

choice of colloidal system and gradual “dissolving” NP condensate of the metal/metal oxide in the liquid medium can change the hydrodynamic size metal/oxide NP and increase their concentration to the level ensuring biological activity.

Key words: *metal nanoparticles, physicochemical properties, methods of investigation.*

Впервые поступила в редакцию 03.06.2014 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК 615.9:599.323.4

ТРАНСГЕНЕРАЦИОННЫЕ ЭФФЕКТЫ ХЛОРИДА РТУТИ

Вокина В.А., Капустина Е.А., Якимова Н.Л.

ФГБУ “Восточно-Сибирский научный центр экологии человека» СО РАНН;
vokina.vera@gmail.com

Проведено исследование трансгенерационного влияния хлорида ртути на структуру поведения и нервно-мышечную проводимость задней конечности потомства белых крыс первого и второго поколения (*F1* и *F2*). Установлено, что действие хлорида ртути на особей мужского пола вызывает в потомстве *F1* и *F2* снижение уровня двигательной активности и нарушение проведения импульса в нервно-мышечном аппарате задних конечностей.

Ключевые слова: *трансгенерационное действие, поведение, электронейромиография, хлорид ртути, белые крысы.*

Введение

В настоящее время проблема отдаленных эффектов химических веществ на последующие поколения является весьма актуальной. Химическая нагрузка на родителей приводит к переносу в эмбрион генетических и эпигенетических нарушений, которые могут проявляться не только в виде летальных мутаций, но и в виде различного рода патологических изменений органов и систем у потомства, а также их генетической нестабильности. Литературные данные свидетельствуют о том, что при производственном контакте родителей с различными токсичными веществами у детей повышается риск возникновения тяжелых онкологических заболеваний и поражений ЦНС [1, 2, 3, 4]. Одним из широко распространенных промышленных загрязнителей, оказывающих помимо общетоксического действия значительные нарушения генетического аппарата, является ртуть. Клинические данные свидетельствуют о репродуктивной токсичности данного соединения [5, 6, 7], в то время как сведения об

отдаленных последствиях ртутной интоксикации в последующих поколениях практически отсутствуют. Все вышеизложенное свидетельствует о необходимости расширять исследования по вопросам воздействия ртути и ее соединений на генеративные потенции родителей, а также на состояние здоровья их потомства. Целью настоящего исследования являлось изучение влияния интоксикации хлоридом ртути самцов белых крыс на функциональное состояние нервной системы их потомства в первом и втором поколениях.

Объекты и методы исследования

Эксперимент проведен на 15 аутбредных белых крысах-самцах, которым подкожно вводили раствор хлорида ртути ($HgCl_2$) из расчета 0,05 мг ртути на 100 г массы тела на протяжении 6-ти недель ежедневно, исключая выходные дни. Контрольные особи ($n = 5$) в аналогичном режиме получали инъекции физиологического раствора. Сразу после окончания экспозиции крыс-самцов спаривали с интактными самками для получения по-

томства *F1*. Через 3 месяца после рождения крыс-самцов *F1* спаривали с интактными самками для получения потомства *F2*. Обследование крыс-самцов из потомства *F1* и *F2* проводилось в возрасте 2,5-3 месяцев и включало в себя тестирование в «открытом поле» и проведение электронейромиографического исследования с использованием аппарата «Нейро-ЭМГ-Микро» («Нейрософт», Россия).

Все экспериментальные животные получены путем собственного воспроизводства в виварии ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН и содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. на стандартном рационе. Работа выполнена с соблюдением правил гуманного отношения к животным в соответствии с требованиями «Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (ВОЗ, Женева, 1985) и «Правилами лабораторной практики» (Приказ Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. №708н).

Полученные материалы исследований обработаны методами непараметрической (*U*-критерии Манна-Уитни) статистики с использованием ППП *Statistica 6.0.* (*StatSoft*) (лиц № АХХR004E642326FA). Нулевые гипотезы об отсутствии различий между группами отвергали при достигнутом уровне значимости соответствующего статистического критерия $p < 0,05$. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного интервала *Me(IQR)*.

Результаты и их обсуждение

В результате исследования выявлено влияние хлорида ртути на функциональное состояние нервной системы и состояние периферических нервов у потомства животных первого и второго поколений. При тестировании «открытом поле» выявлено угнетение двигательной активности, которое выражалось в статистически значимом снижении общего времени движения и числа пересеченных квадратов, а также в повышении суммар-

ной длительности иммобильности, по сравнению с показателями соответствующей группы контроля (табл. 1). Кроме того, у особей второго поколения в структуре поведения были зафиксированы паттерны фризинга, что указывает на повышенный уровень тревожности у животных данной группы.

При проведении ЭНМГ обследования у особей первого поколения выявлены патологические изменения в ответных реакциях нервно-мышечного аппарата, характеризующиеся уменьшением количества функциональных двигательных единиц, участвующих в ответе на стимул, а также снижением амплитуды и длительности М-ответа и возрастанием латентности (табл. 2). Второе поколение животных характеризовалось аналогичными по направленности, однако менее выраженными изменениями нервно-мышечной проводимости. В данной группе животных наблюдалось статистически значимое увеличение латентности и снижение амплитуды М-ответа, что позволяло констатировать более длительное время проведения импульса по нервным волокнам.

Результаты проведенного исследования показали, что воздействие хлорида ртути на мужской организм сопровождается нарушением функционального состояния нервной системы в первых двух поколениях их потомства. Ранее в наших исследованиях было показано нарушение развития новорожденного и половозрелого потомства первого поколения крыс, полученного от самок с сулевой интоксикацией [8]. При этом наблюдаемый отдаленный биологический эффект на организм потомков может быть объяснен кумулятивными свойствами ртути и, соответственно, ее непосредственным воздействием на эмбрион. В то же время в представленном эксперименте длительность воздействия сулемы на мужских особей составила 6 недель, что сопоставимо со сроками сперматогенеза у крыс. Принимая во внимание, что ртуть обладает мутагенным действием на

организм млекопитающих, мы предполагаем, что механизм развития нарушений нервной системы у потомства опосредован изменениями наследственной информации. При этом индуцированные сулемой мутации, вероятно, затронули половые клетки и передаются из поколения в поколение в неизменном виде. Следует отметить, что наблюдаемый эффект может быть опосредован происходящими во время формирования половых клеток эпигенетическими нарушениями, приводящими к специфическим изменениям отдельных участков хромосом, что в дальнейшем может приводить к стойким функциональным различиям экспрессии генов у потомства. Полученные данные обосновывают необходимость дальнейшего изучения отдаленных последствий интоксикации соединениями ртути на поколения, а также механизма передачи такого «химического груза» из поколения в поколение.

Выводы

1. Экспозиция хлоридом ртути приводит к нарушению функционального состояния нервной системы у потомства *F1* и *F2*.
2. Трансгенерационный эффект хлорида ртути у животных *F1* и *F2* сопровождается снижением локомоторной активности и нарушением нервно-мышечной проводимости.

Литература

1. El-Helaly M. Paternal occupational exposure and the risk of congenital malformation / M. El-Helaly et al. // Int. J. Occup. Med. Environ. Health. — 2011. — № 24. — P. 218-227.
2. Shim U. K. Parental exposure to pesticides and childhood brain cancer: U.S. Atlantic coast childhood brain cancer study / U. K. Shim et al. // Environ. Health Perspect. — 2009. — № 6. — P. 1002-1006.
3. Miligi L. Risk of childhood leukaemia and non-hodgkin's lymphoma after parental occupational exposure to solvents and other agents / L. Miligi et al. // Occup. Environ. Med. — 2013. — №70(9). — P. 648-655.

Таблица 1

Показатели поведения белых крыс *F1* и *F2* в «открытом поле»

Показатели	<i>F1</i>		<i>F2</i>	
	Опыт <i>n</i> = 28	Контроль <i>n</i> = 35	Опыт <i>n</i> = 35	Контроль <i>n</i> = 33
Число пересеченных квадратов	71,1 (57,0-84,3) *	83,2 (67,1-91,0)	44,1 (25,4-58,1)	47,4 (38,2-57,1)
Общее время движения, с	47,6 (28,9-55,9) *	54,5 (46,4-64,6)	21,2 (13,2-33,4) *	31,5 (18,1-39,3)
Длительность иммобильности, с	9,2 (2,4-32,1) **	0 (0-5,6)	43,2 (11,2-66,2) **	15,4 (1,3-28,2)
Вертикальные стойки	0 (0-3)	1 (0-3)	0 (0-0)	0 (0-0)
Стойки с упором	6 (3-8)	6 (5-11)	2 (1-3)	2(1-4)
Грумминг	1 (0-1,5)	1(0-2)	0 (0-2)	1 (0-2)
Фризинг	1 (0-1)	1 (0-1)	2 (1-3) **	1 (0-1)

Примечания: Отличия статистически значимы при сравнении с контролем (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$); *n* – количество наблюдений.

Таблица 2

Показатели ЭНМГ-активности мышц задних конечностей потомства белых крыс *F1* и *F2*

Показатели	<i>F1</i>		<i>F2</i>	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Латентность, с	3,6 (3,0-4,7) **	0,6 (0,5-2,8)	4,5 (2,8-4,7)*	2,6 (2,1-3,5)
Длительность, с	4,1 (3,1-4,9) **	7,8 (5,9-10,5)	3,3 (2,2-4,7)	4,2 (3,2-5,5)
Амплитуда, мВ	1,8 (1,4-3,1) *	3,5 (2,7-4,4)	2,5 (1,5-3,8)*	4,3 (3,2-4,9)
Площадь вовлечения, мВ*мс	3,8 (2,5-5,5) **	16,4 (12,5-21,9)	3,3 (2,9-4,2)	5,9 (3,4-7,6)

Примечания: Отличия статистически значимы при сравнении с контролем (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$); количество животных в каждой группе 8.

4. Colt J. S. Parental occupational exposures and risk of childhood cancer / J. S. Colt, A. Blair // Environ. Health Perspect. — 1998. — №106(3). — P. 909-925

5. Schuurs A.H. Reproductive toxicity of occupational mercury. A review of the literature / A.H. Schuurs // J. Dent. — 1999. — №27(4). — P. 249-256.

6. Queiroz E.K. Occupational exposure and effects on the male reproductive system / E.K. Queiroz, W.Waissmann // Cad. Saude Publica. — 2006. — №22(3). — P. 485-493.

7. Wong E.W. Impact of environmental toxicants on male reproductive dysfunction / E.W. Wong,

C.Y. Cheng // Trends Pharmacol. Sci. — 2011. — №5(32). — P. 290-299.

8. Капустина Е.А. Развитие потомства самцов и самок аутбредных крыс, подвергавшихся воздействию сулемы / Е.А. Капустина // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. — 2013. — №1 (89). — С. 102-105.

References

1. El-Helaly M. Paternal occupational exposure and the risk of congenital malformation / M. El-Helaly et al. // Int. J. Occup. Med. Environ. Health. — 2011. — № 24. — P. 218-227.
2. Shim U. K. Parental exposure to pesticides and childhood brain cancer: U.S. Atlantic coast childhood brain cancer study / U. K. Shim et al. // Environmental health perspectives. — 2009. — № 6. — P. 1002-1006.
3. Miligi L. Risk of childhood leukaemia and non-hodgkin's lymphoma after parental occupational exposure to solvents and other agents / L. Miligi et al. // Occup. Environ. Med. — 2013. — №70(9). — P. 648-655.
4. Colt J. S. Parental occupational exposures and risk of childhood cancer / J. S. Colt, A. Blair // Environ. Health Perspect. — 1998. — №106(3). — P. 909-925
5. Schuurs A.H. Reproductive toxicity of occupational mercury. A review of the literature / A.H. Schuurs // J. Dent. — 1999. — №27(4). — P. 249-256.
6. Queiroz E.K. Occupational exposure and effects on the male reproductive system / E.K. Queiroz, W.Waissmann // Cad. Saude Publica. — 2006. — №22(3). — P. 485-493.
7. Wong E.W. Impact of environmental toxicants on male reproductive dysfunction / E.W. Wong, C.Y. Cheng // Trends in pharmacological sciences. — 2011. — №5(32). — P. 290-299.
8. Kapustina E.A. 2013, «The development of the posterity of male and female outbred rats exposed to sublimate», Bulletin ESSC SB RAMN, Vol. № 1 (89), pp. 102-105. (in Russian)

Резюме

ТРАНСГЕНЕРАЦІОННІ ЕФЕКТИ ХЛОРИДУ РТУТІ

Вокіна В.А., Капустіна Е.А., Якімова Н.Л.

Проведено дослідження трансгенераційного впливу хлориду ртуті на структуру поведінки і нервово-м'язову провідність задньої кінцівки потомства білих щурів першого і другого покоління (F1 і F2). Встановлено, що дія хлориду ртуті на особин чоловічої статі викликає в потомство F1 і F2 зниження рівня рухової активності і порушення проведення імпульсу в нервово-м'язовому апараті задніх кінцівок.

Ключові слова: трансгенераційне дію, поведінку, електронейроміографія, хлорид ртуті, білі щури.

Summary

TRANSGENERATIONAL EFFECTS OF MERCURY CHLORIDE

Vokina V.A., Kapustina E.A., Yakimova N.L.

In this study transgenerational effect of mercury chloride on male albino rats was investigated by observing the F1 and F2 generation using «open field test» and electromyography characteristics. In the F1 and F2 offspring, decrease locomotor activity and neuromotor impairment of the hind limbs were observed.

Keywords: transgenerational effects, behavior, electroneuromyography, mercury chloride, albino rats.

Впервые поступила в редакцию 25.05.2014 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования