Ecological Chemistry and Engineering S. 2013; 20 (3):449-461.
4. Ying GG. Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environmento Environ. Int. 2006; 32(3): 417-431.
5. Popova TM, Zharova NV, Kolesnik IL, Apolonina AV. et al The typical pathochemical reactions of the damaging impact of detergents as sources of radiotoxins. Problems of environment and medicine. 2015;19 (5/6):11-16.
6. Calvin G, Long P. Ethylenediaminetetra (methylene phosphonic acid genotoxicity), biodistribution, subchronic and chronic toxicity in rats: Chemical toxicology.1988;26:601-610.
7. Zhukov V, Telegin V, Zaytseva O. Toxicologic and hygienic characteristics of P-373-2-20; P-5003-AC; P-294-2-35 polyols an prognosis of their potential danger to environment: Science Research.2013;1(2):31-34.
8. Council of Europe [France]. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg,18.III.1986, <http://conventions.coe.int/treaty/en/Treaties/Word/123.doc>
9. Ramesh C Gupta. Reproductive and Developmental Toxicology: Academic press ELSEVIER. 2011.1223 p.
10. Adams J. Methods in behavioral teratology. In: Riley EPAV, CV, editors. Handbook of behavioral teratology. New York: Plenum Press.1986.67-97p.
11. Nguyen AT, Armstrong EA, Yager J.Y. Neurodevelopmental Reflex Testing in Neonatal Rat Pups. Journal of Visualized Experiments.2017;122. doi: 10.3791/55261.
12. Feather-Schussler DN, Ferguson T.S. A Battery of Motor Tests in a Neonatal Mouse Model of Cerebral Palsy. Journal of visualized experiments. 2016;117. doi: 10.3791/53569.

PHYSICAL DEVELOPMENT OF RATS IFLUENCED BY POLYOL IN PRENATAL PERIOD

*T. M. Popova, O. M. Karaban, A.V. Mamotenko**

Abstract. *The results of study postnatal ontogenesis of Wistar rats influenced by nonionic polyol Laprol-604 in prenatal period are introduced in this article. 40 pregnant female Wistar rats were randomly divided into 4 groups at the beginning of experiment. The control group consisted of the intact pregnant rats and their offspring. Pregnant Wistar rats of the 1-st, 2-nd and 3-rd groups were administered by 0,125; 1,25 and 12,5 mg/kg Laprol-604, respectively, once daily by gavage from the 2-nd to the 20-th gestational days. The signs of physical development of the rat offspring, the quality and time of the formation their sensory-motor reflexes were studied during 16 postnatal days. The animals' neonatal reflex maturation were assessed using righting versus, negative-geotaxis and cliff-avoidance. The prenatal effect of Laprol-604 led to statistically significant decrease the litter size, birth weight of rat offspring, physical retardation and delaying sensory-motor reflexes formation compared with the control intact rats' offspring.*

Keywords: *surfactant, Laprol-604, polyol, reproductive toxicity*

Тетяна Попова, ORCID ID 0000-0002-7842-5346,
popovatatyanamikh@gmail.com

УДК 614.71:543.275.3]:614.8.026.1

ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА НАСЕЛЕННЫХ ПУНКТОВ ТВЕРДЫМИ ЧАСТИЦАМИ ДИСПЕРСНОСТЬЮ 10 И 2,5 МИКРОН НА ПОКАЗАТЕЛИ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ НАСЕЛЕНИЯ

*Просвирякова И.А., Пшегорода А.Е., Ганькин А.Н., Гриценко Т.Д., Соколов С.М.
Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»
г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. *В данной статье представлены результаты исследования закономерных количественных связей между уровнями риска здоровью и показателями заболеваемости детского населения при различной степени загрязнения атмосферного воздуха твердыми частицами дисперсностью 10 и 2,5 мкм, входящих в состав выбросов промышленного предприятия.*

Ключевые слова: *загрязнение атмосферного воздуха, здоровье населения, твердые частицы, риск здоровью.*

Вступление.

Всемирной организацией здравоохранения твердые частицы дисперсностью 10 и 2,5 микрон, содержащиеся в атмосферном воздухе, отнесены к значимым факто-