

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

УДК 615.9:591.044

Е.А. Капустина

### РАЗВИТИЕ ПОТОМСТВА САМЦОВ И САМОК АУТБРЕДНЫХ КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ СУЛЕМЫ

Ангарский филиал ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН – НИИ медицины труда и экологии человека (Ангарск)

Ртуть обладает гонадотропным и мутагенным действием на организм млекопитающих. Данный факт указывает на возможность появления эффектов воздействия ртути на потомков, чьи родители контактировали с данным токсикантом. Изучено воздействие сулемы на развитие потомства первого поколения, полученного от самцов и самок аутбредных крыс, подвергавшихся воздействию данным веществом. В течение шести недель аутбредным крысам обоего пола подкожно вводили раствор сулемы (0,05 мг ртути на 100 г массы тела животного). После окончания инъекций крысы спарены с интактными особями для получения потомства. Обследование потомства белых крыс проводилось в два этапа. Первый – изучение развития сенсорно-двигательных реакций в первый и десятый дни жизни. Второй этап включал исследование зоосоциального поведения и активности в открытом поле особей, достигших половой зрелости. Также производили взвешивание потомства с целью оценки физического развития. Полученные материалы исследований обрабатывали с использованием методов непараметрической статистики (U-критерий Манна – Уитни). При анализе результатов эксперимента выявлены статистически значимые отличия в массе тела и двигательной активности животных опытной группы, по сравнению с контролем. В первые дни жизни у особей, полученных от опытных самцов, обнаружено уменьшение массы тела и не отмечены отличия в созревании сенсорно-двигательных рефлексов. У крысят, полученных от самок с интоксикацией сулемой, обнаружено увеличение массы тела и двигательной активности, по сравнению с контрольными значениями. У половозрелого потомства найдены изменения массы тела и поведения. При взвешивании опытных животных отмечено увеличение массы тела по сравнению с контролем. У особей, полученных от самцов опытной группы, обнаружено угнетение двигательной, ориентировочно-исследовательской и зоосоциальной активности. У потомства самок опытной группы наблюдалось угнетение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности среди мужских особей и усиление ориентировочно-исследовательского – у женских.

**Ключевые слова:** белые крысы, потомство, сулема, развитие

### THE DEVELOPMENT OF THE POSTERITY OF MALE AND FEMALE OUTBRED RATS EXPOSED TO SUBLIMATE

Е.А. Kapustina

Institute of Occupational Health & Human Ecology ESSC HE SB RAMS, Angarsk

Mercury has gonadotropic and mutagenic effects on the Mammalia organism. This fact indicates the possibility of appearance of the mercury exposure effects on the offspring whose parents were exposed to this toxicant. The sublimate effects on the development of the first generation offspring from male and female outbred rats exposed to this substance were studied. Sublimate solution (0,05 mg of mercury for 100 g of animal's body weight) was injected subcutaneously to outbred rats during 6 weeks. After ending of the injections these rats were mated with intact rats for getting the posterity. The examination of albino rats posterity had two stages. The first stage was to study the development of sensor-motional reactions on the first and the tenth days of life. The second stage included the research of zoosocial behavior of sexually mature rats and their activity in open field. Also the posterity was weighted for estimation of physical development. Obtained materials of the researches were elaborated with use of methods of nonparametric statistics (Mann – Whitney U-criteria). At the analysis of the results of the experiment we revealed statistically significant differences in body weight and motive activity of animals of experimental group in comparison with control group. Decrease of body weight in posterity of experimental male rats was revealed and there were no differences in maturation of sensor-motional reflexes in their first days of life. Increase of body weight and motional activity was revealed in posterity of female rats with sublimate intoxication in comparison with control values. Changes of body weight and behavior were registered in sexually mature posterity. Increase of body weight in comparison with control group was registered at the weighing of experimental animals. Depression of motive, position-finding, research and zoosocial activity was revealed in posterity of experimental male rats. Depression of motive, position-finding and research activity was revealed in male posterity of experimental female rats and strengthening of position-finding and research activity was revealed in their female posterity.

**Key words:** albino rats, posterity, sublimate, development

Согласно определению ВОЗ, ртуть относится к тяжелым металлам, которые неблагоприятным образом влияют на экологические условия и представляют наибольшую опасность для живых организмов. Ртуть может находиться в трех основных формах: элементарной, неорганической и органической. Основное количество элементарной ртути содержится в земной коре и водах Мирового океана. Окисляясь на воздухе, элементарная ртуть образует неорганические соединения, которые попадают в водоемы и почву с дождем, снегом, промышленным и бытовым мусором. Модифицируясь под воздействием бактерий, фитопланктона и грибов, неорганическая ртуть переходит в органические формы, которые накапливаются при прохождении по пищевым цепям и попадают в организм человека с рыбой, морепродуктами и другими продуктами питания. Из неорганических соединений ртути наиболее распространена сулема (хлорид ртути). При контакте с данным токсикантом интоксикация происходит в основном через дыхательные пути, при потреблении загрязненных пищевых продуктов и питьевой воды, а также через кожу при купании в загрязненных водоемах [1, 2, 3].

Ртуть обладает кумулятивными свойствами. Наиболее выражено накопление вещества в почках, головном мозге, печени [4]. Также известно, что ртуть способна вызывать мутации в эукариотических клетках. В экспериментах на культурах клеток млекопитающих выявлены хромосомные aberrации и сестринские хроматидные обмены, одноцепочечные разрывы ДНК в фибробластах крыс и мышей [7, 8, 10, 13, 15].

Кроме того, в эксперименте установлено, что хлорид ртути вызывает изменения в течении эстрального цикла у самок хомяка, такие, как прекращение развития фолликулов, колебания уровня половых гормонов [11]. При воздействии ртути на мужской организм также выявлено нарушение репродуктивной функции, что выражалось в колебаниях уровня тестостерона, количестве и подвижности сперматозоидов, увеличении содержания ртути в тканях яичка [14].

Таким образом, показано, что ртуть обладает гонадотропным и мутагенным действием на организм млекопитающих. Данный факт указывает на возможность появления эффектов воздействия ртути на потомков, чьи родители контактировали с данным токсикантом.

**Цель работы:** изучение воздействия сулемы на развитие потомства первого поколения, полу-

ченного от самцов и самок аутбредных крыс, подвергавшихся воздействию данным веществом.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В течение шести недель 15 опытным самцам и 10 опытным самкам аутбредных крыс подкожно вводили раствор сулемы (0,05 мг ртути на 100 г массы тела животного). Контрольным особям подкожно вводили физиологический раствор. После окончания инъекций крысы опытной и контрольной групп были спарены с интактными особями для получения потомства и последующего изучения возможного опосредованного воздействия сулемы на развитие и функционирование нервной системы. Крысята, полученные от контрольных животных, служили группой сравнения.

Обследование потомства белых крыс проводилось в два этапа. Первый — изучение развития сенсорно-двигательных реакций в первый и десятый дни жизни. Второй этап включал исследование зоосоциального поведения и активности в открытом поле особей, достигших половой зрелости [3]. Также производили взвешивание потомства, с целью оценки физического развития.

Животные обеих групп содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. Все исследования проводились в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей (Страсбург, 1986), и требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к Приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 г. № 755).

Полученные материалы исследований обрабатывали с использованием методов непараметрической статистики (U-критерий Манна — Уитни) с применением пакета прикладных программ Statistica for Windows 5.5. Нулевые гипотезы об отсутствии различий между группами отвергали при достигнутом уровне значимости соответствующего статистического критерия  $p < 0,05$  [5].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов эксперимента показал, что сулема оказывает воздействие на потомство аутбредных крыс.

Обследование новорожденных животных, полученных от самцов с интоксикацией, обнаружило статистически значимое уменьшение массы тела опытных особей, по сравнению с контролем (табл. 1). При изучении развития сенсорно-дви-

Таблица 1

Масса тела крысят первых дней жизни (г), Me ( $Q_{25}$ – $Q_{75}$ )

Период обследования	Потомство самцов (n = 111)	Потомство самок (n = 79)	Контроль (n = 43)
Первый период	9,1 (8,2–10,7)*	10,6 (8,4–12,0)	10,5 (9,2–11,5)
Второй период	14,8 (13,7–17,0)*	17,0 (14,8–21,7)*	16,0 (15,0–17,2)

**Примечание:** \* – отличия статистически значимы при сравнении с контролем при  $p < 0,05$ ; n – количество наблюдений.

гательных рефлексов у новорожденных крысят, полученных от самцов с интоксикацией сулемой, и группой контроля не выявлено отличий. У особей, полученных от самок опытной группы, обнаружено повышение уровня спонтанной двигательной активности до 1,0 (0–2,5) гребковых движений лап.

Обследование в возрасте 10 дней жизни животных по-прежнему выявило статистически значимое уменьшение массы тела белых крыс, полученных от самцов опытной группы, и увеличение массы тела у особей, полученных от самок с интоксикацией, по сравнению с контролем (табл. 1). При изучении двигательной активности выявлено, что животные, полученные от самок, двигались большее количество времени, чем контрольные животные — 18,0 (10,0–25,0) сек и 10,0 (5,0–20,0) сек соответственно. Активность белых крыс, полученных от самцов, не отличалась от контрольных и продолжалась в течение 16,0 (7,0–27,0) сек.

Обследование половозрелых животных происходило с учетом пола. Результаты взвешивания белых крыс, полученных от особей с интоксикацией сулемой, выявили увеличение массы тела потомства опытной группы (табл. 2).

Изучение поведения животных, полученных от самцов, в открытом поле выявило меньшую двигательную активность особей мужского пола, по сравнению с контролем, что выражалось в большем количестве (2,0 (1,0–3,5) и 0 (0–1,0) соответственно) и длительности (3,8 (1,5–4) и 0 (0–4,3) соответственно) акта «сидит». Белые крысы-самки также были менее активны в открытом поле, что отражено в большем количестве (4,9 (3,2–11,3) — опыт и 2,6 (0–5,6) — контроль) и длительности (3,0 (1,5–4,0) сек — опыт и 2,0 (0–3,0) сек — контроль) акта «сидит». Вместе с тем, у данных особей наблюдалась менее выраженная ориентировочно-исследовательская деятельность, что проявилось в снижении длительности акта «обнюхивания», по сравнению с контролем — 25,5 (20,5–27,5) и 29,0 (26–30) сек соответственно.

Поведение животных, полученных от самок с интоксикацией сулемой, также имело отличия от контроля. Так, меньшее суммарное количество поведенческих актов (69,0 (63–77,5) — опыт и 83,0 (67–91) — контроль) и большее количество акта «сидит» (2,0 (1,0–3,0) — опыт и 0 (0–1,0) — контроль) свидетельствовали о снижении двигательной активности белых крыс-самцов опытной группы. Вместе с тем меньшее количество актов «обнюхивания» демонстрировало снижение

ориентировочно-исследовательской активности данных животных — 23,0 (20,5–25) и 29,0 (25,0–35,0) в контроле. В поведении белых крыс-самок опытной группы выявлено усиление ориентировочно-исследовательской активности, что отражено в большем количестве (1,2 (0,4–1,7) — опыт, 0 (0–1,3) — контроль) и длительности (1,0 (1,0–2,0) сек — опыт, 0 (0–1,0) сек — контроль) актов «вертикальные стойки».

Результаты изучения зоосоциального поведения аутбредных крыс, полученных от самцов опытной группы, выявили снижение агрессивности данных особей, по сравнению с контролем, что выражалось в меньшем количестве атак на чужака — 0 (0–2,5) и 2,0 (0–7,0) соответственно. Активность особей, полученных от самок с интоксикацией сулемой, в данном тесте не отличалась от контрольных значений.

Таким образом, при анализе результатов эксперимента выявлены статистически значимые отличия в массе тела и двигательной активности животных опытной группы, по сравнению с контролем. В первые дни жизни у особей, полученных от опытных самцов, обнаружено уменьшение массы тела и не отмечены отличия в созревании сенсорно-двигательных рефлексов. У крысят, полученных от самок с интоксикацией сулемой, обнаружено увеличение массы тела и двигательной активности по сравнению с контрольными значениями.

У половозрелого потомства найдены изменения массы тела и поведения. При взвешивании опытных животных отмечено увеличение массы тела, по сравнению с контролем. У особей, полученных от самцов опытной группы, обнаружено угнетение двигательной, ориентировочно-исследовательской и зоосоциальной активности. У потомства самок опытной группы наблюдалось угнетение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности среди мужских особей и усиление ориентировочно-исследовательской у женских.

По результатам представленного исследования можно заключить, что сулема оказывает воздействие на развитие потомства первого поколения самцов и самок аутбредных крыс. Однако механизмы воздействия данного токсиканта на организм потомков не известны. Выше было сказано, что сулема обладает кумулятивными свойствами, и, таким образом, при беременности выход сулемы из депо может способствовать непосредственному влиянию токсиканта на развивающийся плод. С. V. Rudge et al. установили, что концентрация ртути

Масса тела половозрелых белых крыс (г), Me ( $Q_{25}$ – $Q_{75}$ )

Таблица 2

Группа	Самцы		Самки	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Потомство самцов с интоксикацией	177,5 (155,0–200,0)* n = 27	155,0 (140,0–170,0) n = 33	155,0 (145,0–173,0) n = 29	145,0 (140,0–155,0) n = 22
Потомство самок с интоксикацией	165,0 (153,0–185,0)* n = 32	155,0 (140,0–170,0) n = 33	165,0 (150,0–170,0)* n = 23	145,0 (140,0–155,0) n = 22

Примечание: \* — отличия статистически значимы при сравнении с контролем при  $p < 0,05$ ; n — количество наблюдений.

в пуповинной крови была в два раза выше, чем в материнской [12]. Также известно, что при употреблении рыбы, содержащей ртуть, беременными женщинами нарушается развитие нервной системы плода, что ведет к неврологическим нарушениям [6].

В представленном эксперименте было также выявлено и нарушение развития у потомства самцов, что невозможно объяснить непосредственным воздействием на эмбрион депонированной сулемы. Обладая мутагенным действием, токсикант вызывает изменения генетического материала в половых клетках родителей, влияя на развитие организма потомков. Поставленная проблема о воздействии сулемы на потомство аутбредных крыс, подвергавшихся воздействию токсиканта, требует дальнейшего изучения для выявления механизмов данного явления.

### ВЫВОДЫ

1. Сулема оказывает воздействие на развитие потомства первого поколения, полученного от самцов и самок аутбредных крыс, подвергавшихся воздействию токсиканта.

2. В первые дни жизни выявляются изменения массы тела и двигательной активности животных опытной группы, у половозрелых особей отмечено увеличение массы тела и нарушения двигательной, ориентировочно-исследовательской и зоосоциальной активности.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Арефьева А.С., Барыгина В.В., Зацепина О.В. Современные представления о влиянии ртути на клеточном и системном уровне // *Экология человека*. — 2010. — № 8. — С. 35–41.
2. Безгодов И.В. Оценка ртутной опасности на предприятиях химической промышленности Иркутской области // *Бюл. ВСНЦ СО РАМН*. — 2005. — № 2 (40). — С. 70–74.
3. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. — М.: Высшая школа, 1991. — 399 с.
4. Ефимова Н.В. Проблемы, связанные с загрязнением ртутью объектов окружающей среды

// *Бюл. ВСНЦ СО РАМН*. — 2005. — № 1 (39). — С. 127–133.

5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. — М.: Медиа Сфера, 2002. — 312 с.

6. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов: учебное пособие / Под ред. проф. Н.И. Калетиной. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 1016 с.

7. Anwar W.A., Gabal M.S. Cytogenetic study in workers occupationally exposed to mercury fulminate // *Mutagenesis*. — 1991. — N 6. — P. 189–192.

8. Bonacker D. Genotoxicity of inorganic mercury salts based on disturbed microtubule function // *Arch. Toxicol.* — 2004. — N 68, Vol. 10. — P. 575–583.

9. Howard W. Induction of chromosome changes by metal compounds in cultured CHO cells // *Toxicological Letters*. — 1991. — N 56. — P. 178–186.

10. Lamperti A.A., Printz R.H. Localization, accumulation and toxic effects of mercuric chloride on the reproductive axis of the female hamster // *Biol. Reprod.* — 1974. — N 11. — P. 180–186.

11. Schurz F., Saber-Vilar M., Fink-Crenmels J. Mutagenicity of mercury chloride and mechanisms of cellular defence: the role of metal-binding proteins // *Mutagenesis*. — 2000. — N 6, Vol. 15. — P. 525–530.

12. Boujbina M.A. Testicular in mercuric chloride treated rats association with oxidative stress // *Reproductive toxicology*. — 2009. — N 28, Vol. 1. — P. 81–89.

13. Rudge C.V. The placenta as a barrier for toxic and essential elements in paired maternal and cord blood samples of South African delivering women // *J. Environ. Monit.* — 2009. — N 11, Vol. 7. — P. 1322–1330.

14. Wong E.W., Cheng C.Y. Impact of environmental toxicants on male reproductive dysfunction // *Trends in Pharmacological Sciences*. — 2011. — N 32, Vol. 5. — P. 290–299.

15. Zasukhina A.D. Mutagenic effect of thallium and mercury salts on rodent cells with different repair activities // *Mutation Research*. — 1983. — N 124. — P. 163–173.

### Сведения об авторах

**Капустина Екатерина Александровна** – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории токсикологии Ангарского филиала ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН – НИИ медицины труда и экологии человека (665827, г. Ангарск, а/я 1170; тел.: 8 (3955) 55-40-79; e-mail: tox\_lab@mail.ru)