

ТЕОРЕТИЧНА І ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

УДК 546.81:620.3:6/8.33-092.9

*Е.М. Білецька, Н.М. Онул**ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»***ВПЛИВ СВИНЦЮ У МАКРОФОРМІ І У ВИГЛЯДІ ЦИТРАТУ,
ОТРИМАНОГО ЗА НАНОТЕХНОЛОГІЄЮ, НА ПЕРЕБІГ ВАГІТНОСТІ
ТА АНТЕНАТАЛЬНИЙ РОЗВИТОК ЩУРІВ**

Подано результати вивчення впливу сполук свинцю в макроформі і у вигляді цитрату, отриманого з використанням нанотехнологій, на ембріогенез щурів. Встановлено, що свинець навіть у низьких дозах зумовлює порушення фізіологічного перебігу вагітності, антенатального розвитку потомства, що проявляється у збільшенні ембріональної смертності, погіршенні морфометричних показників плодів та порушенні плацентогенезу.

Ключові слова: свинець, експеримент, ембріотоксичність, вплив.

Науково-технічна революція зумовила появу нанотехнологій – технологій направленого отримання та використання речовин і матеріалів у діапазоні розмірів менше 100 нм. Активне використання наночастинок у різних галузях діяльності людини надає їм значення нового антропогенного чинника, який може бути потенційно небезпечним не тільки для здоров'я людини і тварини, а і для повноцінного існування екосистеми [1].

Переваги наночастинок, які відрізняють їх від макродисперсних форм речовин: малий розмір, структура, хімічний склад і велика площа поверхні – роблять їх потенційно небезпечними для живих організмів, оскільки значно підвищують їхню біологічну активність [1]. Безпечність наноматеріалів залежить від механізму їх патогенетичної дії, який включає оксидативний стрес, системну циркуляцію наноструктур в організмі, а також гено-, ембріо- і органотоксичний ефекти. За дії наночастинок розвиваються гострі і/або віддалені наслідки [2].

Особливу небезпеку можуть становити наночастинок важких металів, зокрема свинцю. Сполуки свинцю широко розповсюджені у навколишньому середовищі та, за даними ВООЗ, є одними з основних забруднювачів довкілля на сьогоднішній день [3]. Навіть на рівні фактора малої інтенсивності вони характеризуються високою токсичністю [4] і здатністю до кумуляції як в екосистемах, так і в організмі людини, яка мешкає в умовах підвищеного техногенного навантаження, що особливо небезпечно для критичних верств населення – вагітних та дітей, оскільки призводить до погіршення здоров'я, в тому числі репродуктивного, детермінує розвиток ускладнень вагітності, пологів та післяпологового періоду, погіршення показників фізичного та інтелектуального розвитку дитини в подальшому [3–6].

В останні роки частка токсикологічних досліджень з вивчення впливу наночастинок на об'єкти довкілля та людину суттєво зросла [7]. Незважаючи на численні дані щодо

© *Е.М. Білецька, Н.М. Онул, 2013*

ембріотоксичності свинцю, а також досить активні дослідження впливу наноматеріалів на організм, вони майже не стосуються питань впливу низьких доз свинцю у макро- та наноформі, порівняльні аспекти їх токсичної дії практично відсутні. Тому експериментальні роботи із зазначеного напрямку є актуальними.

Метою нашого дослідження є порівняльна оцінка впливу свинцю у макроформі і у вигляді цитрату, отриманого за нанотехнологією, на організм вагітних та антенатальний розвиток в умовах лабораторного експерименту на щурах.

Матеріал і методи. В експерименті використано методичні підходи, що відповідають сучасним міжнародним вимогам до проведення токсикологічних експериментів з використанням тварин згідно з Європейською конвенцією [8]. Тварин утримували в оптимальних умовах віварію на стандартному раціоні із вільним доступом до води та їжі відповідно до існуючих вимог [9]. Адаптаційний період становив 12 днів. Протягом цього часу визначали загальний стан самиць, циклічність і тривалість естрального циклу.

Тварин зі стійким ритмом естрального циклу у віці 3–3,5 міс з масою тіла 170–200 г у стадії проеструс і еструс парували з інтактними самцями за схемою 2:1. Перший день вагітності визначали за наявністю сперматозоїдів у піхвових мазках [10].

В експериментальних моделях використовували розчини ацетату свинцю та цитрату свинцю, отриманого за нанотехнологією Українським державним НДІ нанобіотехнологій та ресурсозбереження (м. Київ).

Самиць щурів з датованим терміном вагітності розподілили на три групи, одна з яких контрольна, дві – дослідні. Дослідна група 1 отримувала ацетат свинцю, дослідна група 2 – цитрат свинцю. Досліджувані метали вводили самицям щурів внутрішньошлуночково за допомогою зонда з 1-го по 19-й день вагітності у дозі 0,05 мг/кг маси тіла, що у 10 разів вище порівняно з рівнем його сумарного добового надходження в організм вагітних в умовах промислових територій та становить близько 1/30000 LD50 Щурам контрольної групи в цей термін вводили розчинник, що використовували при приготуванні агента впливу, тобто дистильовану воду.

Під час уведення препарату реєстрували загальний стан і поведінку самок, масу та розміри тіла, ректальну температуру. Масу, ректальну температуру та краніокаудальний розмір самиць вимірювали кожні 3–4 дні, тобто всього проведено 1050 вимірювань.

На кінцевому етапі дослідження проводили миттєву декапітацію тварин під тіопенталовим наркозом і брали біологічні матеріали для виконання подальших досліджень. Виділяли матку з рогами, плоди з плацентами вилучали з матки, перевіряли на тест «живі–загиблі», зважували, вимірювали краніокаудальний розмір і діаметр, визначали стать, розраховували масо-ростовий коефіцієнт плодів і плодово-плацентарний коефіцієнт, показники ембріональної смертності за загальноприйнятими методиками [10].

Всі отримані в роботі цифрові дані обробляли комп'ютерними програмами Microsoft Excel, Statistica 10. Тестування вибірок на їх відмінність та на відповідність нормальному закону розподілу проводили із використанням статистичного пакета Statistica 10. Інші розрахунки й оформлення графічного матеріалу проводили в електронних таблицях Microsoft Excel. Достовірність відмінностей визначали за t-критерієм Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Аналіз результатів впливу свинцю у макроформі та у вигляді наноцитрату на організм вагітних самиць щурів за інтегральними показниками свідчить про порушення фізіологічного перебігу вагітності, більш вираженого для ацетату свинцю. Так, приріст маси тіла вагітних самиць, що зазнавали впливу ацетату свинцю, був нижчим у всі періоди вагітності, особливо на 2-му та 3-му тижнях, хоча без достовірних відмінностей (табл. 1). В той же час за весь період експерименту приріст маси виявився на 17,38 г ($p < 0,05$), або 9,55 %, нижче, ніж у групі контролю, при відсутності відмінностей порівняно з контролем у групі, що отримувала наноцитрат свинцю. Відмінності у динаміці розмірів тіла вагітних самиць експериментальних та контрольних груп відсутні.

Ректальна температура тіла вагітних самиць щурів, яка є інтегральним показником загального стану організму, в усіх експериментальних групах практично не змінювалась, за середніми значеннями вона колива-

Таблиця 1. Динаміка маси та розмірів тіла вагітних самиць, ($P \pm m$) %

Показник	Група тварин	Термін експерименту, дні			
		1–7 (1-й тиждень)	7–14 (2-й тиждень)	14–20 (3-й тиждень)	1–20 (весь період)
Маса тіла	Контрольна	107,29±3,35	107,61±2,98	114,49±2,76	132,19±3,75
	Дослідна 1	106,56±3,47	105,66±3,59	109,40±3,50	122,64±3,76*
	Дослідна 2	106,55±2,24	108,05±2,35	114,31±4,21	131,60±4,79
Довжина тіла	Контрольна	102,77±0,98	102,07±1,00	103,25±0,96	108,30±0,97
	Дослідна 1	102,32±2,25	102,48±1,77	102,82±1,66	107,82±2,27
	Дослідна 2	102,54±1,51	102,07±1,41	103,51±1,49	108,34±1,66

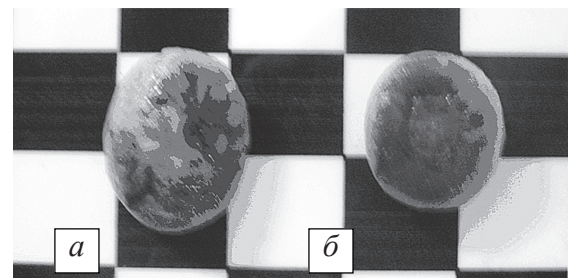
* $p < 0,05$; достовірно при порівнянні з контролем.

лася від ($37,20 \pm 0,17$) до ($38,00 \pm 0,27$) °C, що знаходиться в межах фізіологічної норми [12]. Проте лише у тварин контрольної групи протягом усього терміну вагітності спостерігалось поступове зниження ректальної температури, що фізіологічно детерміновано змінами гормонального фону. Отже, відсутність фізіологічно нормальної динаміки ректальної температури при вагітності самиць щурів під дією низьких доз свинцю може розглядатись як прояв його негативного впливу незалежно від неорганічної або органічної форми.

Введення ацетату свинцю протягом усього терміну вагітності призвело до збільшення ембріолетальності у 2,16 рази ($p < 0,01$) порівняно з показником контрольної групи та становить ($24,05 \pm 1,33$) та ($11,11 \pm 4,43$) % відповідно. Введення наночитрату свинцю призвело до менш вираженого ембріолетального ефекту – загальна ембріональна смертність становить ($14,81 \pm 4,68$) %, що зумовлює більшу кількість плодів у посліді у дослідній групі 2 порівняно з такою при введенні неорганічного свинцю – ($8,63 \pm 0,80$) проти ($7,50 \pm 0,53$) відповідно при показнику у групі контролю ($9,0 \pm 0,4$). Передімплантаційна смертність при введенні наночитрату свинцю не відрізнялась від такої у контрольній групі та була нижчою, хоча без достовірних відмінностей, ніж у групі, що отримувала ацетат свинцю. В той же час при введенні наночитрату свин-

цю збільшились показники постімплантаційної смертності відносно показника як контрольної групи, так і групи, що отримувала ацетат свинцю.

Аналіз загальних показників розвитку плодів свідчить про відсутність достовірних відмінностей показників маси та краніокаудального розміру між контрольною та дослідними групами. В той же час спостерігається зниження маси та розмірів плаценти, що помітно вже при макроскопії (рисунок) та



Фотографія плацент вагітних самиць щурів дослідних груп, що отримували ацетат свинцю (а) та цитрат свинцю (б), після фіксації у формаліні

підтверджується математично (табл. 2), особливо у групі, що отримувала цитрат свинцю, – у 1,08 ($p < 0,05$) та 1,37 рази ($p < 0,001$) відповідно. Така ситуація зумовлює зниження плодово-плацентарного коефіцієнта в даній дослідній групі відносно показника групи, що отримувала ацетат свинцю, та контрольної

Таблиця 2. Показники загального розвитку плодів контрольної та дослідних груп ($M \pm m$)

Група тварин	Маса плоду, г	Краніокаудальний розмір плоду, мм	Діаметр плоду, мм	Маса плаценти, г	Діаметр плаценти, см
Контрольна	2,38±0,08	31,21±0,37	10,85±0,27	0,59±0,02	1,51±0,04
Дослідна 1	2,21±0,17	30,17±0,40	10,73±0,30	0,57±0,02	1,44±0,03
Дослідна 2	2,47±0,09	31,14±0,56	10,93±0,36	0,43±0,01*	1,40±0,02*

Примітка. Різниця достовірна при порівнянні з показником контрольної групи: * $p < 0,05$; # $p < 0,001$.

групи – 0,17 проти 0,24 та 0,25 відповідно. За даними [12], такий коефіцієнт свідчить про зрілість фетоплацентарного комплексу, спостерігається наприкінці вагітності шурів та зумовлений значним збільшенням маси тіла плодів на 21–22-й день, тобто перед пологами. В той же час у наших дослідженнях при однаковому з іншими групами терміні вагітності маса тіла плодів залишалася практично незмінною при значно нижчих морфометричних показниках плаценти. Даний факт може свідчити про порушення плацентогенезу за умови впливу низьких доз свинцю, більш виражене при введенні його у формі наночитрату. Головним механізмом такого впливу може бути ушкоджуюча дія свинцю на процеси фізіологічного розвитку плаценти, що призводить до зниження об'єму окремих фетальних капілярів та відсотка фетальних судин плаценти. Таке ушкодження плаценти супроводжується зниженням її маси [13]. Проте дане припущення потребує більш глибоких досліджень з використанням гістологічних методів.

Таким чином, надходження свинцю навіть у низьких дозах до організму вагітної порушує фізіологічний перебіг вагітності та призводить до порушення ембріонального розвитку потомства, більш вираженого при впливі макроформ свинцю за показниками загальної ембріональної смертності, в тому числі й передімплантаційної, та, відповідно, чисельності приплоду. Вплив наночитрату свинцю призводить до збільшення постімплантаційної смертності, а також до більш вираженого порушення плацентогенезу.

Висновки

1. Свинець у низькій дозі призводить до порушення фізіологічного перебігу вагітності за динамікою маси тіла та ректальної темпе-

ратури, більш вираженого для неорганічних сполук токсиканта.

2. Як органічні, так і неорганічні сполуки свинцю негативно впливають на антенатальний розвиток потомства експериментальних тварин, що проявляється у збільшенні ембріональної смертності, погіршенні морфометричних показників плодів та порушенні плацентогенезу.

3. Результати вивчення особливостей загально- та ембріотоксичної дії свинцю у макроформі і у вигляді цитрату, отриманого за нанотехнологією, неоднозначні. Більш виражений негативний вплив на загальний стан організму вагітної та ембріональний розвиток плодів за показниками ембріолетальності, в тому числі й передімплантаційної, характерний для макроформ свинцю, в той час як вплив наночитрату свинцю призводить до збільшення постімплантаційної смертності, а також до більш вираженого порушення плацентогенезу. Таким чином, на даному етапі досліджень складно зробити однозначний висновок про порівняльні аспекти впливу токсичності низьких доз макро- і наноформ свинцю на організм вагітних та антенатальний розвиток потомства шурів.

Отримані результати свідчать про необхідність подальшого вдосконалення систем і принципів досліджень взаємодії екотоксикантів з організмом в умовах як натурального, так і лабораторного експерименту, виявлення молекулярної природи порушення генеративної функції в цілому, прогнозування і ранньої діагностики її порушень, пошуку раціональних шляхів і систем профілактики, ефектної дезінтоксикації (фармакокорекції), особливо у плані використання природних антагоністів та сорбентів, що є перспективою наших досліджень.

Список літератури

1. *Лазаренко І. А.* Накопичення наночасток свинцю в організмі шурів / І. А. Лазаренко, Н. М. Мельникова, В. І. Максін // Сучасні проблеми токсикології. – 2011. – № 5. – С. 60–61.
2. *Гребняк М. П.* Нанотехнологічні фактори ризику для здоров'я населення / М. П. Гребняк, О. Б. Єрмаченко // Довкілля та здоров'я. – 2001. – № 1. – С. 52–55.
3. Тяжелые металлы внешней среды и их влияние на репродуктивную функцию женщин / [Сердюк А. М., Белецкая Э. Н., Паранько Н. М., Шматов Г. Г.]. – Днепропетровск : АРТ-ПРЕСС, 2004. – 148 с.
4. *Луговський С. П.* Комплексна токсиколого-гігієнічна оцінка свинцю як фактора малої інтенсивності (до патогенезу, діагностики та профілактики сатурнізму) : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук : спец. 14.02.01 «Гігієна та професійна патологія» / С. П. Луговський. – К., 2012. – 36 с.

5. Lead exposure in pregnant women and newborns: a screening update / С. Yazbeck, J. Cheymol, A. M. Dandres, A. L. Barbery-Courcoux // Arch. Pediatr. – 2007. – V. 14, № 1. – P. 15–19.
6. Белецкая Э. Н. Биопрофилактика экзозависимых состояний у населения индустриально развитых территорий / Э. Н. Белецкая, Т. А. Головкова, Н. М. Онул // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2011. – № 3 (23). – С. 48–56.
7. Нанотехнології, наномедицина, нанофармакологія: стан, перспективи наукових досліджень, впровадження в медичну практику / В. Ф. Москаленко, Л. Г. Розенфельд, Б. О. Мовчан, І. С. Чекман // Человек и лекарство – Украина : I нац. конгресс. – К., 2008. – С. 167–168.
8. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasburg, 1986. – 53 p.
9. Лабораторні тварини в медико-біологічних експериментах / [Пішак В. П., Висоцька В. Г., Магалаєв В. М. та ін.]. – Чернівці : Мед. університет, 2006. – 350 с.
10. Динерман А. А. Роль загрязнителей окружающей среды в нарушении эмбрионального развития / А. А. Динерман. – М. : Медицина, 1980. – 191 с.
11. Станишевская Т. И. Характеристика уровня основного обмена у белых крыс за пределами верхней границы нормы циркулирующего трийодтиронина / Т. И. Станишевская, В. И. Соболев // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2010. – Т. 23 (62), № 1. – С. 105–112.
12. Шубина О. С. О взаимодействии в системе плацента–плод / О. С. Шубина, Н. А. Смертина // Успехи современного естествознания. – 2008. – № 8. – С. 110.
13. Кашин А. С. Особенности действия экотоксикантов на репродуктивные функции продуктивных животных / А. С. Кашин, А. В. Оспищев, М. С. Москвитина // Проблемы современной аграрной науки : матер. Междунар. заоч. научн. конференции. – 2008. [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.kgau.ru/new/all/konferenc/01/>.

Э.Н. Белецкая, Н.М. Онул

ВЛИЯНИЕ СВИНЦА В МАКРОФОРМЕ И В ВИДЕ ЦИТРАТА, ПОЛУЧЕННОГО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОТЕХНОЛОГИЙ, НА ТЕЧЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ И АНТЕНАТАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ КРЫС

Представлены результаты изучения влияния соединений свинца в макроформе и в виде цитрата, полученного с использованием нанотехнологий, на эмбриогенез крыс. Установлено, что свинец даже в низких дозах обуславливает нарушение физиологического течения беременности, антенатального развития потомства, что проявляется в увеличении эмбриональной смертности, ухудшении морфометрических показателей плодов и нарушении плацентогенеза.

Ключевые слова: свинец, эксперимент, эмбриотоксичность, влияние.

E.N. Beletskaya, N.M. Onul

THE INFLUENCE OF LEAD IN MACROFORM AND AS A CITRATE, RECEIVED BY NANOTECHNOLOGY, ON PREGNANCY AND ANTENATAL DEVELOPMENT OF RATS

The results on the effect of lead compounds in macroform and as a citrate, received by nanotechnology, on embryogenesis in rats are presented. It is revealed, that lead even in a low doses causes a violation of physiological pregnancy by the indexes of body weight and rectal temperature dynamic, more pronounced for inorganic compounds of toxicants as well as prenatal development of the offspring, which results in increased fetal mortality, worsening of morphometric parameters of fetuses and violation of placentogenesis.

Key words: lead, experiment, embryotoxicity, influence.

Поступила 13.05.13