

УДК 577.15:632.85.02

© Ю. Т. Салига, 2012.

ПОВЕДІНКА ЩУРІВ, ІНТОКСИКОВАНИХ ХЛОРПІРИФОСОМ, У ТЕСТІ «ВІДКРИТЕ ПОЛЕ»

Ю. Т. Салига*Інститут біології тварин НААН, лабораторія обміну речовин, к.б.н., с.н.с. Ю.Т. Салига, м. Львів.*

BEHAVIOR OF RATS INTOXICATED BY CHLORPYRIFOS IN OPEN-FIELD TEST

Y .T. Salyha

SUMMARY

The influence of chlorpyrifos – toxic organophosphorus compound – on behavior and emotional state of rats with use of open-field test through various periods after animal intoxication has been studied. Dynamics of behavior parameter changes in animals over 1, 3, and 5 days after receipt of the test xenobiotic in their body has been analyzed. The results indicate toxic effect of chlorpyrifos on the central nervous system.

ПОВЕДЕНИЕ КРЫС ИНТОКСИЦИРОВАННЫХ ХЛОРПИРИФОСОМ В ТЕСТЕ “ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ”

Ю.Т. Салыга

РЕЗЮМЕ

Изучено влияние хлорпирифоса – токсического фосфорорганического соединения – на изменения в поведении и эмоциональном состоянии крыс с помощью теста «Открытое поле» через различные периоды после его введения животным. Установлена динамика изменений параметров поведения подопытных животных через 1, 3 и 5 суток после поступления исследуемого ксенобиотика в их организм. Полученные результаты свидетельствуют о токсическом действии хлорпирифоса на центральную нервную систему организма после отравления хлорпирифосом.

Ключові слова: хлорпірифос, токсичність, центральна нервова система, тест «Відкрите поле», поведінка.

Хлорпірифос – це фосфорорганічна сполука О,О-Диетил-О-3,5,6-трихлор-2-піридилфосфотіоат ($C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$), яка відома перш за все як діюча речовина цілого ряду розповсюджених інсектицидів широкого спектру дії [3, 6]. Щороку у багатьох країнах світу фіксується суттєва кількість отруєнь цими агрохімікатами людей, що безпосередньо з ними працюють, а також споживачів забрудненої продукції. Непоодинокими є летальні випадки [3, 6]. Проблема швидкої, правильної діагностики та ефективного лікування отруєнь фосфорорганічними сполуками (ФОС), в тому числі і хлорпірифосом, у медичній токсикології не втрачає своєї актуальності з часу початку їх застосування у різних галузях промисловості. Хлорпірифос може негативно впливати на більшість систем і органів людини і тварин, але його найвразливішою мішенню є центральна нервова система (ЦНС). Основним механізмом дії на неї цієї сполуки є інгібування холінестераз, зокрема ацетилхолінестерази – ключового ензиму синаптичної передачі. Але, як виявилось – це далеко не єдиний шлях токсичної дії хлорпірифосу та інших ФОС. Таким чином, у питаннях впливу хлорпірифосу на ЦНС людини і тварин все ще залишається багато нез'ясованого, тому різнопланові дослідження такого скерування є вкрай необхідними [6].

Оцінити стан функціонування нервової системи організму можна за допомогою етологічних дослід-

жень, у яких використовують різноманітні методи тестування поведінки тварин. Серед їх різноманіття тест «Відкрите поле» є одним з найпопулярніших і дозволяє значною мірою оцінити вплив токсичних чинників на організм [4, 5, 7]. Метою роботи було дослідити, як змінюється емоційний стан та рухливість щурів через різні проміжки часу після їх інтоксикації хлорпірифосом.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження були проведені на 40 самцях білих нелінійних лабораторних дорослих щурів масою від 180 до 220 г, яких утримували в умовах віварію на стандартному раціоні з необмеженим доступом до питної води. Формування груп тварин проводили за принципом аналогів з урахуванням їх віку і маси. З метою вивчення токсичних властивостей хлорпірифосу тваринам дослідної групи одноразово внутрішньоочеревинно вводили цей препарат у розрахунку 30 мг/кг маси тіла. Контрольним тваринам замість хлорпірифосу вводили аналогічний об'єм фізіологічного розчину. Під час проведення досліджень на тваринах дотримувалися принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно з положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Націо-

Таблица 1. Результаты тестирования на прочность и деформацию при растяжении и сжатии

Назначение	Класс твердости, Т, П	Группа тверди	Горизонтальная рыхлая активность (ГРА)			Вертикальная рыхлая активность			Класс замирания	Длина отрыва (кількість,)
			ГРА периферична	ГРА центральна	ГРА загальна	Класс спійності на стійку	Класс спійності у середині стілки	Эффективная классность спійності		
До введення	ІБ		21,66±6,6	4,1±2,6	26±8,1	7±3,0	2,7±2,0	0,7±1,7	2,5±1	3,6±1,7
Через лоб/ Через з лоба	3	К	24±3	4,00±1,0	20,7±1,0	5±3,0	4,3±2,3	1,3±1,0	1,3±1,0	1,3±1,0
	І2	Д	8,6±36**	2,06±0,9	10,6±4,03*	3,2±1,4	1±1,3	4,2±2,2	5,5±2,4	2±1,5
	3	К	20,3±4,1	2,66±0,6	2±4,4	2±1	±0	3±1	2,6±1,5	0,3±0,5
Через з лоб	3	Д	12,1±4,0	2,9±1,0	11±5,0	4,5±2,0	2±2,1	1,3±0,7,4	1,7±1,0	1±1
	6	Д	2,3±5,6	5±2,6	26,3±7,5	4,7±2,3	7±7,5	1,6±9,5	2,6±1,5	3,3±0,6
Через з лоб	6	Д	2,6±6,8	3,6±1,36	29,3±7,4	6,5±3,8	7,±4,3	1,3,6±7,4	2,6±1,03	1,3±2,1

Примечание: * — значение при сжатии; ** — значение при растяжении.

нальним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Для вивчення емоційного стану та рухливості щурів їх тестували в експериментальній установці «Відкрите поле», яка представляла собою квадратну камеру виготовлену з плексигласу. Вона мала наступні розміри: периметр – 80х80 см, дно – розділене на 16 однакових квадратів, у центрі кожного з яких є круглий отвір – «нірка», діаметром 0,5 см., висота бокових стінок – 40 см. Тестування кожної тварини проводили протягом 3 хв. за описаною нами раніше схемою, в ході якого реєстрували горизонтальну рухову активність (кількість перетнутих твариною центральних і периферичних квадратів), вертикальну рухову активність (кількість стійок тварин із та без упирання на бокові стінки арени), кількість завмирань і дослідження отворів («нірок») [2]. З метою уникнення артефактів за дві години до тестування тварин поміщали у тихе, слабоосвітлюване приміщення. У цей період не проводили перегрупування тварин, не годували їх і не проводили жодних інших маніпуляцій. Такі процедури, як маркування, переміщення з однієї клітки в іншу, формування груп (перегрупування) і т. д. проводили з тваринами не менш як за 24 год до тестування [1, 2, 7].

Одержані результати обробляли статистично з використанням *t*-критерію Стьюдента. Вірогідно різними вважалися результати при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як відомо, тест «Відкрите поле» полягає у кількісному визначенні різних компонентів поведінки тварини, яку поміщають у новий відкритий простір, який обмежений огорожувальними стінками. Даний тест дає можливість вивчати поведінку щурів у стресогенних умовах, оцінюючи вираженість і динаміку окремих поведінкових елементів, рівень емоційно-поведінкової реактивності, стратегію дослідницької та захисної поведінки тварини, параметри звикання, здатність до запам'ятовування орієнтувальних стимулів, симптоми неврологічного дефіциту, локомоторну стереотипію та ін. Дія на організм токсичних чинників часто призводить до змін вище перерахованих параметрів, що може свідчити про їх вплив на нервову систему організму. Так, про низький рівень тривоги у піддослідних щурів може свідчити їх висока горизонтальна і вертикальна активність, інтенсивне дослідження отворів у днищі тестової камери (нірок), нечасті завмирання. Навпаки, низька рухова активність, велика кількість завмирань і зростання їх тривалості, уникання тваринами центральних квадратів свідчить про високий рівень тривожності у тварин [1, 7].

Провівши аналіз результатів тестування досліджуваних тварин у «Відкритому полі», найперше можна говорити про їх емоційний стан. Як видно з табл. 1, найбільш виражена різниця у параметрах поведінки піддослідних щурів спостерігалась через добу після введення їм хлорпірифосу. Причому, горизонтальна

рухова активність (ГРА), визначена за кількістю перетнутих тваринами протягом тестування периферичних квадратів була більш ніж у два рази вірогідно нижчою у дослідній групі порівняно до контролю. Аналогічну ситуацію спостерігали із показником загальної ГРА, який вираховується як сума ГРА у периферичних та центральних квадратах установки «Відкрите поле». Водночас вірогідних змін у ГРА в зоні центральних квадратів зафіксовано не було. Вертикальна рухова активність (ВРА), яку оцінювали за кількістю стійок тварин коли вони опиралися при цьому на бокові стінки, а також коли їх передні кінцівки знаходились у повітрі (без упирання на стінку), також мала чітко виражену тенденцію до зменшення через добу від початку експерименту. Такі зміни свідчать про високий рівень тривоги тварин на другу добу після інтоксикації хлорпірифосом.

Підтверджує такий висновок і факт збільшення кількості завмирань цих тварин у той же період. Проаналізувавши вище описані поведінкові параметри через 3 і 5 діб після введення дослідним тваринам ксенобіотика, стало очевидно, що функціонування нервової системи тварин поступово наблизилось до того стану, який спостерігали на початок дослідження. З цього випливає, за період 5 діб в організмі дослідних груп тварин пройшли детоксикаційні процеси з нормалізацією їх фізіологічних функцій. Варто відзначити, що такий параметр, як кількість досліджень тваринами отворів у дні тестової камери, практично не змінювався у всіх групах тварин і, таким чином виявився неінформативним.

ВИСНОВКИ

1. Підтверджено токсичну дію хлорпірифосу на центральну нервову систему щурів при його одноразовому введенні у дозі 30 мг/кг маси тіла, що виражається у змінах окремих параметрів поведінки тварин у тесті «Відкрите поле».

2. Встановлено, що через 5 діб після інтоксикації щурів хлорпірифосом при його одноразовому введенні у дозі 30 мг/кг маси тіла відбувається нормалізація функціонування центральної нервової системи, що є наслідком детоксикаційних резервів організму.

ЛІТЕРАТУРА

1. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Пер. с англ. – М.: Высшая школа, 1991. – 399 с.
2. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / В.В. Влізла, Р.С. Федорук, І.Б. Ратич та ін.; За ред. В.В. Влізла. – Львів, 2012 – 762 с.
3. Bjorling-Poulsen M., Andersen H.R., Grandjean P. Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe // *Environmental Health*. 2008. Vol. 7.
4. Moser V.C. Dose-response and time-course of neurobehavioral changes following oral chlorpyrifos in rats of different ages // *Neurotoxicol. Teratol*. 2000. Vol.

22. P. 713-723.

5. Ricceri L., Markina N., Valanzano A. et al. Developmental exposure to chlorpyrifos alters reactivity to environmental and social cues in adolescent mice // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2003. Vol. 191. P. 189-201.

6. Salyha Y. Biological effects assessment of

chlorpyrifos and some aspects of its neurotoxicity // *Visnyk of Lviv University. – Biology series. – Is. 54, Lviv. – 2010. – P. 3-14.*

7. Walsh R.N., Cummins R.A. The Open-Field Test: A Critical Review. – *Psychological Bulletin*, 1976, Vol. 83, No. 3. – p. 482-504.