УДК 612.6:615.9:547.295.9

О.Є. Левченко

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ПОДРАЗНЮЮЧОЇ РЕЧОВИНИ МОРФОЛІДУ ПЕЛАРГОНОВОЇ КИСЛОТИ НА РЕПРОДУКТИВНУ ФУНКЦІЮ

Українська військово-медична академія
м. Київ

Ключові слова: *отруйні речовини подразнюючої дії, морфолід пеларгонової кислоти, ембріотоксичність*
Key words: *irritating agents, pelargonic acid morpholide, embryotoxicity*

Резюме. *В статье приведены и оценены параметры эмбриотоксичности морфолида пеларгоновой кислоты (МПК) при его пероральном введении белым крысам в разные периоды их беременности в дозе 1/40 LD_{50}. Сделан вывод об отсутствии эмбриолетальной и тератогенной активности МПК. В то же время, чувствительность плодов к токсичному действию МПК оказалась большей в первой половине беременности, нежели во второй.*

Summary. *In the article the parameters of embryotoxicity of pelargonic acid morpholide (PAM) in its peroral introduction in the dose of 1/40 LD_{50} to the white rats in different periods of their pregnancy are presented and assessed. A conclusion about absence of embryolethal and teratogenic activity of PAM is made. At the same time, the sensitivity of fetuses to the toxic action of PAM proved to be greater in the first half of pregnancy, than in the second.*

Завдяки Конвенції про заборону хімічної зброї, до якої приєдналась і Україна, створені міжнародні правові, організаційні та технологічні механізми суттєвого підвищення ефективності протихімічної безпеки і системи захисту від високотоксичних отруйних речовин [10]. Особливістю речовин подразнюючої дії є як раз їх широке використання підрозділами правоохоронних відомств і структур з метою припинення масових безпорядків, а також окремими особами з метою самозахисту [4, 7]. Такий аспект застосування подразнюючих речовин (ПР), ефекти ураження котрими є зворотними, не заборонений зазначеною Конвенцією, але при умові низької токсичності ПР, відсутності шкідливих наслідків їх впливу для здоров'я. Тому всебічне вивчення токсикологічних характеристик отруйних речовин групи подразнюючих є одним із пріоритетних та актуальних серед сучасних завдань військової токсикології.

Наукових експериментальних даних про наслідки впливу ПР на організм у доступній літературі опубліковано порівняно недостатньо. Існуючі роботи, в основному, присвячені вивченню таких відомих іритантів, як CS, CR, хлорацетофенон [9]. Останніми роками перспективною виявилась ПР морфолід пеларгонової кислоти (МПК) [5], котра найбільш відповідає вимогам Конвенції, як достатньо ефективна за специфічними властивостями та найменш токсична при різних шляхах отруєння. Попередньо нами було зазначено [6], що за летальною токсичністю, наприклад, при гострому внутрішньоочеревинному шляху введення [8], МПК належить до V классу - практично нетоксичних речовин.

Але уявлення про небезпеку ПР не обмежуються лише даними про гостру, найбільш сильно пошкоджуючу дію, яка швидко перебільшує межі адаптивних соматогенних здатностей організму, а збагачуються і знаннями про наслідки підгострих, хронічних впливів, у тому числі на найбільш чутливі до будь-яких фізико-хімічних факторів фізіологічні процеси та функції, до яких належить життєво важлива – репродуктивна.

Враховуючи зазначене, а також достатню стійкість в оточуючому середовищі ПР при їх застосуванні, що зумовлює можливість багатократних контактів, метою роботи було: визначити на експериментальних тваринах та проаналізувати показники ембріотоксичної активності МПК при його введенні в різні періоди вагітності.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктом даного дослідження стала токсичність подразнюючих отруйних речовин. Предметом дослідів була наявність ембріолетальної активності та тератогенної дії МПК при пероральному шляху введення. При цьому використано методи токсикологічні, морфологічні, статистичні. Матеріалами досліджень були лабораторні тварини (вагітні самки щурів) та ПР МПК.

Вивчення ембріотоксичної активності МПК здійснено на вагітних білих щурах в умовах введення тваринам ксенобіотику у вигляді

олійного розчину перорально в різні терміни вагітності.

На початку експерименту визначали щурів-самок зі стійким естральним циклом та в стадії проеструс підсажували з метою спарювання до щурів самців у співвідношенні 1:2. Наступна після спарювання дата виявлення наявності сперматозоїду у мазку з вагіни самки вважалась свідченням запліднення і рахувалась як перший день вагітності.

Вагітних самок розподіляли на три групи. Перша група отримувала олійний розчин МПК у перші сім діб вагітності, а друга група – починаючи з восьмої доби. При цьому використовувались дози, що дорівнювали 1/40 LD50, а саме: МПК вводили в дозі 55,3 мг/кг. Контролем служила третя група інтактних вагітних щурів, котрим перорально вводився лише розчинник. Для встановлення ембріотоксичної дії МПК тварин забивали на 20 добу вагітності.

Ембріотоксичність, складовими котрої є ембріолетальна активність та тератогенна дія, вивчали за загальноприйнятими методиками. Ембріолетальна загибель (передімплантаційна та постімплантаційна смертність) визначалась за формулами [3]. Показники тератогенної дії (маса плодів, краніо-каудальний розмір, наявність вад розвитку) визначали за методиками Dauson у модифікації А.П. Дибана та Willson у модифікації І.Р. Бариляка [1, 3].

При з'ясуванні ембріолетальної та тератогенної дії МПК на тварин оцінювали такі показники: до- і постімплантаційну загибель плодів, вагу плодів і їх краніо-каудальний розмір, наявність вад розвитку. Підраховували кількість жовтих тіл у яєчниках, кількість місць імплантації в матці, живих і мертвих плодів (постімплантаційну загибель і місця резорбції).

Показник передімплантаційної загибелі обчислювали як різницю між кількістю жовтих тіл і кількістю місць імплантації і виражали її у відсотках до жовтих тіл, прийнятих за 100%.

Постімплантаційна загибель - різниця між кількістю місць імплантації і кількістю живих плодів, виражена у відсотках до місць імплантації, прийнятих за 100%. Показником тератогенної активності була кількість вад у відсотках до зареєстрованих плодів, прийнятих за 100%.

Плоди зважували, вимірювали краніо-каудальний розмір. З метою виявлення вад розвитку огляд плоду проводили під бінокулярною лупою.

Результати досліджень піддавалися обробці методом варіаційної статистики з використанням параметричного t-критерію Стьюдента [2]. Достовірним вважалося значення $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При визначенні в контрольній групі доімплантаційної загибелі (табл. 1) помічено, що всього кількість місць імплантації є меншою за кількість жовтих тіл на 2, що в середньому на 1 самку складає відповідно 9,0 ± 0,45 та 9,33± 0,33.

Таблиця 1

Ембріотоксична дія МПК в дозі 1/40 LD_{50}

Групи тварин	Статистичні показники	Кількість жовтих тіл (на одну самку)	Кількість імплантацій (на одну самку)	Загибель до імплантації		Загибель після імплантації		Кількість живих плодів (на одну самку)			
								нормальних		аномальних	
				абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Контроль	M ±m	9,33 0,33	9,0 0,45	0,33 0,21	3,54	0	0	9,0 0,45	100	-	-
Введення МПК в першу половину вагітності (7 діб)	M ±m t* p*	9,67 0,42	9,0 0,63	0,67 0,33 0,79 > 0,4	6,93	0	0	9,0 0,63	100	-	-
Введення МПК в другу половину вагітності (з 8 доби до розтину)	M ±m t* p* t_1** p_1**	9,5 0,43	9,17 0,31	0,33 0,21 0 =1 0,79 > 0,4	3,47	0	0	9,17 0,31	100	-	-

Примітки: Позначка «*» вказує на статистичні показники при співставленні з контролем, позначка «**» вказує на статистичні показники при співставленні даних двох експериментальних груп тварин

Тобто, в контролі доімплантаційна загибель складала 0,33 ± 0,21, або 3,54%. При цьому постімплантаційна загибель плодів, кількість місць резорбції дорівнювала нулю, а кількість живих плодів відповідала кількісній величині місць імплантації.

Таблиця 2

Вплив МПК у дозі 1/40 LD_{50} на розвиток плодів щурів

Групи тварин	Кількість плодів	Статистичні показники	Середня маса плоду (г)		Краніо-каудальний розмір плоду (мм)	
			абс.	% до контролю	абс.	% до контролю
Контроль	**50**	**M**	**2,64**		**29,4**	
		±m	**0,03**		**0,37**	
Введення МПК у першу половину вагітності (7 діб)	**50**	**M**	**2,41**	**91,29 %**	**29,1**	**98,98 %**
		±m	**0,04**		**0,34**	
		t*	**5,29**		**0,65**	
		p*	**< 0,001**		**> 0,5**	
Введення МПК у другу половину вагітності (з 8 доби до розтину)	**50**	**M**	**2,54**	**96,21 %**	**29,3**	**99,66 %**
		±m	**0,03**		**0,33**	
		t*	**2,53**		**0,26**	
		p*	**< 0,05**		**> 0,5**	
		t_1**	**3,02**		**0,34**	
		p_1**	**< 0,01**		**> 0,5**	

Примітки: Позначка «*» вказує на статистичні показники при співставленні з контролем, позначка «**» вказує на статистичні показники при співставленні даних двох експериментальних груп тварин

Враховуючи фізіологічні особливості ембріогенезу, а саме те, що закладка органів і систем у плодів відбувається в першу половину вагітності, а також мітотична активність клітин та розвиток плодів у цей період є більш інтенсивним, важливим уявлялось виявити особливості токсичного впливу МПК саме на ці процеси. Тому отруєння ксенобіотиком, що випробувався, здійснювали саме в першу і другу половину вагітності тварин окремо, як це зазначено вище.

При дослідженнях МПК у групі тварин, котрим іритант вводився щоденно в першу половину вагітності, починаючи з 1 доби запліднення і до 7 доби, в цілому кількість жовтих тіл перевищувала величину місць імплантації на 4. Середня кількість жовтих тіл на 1 самку складала 9,67 ± 0,42, а імплантацій – 9,0 ± 0,63. З цього випливає, що доімплантаційна загибель плодів в абсолютних середніх цифрах дорівнює 0,67 ± 0,33, що відповідає 6,93%. Але статистичний аналіз показує недостовірність цих відмінностей від контрольних цифр. Щодо постімплантаційної загибелі, то в даній групі тварин її не було. Про це свідчить відсутність місць резорбції та живі плоди, середня кількість котрих відповідає кількості місць імплантації.

Краніо-каудальний розмір плодів (табл. 2) у зазначеній групі не відрізнявся статистичною достовірністю від контрольних тварин. У контролі цей показник дорівнював 29,4 ± 0,37 мм, а в досліді - 29,1 ± 0,34 мм, що відповідає 98,98% до контролю.

Розраховуючи середню вагу плодів у цій серії дослідів з отруєнням МПК, визначеними статистично достовірні відмінності від контролю. Так, якщо контрольна цифра дорівнювала 2,64 ± 0,03 г, то величина маси тіла плодів, отримана в дослідах - 2,41 ± 0,04 г, що, порівняно з контролем, складало 91,29%, тобто вона була зменшеною на 8,71%.

У другій групі тварин, що отримували МПК починаючи з 8 доби вагітності і до моменту забою, різниця кількостей жовтих тіл та місць імплантації складає 3. Зокрема, розрахована середня кількість жовтих тіл на 1 самку складає 9,5 ± 0,43, а місць імплантації – 9,17 ± 0,31. Загибель до імплантації склала 0,33 ± 0,21 і дорівнює 3,47%, що майже не відрізняється від контролю, а різниця з першою дослідною групою не є достовірною. Кількість живих плодів дорівнювала кількості імплантацій, місць резорбції не спостерігали, що свідчить про відсутність постімплантаційної загибелі.

Краніо-каудальний розмір плодів даної групи піддослідних тварин практично дорівнював контрольним значенням. Середня вага плодів мала величину 2,54 ± 0,03 г, або 96,21% до показників контрольних тварин, тобто відрізнялась на 3,79%, причому достовірно. Статистично достовірними були відмінності маси плодів тварин даної та попередньої груп дослідів.

В обох експериментальних групах, так само як і в контролі, були відсутні мертві плоди. В результаті огляду та обстеження плодів у їх органах візуально видимих вад розвитку не виявлено.

ВИСНОВКИ

1. Як показали проведені дослідження з внутрішньошлунковим отруєнням вагітних щурів МПК в дозі 1/40 LD50, у двох групах тварин, що отримували ПР відповідно в перші 7 діб і в період з 8 до 20 доби, іритант, за рідкісним винятком, не впливав на доімплантаційний розвиток плодів. У кожній з груп, а також у контролі відмічено лише одиничні ознаки доімплантаційної загибелі, що, ймовірно, не може явитися результатом дії МПК.

2. МПК не спричиняв постімплантаційної загибелі плодів.

3. Аномалій розвитку плодів в обох серіях дослідів також не виявлено, тобто МПК не проявив тератогенної активності.

4. Незначне, але достовірне зниження маси плодів в умовах багатократного отруєння МПК свідчить про можливу наявність у них здатності проникати через плацентарний бар'єр та певну токсичну дію речовини на розвиток плодів. Причому, наслідки такої токсичної дії (зменшення маси плодів) в умовах щоденного отруєння малими дозами іритантів у першу половину вагітності є більш суттєвими, ніж при отруєнні цими ж дозами у другу половину вагітності.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Барыляк И.Р. Анализ механизмов патогенного действия антидиабетических сульфаниламидов на эмбриональное развитие крыс: Дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук. – Л., 1967. – 202с.
2. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Л.: Госмедиздат, 1963. – 152с.
3. Дыбан А.П., Баранов Б.С., Акимова И.М. Основные методические подходы к тестированию химических веществ // Архив анатомии. – 1970. – Т. 52, № 10. – С. 89 – 100.
4. Зайцев Г.И., Быковская О.А., Лейкин Ю.Н. Судебно-медицинские аспекты массовых поражений ирритантами // Правовые и организационные вопросы судебной медицины и экспертной практики: Сб.науч.работ. - Киров.гос. мед. ин-т., 1997. - Ч. 2. - С. 127 - 131.
5. Исследование раздражающего действия морфолида пеларгоновой кислоты / Э.П. Зацепин, С.П. Королев, Л.А. Муковский и др. // Фундаментальные и прикладные проблемы современной военной токсикологии: Тез. 6-й Всеарм. конф. – СПб.: ВМА, 1996. – С. 41.
6. Левченко О.Є. Співставлення гострої токсичності подразнюючих речовин капсаїцину та морфоліду пеларгонової кислоти при внутрішньоочеревинному шляху введення // Військова медицина України. – Т.8, №1. - 2008. - С. 102 - 108.
7. Мохорт Н.А. Пути снижения токсичности полицейских газов // 2 съезд токсикологов России: Тезисы докладов. - М., 2003. – С. 379 – 380.
8. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения //Токсикология новых промышленных химических веществ / Под ред. И.В. Саноцкого. – М.: Медицина, 1973. – Вып. 13. – С. 47-51.
9. Blain P.G. Tear gases and irritant incapacitants. 1-chloroacetophenone, 2-chlorobenzylidene malononitrile and dibenz[b,f]-1,4-oxazepine // Toxicol. Rev. – 2003. – Vol.22, N 2. – P. 103 - 110.
10. Convention on the prohibition of the development, production, stockpiling, and use of chemical weapons and on their destruction, corrected version in accordance with Depositary Notification C.N.246.1994.TREATIES-5 issued on 31 August 1994 and the change made under Article XV (new paragraph 5bis of Section B of Part VI of the Verification Annex), in accordance with Depositary Notification C.N. 916.1999. TREATIES-7 issued on 8 October 1999; together with Depositary Notification C.N.157.2000.TREATIES-1 issued on 13 March 2000.