

УДК 543.272.82:612.646–092.9

© Н. М. Онул, 2013

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА ЕМБРІОТОКСИЧНОСТІ СВИНЦЮ ЯК ФАКТОРУ МАЛОЇ ІНТЕНСИВНОСТІ

Н. М. Онул

Кафедра загальної гігієни (зав. – д. мед. н., проф. Е. М. Білецька), ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України». 49027 Україна, м. Дніпропетровськ, пл. Жовтнева, 4. e-mail: sangreena@mail.ru

### EXPERIMENTAL ESTIMATION OF EMBRIOTOXICITY OF LEAD AS A SMALL INTENSITY FACTOR N. M. Onul

#### SUMMARY

Due to the impact of a destabilizing agent, namely, a low dose of lead acetate, a decline of embryonal development of experimental animals was observed, causing an increase of the embryonal mortality by a factor of 2,16, a reduction of the average number of fetuses by 17% as compared to the control group, a reduction of the fetus craniocaudal size, and an inhibition of placentogenesis. The weight and growth coefficients between the experimental group and the control one did not differ, which indicates preservation of the fetus development proportionality. Introduction of low doses of lead acetate did not significantly affect the distribution of fetus across the sex as compared to the control group, although there was a slight decrease in the number of males: 43,33±4,68% of males vs. 56,67±5,35% of females. Male fetuses were slightly more sensitive to unfavorable influence, which was manifested through a significant decrease of the craniocaudal sizes – by 4,71% as compared to the control group; for females, such a difference was not observed.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭМБРИОТОКСИЧНОСТИ СВИНЦА КАК ФАКТОРА МАЛОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ

Н. М. Онул

#### РЕЗЮМЕ

Вследствие влияния дестабилизирующего агента – ацетата свинца в низкой дозе наблюдается ухудшение эмбрионального развития экспериментальных животных, что проявляется увеличением эмбриональной смертности в 2,16 раза, снижением среднего количества плодов в помете на 17% по сравнению с контрольной группой, снижением краниокаудальных размеров плодов, а также угнетении плацентогенеза. Массо-ростовые коэффициенты в опытной и контрольной группе не отличаются, что свидетельствует о сохранении пропорциональности развития плодов. При этом наблюдается более выраженная чувствительность плодов мужского пола к воздействию неблагоприятного фактора, что проявляется достоверным снижением краниокаудальных размеров на 4,71% по сравнению с контрольной группой при отсутствии таких различий у плодов женского пола.

**Ключові слова:** ембріональний розвиток, ембріотоксичність, низькі дози свинцю, експеримент, морфологічні зміни.

На сьогоднішній день проблема хімічного забруднення довкілля та внутрішнього середовища організму залишається надзвичайно важливою та потребує нових науково-обґрунтованих підходів щодо її вирішення [1]. При цьому провідне місце серед усіх антропогенних забруднювачів посідають важкі метали [2], і в першу чергу – свинець, який вирізняється високою токсичністю, здатністю до біокумуляції та повільного виведення з організму [1, 3, 4].

Багаторічними епідеміологічними дослідженнями співробітників кафедри загальної гігієни ДЗ «ДМА» встановлено [2, 3, 5, 6], що в умовах техногенних біогеохімічних провінцій біосубстрати системи «мати-плацента-плід» містять свинець у підвищених концентраціях, що детермінує розвиток ускладнень вагітності, пологів та післяпологового періоду, погіршення показників фізичного та інтелектуального розвитку дитини.

В той же час експериментальних робіт, присвячених вивченню впливу низьких концентрацій свинцю на ембріональний розвиток вкрай мало [7,

8], питання морфології та патогенезу такого впливу на плаценту і плід залишаються практично не вивченими. Між тим, ці знання можуть слугувати теоретичним підґрунтям для розробки практичних заходів щодо захисту внутрішньоутробного розвитку плоду від негативного впливу свинцю.

Тому метою нашого дослідження є експериментальне вивчення ембріотоксичного впливу свинцю на рівні дії фактору малої інтенсивності як основа подальшої розробки комплексу профілактичних заходів щодо захисту організму матері та плоду в умовах екологічного ризику.

#### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Для проведення експериментальних досліджень було обрано самиць щурів лінії Wistar віком 3–3,5 міс з масою тіла 170–200 г. Вибір об'єктом дослідження саме цих лабораторних тварин зумовлений тим, що у щурів та людини однаковий гемохоріальний тип плаценти, а також в них низький рівень спонтанних вад розвитку [4].

У експерименті використано методичні підходи, що відповідають сучасним міжнародним вимогам щодо проведення токсикологічних експериментів з використанням тварин у відповідності до Європейської конвенції [9]. Тварин утримували в оптимальних умовах віварію на стандартному раціоні із вільним доступом до води та їжі відповідно до існуючих вимог [10]. Адаптаційний період складав 12 днів, протягом якого визначали загальний стан самиць, а також циклічність і тривалість естрального циклу. Тварин зі стійким ритмом естрального циклу в стадії проеструс і еструс парували з інтактними самцями за схемою 2:1. Перший день вагітності визначали за наявністю сперматозоїдів у піхвових мазках [4].

В експериментальній моделі використовували розчин ацетату свинцю у дозі 0,05 мг/кг, який відзеркалив реальну систему життєдіяльності населення промислово розвинутої території [2, 5]. Досліджуваний дестабілізуючий фактор вводили вагітним самкам з 1 по 19 день вагітності внутрішньошлунково через зонд один раз на добу, в один і той же час. Щурам контрольної групи в ці ж строки вводили розчинник, що використовувався при приготуванні агенту впливу, тобто дистильовану воду. Під час введення препарату реєстрували стан і поведінку самок, динаміку маси та розмірів тіла, ректальної температури.

На кінцевому етапі дослідження проводили миттеву декапітацію тварин під тіопенталовим наркозом і взяття матеріалів для виконання патоморфологічних, токсикологічних та біохімічних досліджень. Виділяли матку з рогами, плоди з плацентами вилучали з матки, перевіряли на тест живі-загиблі, зважували,

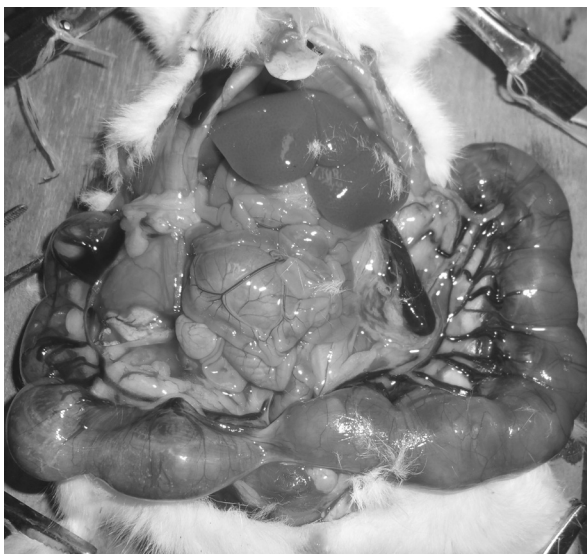
вимірювали краніокаудальні розміри та діаметри, визначали стать, фотографували, розраховували масоростові коефіцієнти плодів і плодово-плацентарні коефіцієнти, показники ембріональної смертності за загальноприйнятими методиками [4]. Результати розтину заносили до протоколу.

Отримані результати опрацьовували за допомогою традиційних методів варіаційної статистики. Достовірність відмінностей визначали за t-критерієм Ст'юдента.

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При свинцевій інтоксикації спостерігається зменшення кількості живих плодів, що помітно вже при макроскопії рогів матки (рис. 1) та підтверджується даними статистичного аналізу. Так, середня кількість плодів у посліді дослідної групи знизилась на 17% і становила  $7,5 \pm 0,53$  проти  $9,0 \pm 0,4$  у групі контролю ( $p < 0,05$ ). Така ситуація обумовлена ембріолетальним ефектом низьких доз свинцю, що проявляється підвищенням рівня загальної ембріональної смертності у 2,16 рази ( $p < 0,01$ ) порівняно з групою контролю переважно в доімплантаційний період. Даний факт підтверджує механізм регуляції чисельності плодів самою на фоні впливу дестабілізуючого фактору, який діє протягом всього періоду вагітності, в тому числі в доімплантаційний період (з 1 по 4–5 день вагітності). Енергетично для самиці щура більш вигідно абортувати плоди в початковий період вагітності, ніж в період інтенсивного органогенезу, що знайшло підтвердження і в інших дослідженнях [11].

При цьому зменшується не лише загальна кількість плодів, але і їх морфометричні параметри



а



б

Рис. 1. Фотографія двороздільної матки вагітної самиці щура контрольної (а) та експериментальної (б) групи під час оперування. Виділяються маткові судини, що утворюють аркади в брижах маткових труб. Кількість ембріонів в маткових рогах експериментальної групи виразно зменшена

(табл.). Якщо відмінності по масі та діаметру плодів виявились недостовірними, то краніокаудальний розмір характеризується тенденцією до зниження на 3,3% ( $p=0,056$ ) порівняно з контрольною групою. Масо-ростові коефіцієнти у дослідній та контрольній групі не відрізняються, що свідчить про збереження пропорційності розвитку плодів.

Показники маси та розмірів плаценти у дослідній групі дещо нижчі, а плодово-плацентарний коефіцієнт – вищий порівняно з групою контролю, проте без вірогідних розбіжностей. Даний факт певною мірою може свідчити про незначне пригнічення плацентогенезу за умови впливу дестабілізуючого агенту.

Стосовно розподілу плодів за статтю, то в контрольній групі у посліді спостерігається 45,83±3,17% самців та 54,17±3,8% самиць, що знаходиться в межах, притаманних даній групі дослідних тварин [4]. За умови впливу низьких доз свинцю таке співвідношення спостерігається, хоча помітно деяке підвищення осіб жіночої статі – 43,33±4,68% самців проти 56,67±5,35% самок, що збігається з даними інших досліджень [12]. Аналіз відмінностей за морфометричними показниками виявив зниження краніокаудальних розмірів самців дослідної групи порівняно з контрольною групою на 4,71% ( $p<0,05$ ) при відсутності таких відмінностей у осіб жіночої статі. Статевих відмінностей за масою та діаметром плодів контрольної та дослідної груп також не виявлено. Отримані результати можуть свідчити про дещо більшу чутливість самців до впливу несприятливих факторів за рахунок незрілості захисних систем організму внаслідок підвищеної проліферації клітин чи змін метаболічних процесів [13], проте даний факт потребує більш детального дослідження.

## ВИСНОВКИ

Внаслідок впливу дестабілізуючого агенту – ацетату свинцю в низькій дозі спостерігається погіршення ембріонального розвитку експериментальних тварин, що проявляється у збільшенні ембріональної смертності та погіршенні морфометричних показників загального розвитку плодів, а також у пригніченні плацентогенезу. При цьому спостерігається дещо більша чутливість плодів чоловічої статі до впливу несприятливого фактору.

Отримані результати – основа подальшого вивчення впливу низьких доз важких металів, в тому числі свинцю, на ембріогенез щурів з використанням мікроскопічних морфологічних методів дослідження та визначенням особливостей кумуляції металу в системі «мати-плацента-плід» задля розробки ефективних профілактичних заходів по збереженню та зміцненню здоров'я організму матері та плоду в умовах підвищеного техногенного навантаження.

*Дане дослідження є фрагментом НПР ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»: «Особливості формування репродуктивного здоров'я населення внаслідок впливу техногенно забрудненого довкілля та шкідливих професійних факторів» (номер державної реєстрації 0111U009620) та «Розвиток та морфофункціональний стан органів і тканин експериментальних тварин та людини в нормі, в онтогенезі, під впливом зовнішніх чинників» (номер державної реєстрації 0111U012193).*

## ЛІТЕРАТУРА

1. Трахтенберг І. М. Профілактична токсикологія та медична екологія/І. М. Трахтенберг. – К.: Авіцена, 2011. – 120 с.
2. Тяжелые металлы внешней среды и их влияние на репродуктивную функцию женщин/ [Сердюк А. М., Белицкая Э. Н., Паранько Н. М.,

Таблиця

Показники загального розвитку плодів контрольної та дослідної груп

Показник	Група тварин	
	Контрольна	Ацетат свинцю
Кількість вагітних самок	8	8
Кількість живих плодів	72	60
Середня кількість плодів у посліді	9,0±0,4	7,50±0,53*
Маса плоду, г	2,38±0,08	2,21±0,17
Краніокаудальний розмір плоду, мм	31,21±0,37	30,17±0,40°
Діаметр плоду, мм	10,85±0,27	10,73±0,30
Маса плаценти, г	0,59±0,02	0,57±0,02
Розмір плаценти, мм	15,1±0,04	14,4±0,03
Загальна ембріональна смертність, %	11,11±4,43	24,05±1,33**

Примітка: \* –  $p<0,05$ ; \*\* –  $p<0,01$ ; ° –  $p=0,056$  по відношенню до контролю

Шматков Г. Г.] – Днепропетровск: АРТ-ПРЕСС, 2004. – 148 с.

3. Білецька Е. М. Важкі метали навколишнього середовища як фактор гіпофертильності чоловіків (огляд)/Е. М. Білецька, Н. М. Онул, Т. А. Головкова// Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2011. – Т. 15, № 1. – С. 9–13.

4. Динерман А. А. Роль загрязнителей окружающей среды в нарушении эмбрионального развития/А. А. Динерман. – М.: Медицина, 1980. – 191 с.

5. Тяжелые металлы (свинец, кадмий, ртуть) как загрязнители окружающей среды в Украине/[Тимченко О. И., Омельченко Э. М., Белецкая Э. Н. и др.]//К., 2008. – 77 с. [Эл. вариант]. – Режим доступа: <http://www.mama-86.org.ua>.

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. Луговський С. П. Комплексна токсиколого-гігієнічна оцінка свинцю як фактору малої інтенсивності (до патогенезу, діагностики та профілактики сатурнізму): Автореф. дис... д. мед. н.: 14.02.01/С. П. Луговський. – К., 2012. – 36 с.

8. Куликова Г. В. Влияние низкой концентрации свинца на плаценту и плод: экспериментальные исследования: Автореф. дис. ... к. б. н.: 03.00.25/Г. В. Куликова. – Москва, 2008. – 19 с.

9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 p.

10. Лабораторні тварини в медико-біологічних експериментах/[Пішак В. П., Висоцька В. Г., Магаляс В. М. та ін.]. – Чернівці: Мед. Університет, 2006. – 350 с.

11. Скальный А. В. Биоэлементы и показатели эмбриональной смертности лабораторных крыс/А. В. Скальный, С. В. Залавина, С. В. Ефимов// Вестник ОГУ. – 2006. – № 2. – С. 78–81.

12. Коршун М. М. Вивчення ембріотоксичної дії малих доз іонізуючої радіації та хімічних забруднювачів ґрунту/М. М. Коршун, І. Г. Анісімова, Л. П. Запривода//Довкілля та здоров'я. – 2002. – № 1 (20). – С. 17–22.

13. Ambient air pollution and pregnancy outcomes: a review of the literature/[Sram R. J., Binkova B., Dejmek J., Bobak M.]//Environ Health Perspect. – 2005. – Vol. 113, N4. – P. 375–382.