

УДК 615.015.13:615.233:159.929

ЗМІНИ ПОВЕДІНКОВИХ РЕАКЦІЙ У БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ІНТРАНАЗАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ РІЗНИХ ДОЗ НІТРОКСОЛІНУ

Яськів Г.І.

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Досліджено вплив нітроксоліну на поведінку білих щурів при інтраназальному введенні у дозах, що відповідає концентраціям у повітрі 706,8 мг/м³, 235,6 мг/м³ та 78,5 мг/м³. Досліджені рівні впливу препарату не викликають змін вертикальної, горизонтальної рухової активності, норкового рефлексу. Динаміка змін показників упродовж двох днів спостереження не виходила за межі статистично допустимих рівнів і носила фізіологічний, адаптаційний характер. У результаті «тіопеталової проби» встановлено збільшення тривалості сну у щурів при введенні нітроксоліну в дозі 706,8 мг/м³. Сумаційно пороговий потенціал знаходиться в межах статистично допустимих рівнів.

Ключові слова: нітроксолін, вертикальна та горизонтальна рухова активність, норковий рефлекс, тіопеталовий сон.

Постановка проблеми. Методична схема дослідження лікарського засобу при обґрунтуванні у повітрі робочої зони включає: визначення параметрів гострої токсичності, визначення кумулятивних властивостей, визначення місцевої дії на шкіру та слизову оболонку ока, визначення параметрів субхронічної токсичності, вивчення віддалених наслідків дії [1]. Враховується також діапазон фармакологічних ефектів доз, механізм дії та специфічна активність впливу препарату на різні системи організму, що свідчатиме про потенційну та реальну небезпеку дії лікарського засобу.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Токсичний вплив речовин на організм людини, є успішно відтворений у експериментах на тваринах. Досліди на тваринах дають можливість отримати інформацію, за допомогою якої можна зробити висновки про зв'язок між дозою речовини та її біологічним ефектом. Аналізуючи поведінкові реакції тварин в експериментах, можна стверджувати чи заперечувати токсичний вплив лікарського засобу на нервову систему [2].

В фармакології та токсикології використовують ряд поведінкових тестів, які базуються на аналізі спонтанної і загальної поведінки, які, в основному, характеризують, регулюють, інтегрують, координують і коригують функції центральної нервової системи [3].

Для правильної інтерпретації поведінкових реакцій, групи піддослідних тварин в експерименті формують за однаковим типом вищої нервової діяльності. Поділяють на активних і пасивних тварин. У активних відмічають чітко виражену орієнтаційно-дослідницьку реакцію на невідому обстановку, в результаті чого вони швидко знаходять їжу (умовні рефлексії). У пасивних переважають оборонні реакції на нове середовище, відмічають виражену вегетативну реакцію. Також для встановлення типу нервової системи велике значення мають такі характеристики, як час появи рефлексу, швидкість закріплення його і стійкість, величина і тривалість рефлексу, швидкість згасання і відновлення, процеси збудження та гальмування [4; 5].

Серед популярних тестів поведінкових реакцій є метод водного лабіринту Морріса. Принцип методу базується на тому, що піддослідного

щур випускають у басейн із замутною водою та встановлюють там спеціальну платформу. Тварина активно плаває і шукає цю платформу. Щура, який знайшов платформу, виймають з басейну і через деякий час знову випускають плавати, але вже з іншої сторони. Кожна тварина має шість спроб. Кожна спроба віднайти платформу має бути коротшою і простішою. За допомогою цього тесту визначають здібність тварин до навчання, пізнання та запам'ятовування, оцінюють динаміку формування твариною загальної просторової пам'яті, стратегію поведінки тварини в ході експерименту [5; 6].

Експерименти у лабіринтах показують на скільки швидко піддослідна тварина отримує інформацію, як ефективно використовує раніше набутий досвід [5].

Для дослідження соціальної пам'яті використовують здатність щурів розпізнавати запах особин свого виду.

Існують різноманітні тести для визначення рухливої активності, координації рухів [7], емоційної реактивності [8]. Найчастіше використовують:

- метод «вертикальної» рухової активності в обмеженому середовищі;
- метод відкритої площадки;
- метод відкритого поля;
- метод обертового конуса;
- комплексний метод з інтегральною оцінкою поведінкових параметрів у тварин.

У літературі наведено дані про особливості поведінкових реакцій під впливом антропогенних забруднювачів [9], стресу [10], інтоксикацій отрутами: нітробензолом [11], кадмієм [12; 13], марганцем [14; 15], 7-гідроксикумарином [16], нітратно-свинцевій інтоксикації [17] тощо.

Виділення невирішених раніше частин загальної проблеми. Нітроксолін – синтетичний уроантисептик, що діє за механізмом хелатування. Препарат випускається декількома хіміко-фармацевтичними підприємствами: ПАТ «Київський вітамінний завод» (м. Київ), ПАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод» (м. Київ), ПАТ «Технолог» та ПАТ «Вітаміни» (м. Умань Черкаська область). В умовах технологічного процесу на виробництві лікарська субстанція може потрапити в організм працівників

через дихальні шляхи та шкіру. Окрім того, нітроксолін має протипухлинну дію і застосовується при хворобі Альцгеймера [18]. Тому особливу увагу слід приділити вивченню впливу нітроксоліну на центральну нервову систему.

За даними літератури, у робітників, які контактують з хімічною субстанцією можуть спостерігатися негативні прояви, в тому числі емоційне реагування на зовнішні подразники, у вигляді підвищеної збудливості чи емоційної лабільності, швидкої зміни настрою [7].

Дослідження поведінкових реакцій при інтраназальному введенні нітроксоліну проводилися в рамках токсикологічного експерименту з розробки гігієнічного регламенту допустимого вмісту речовини у повітрі робочої зони на хіміко-фармацевтичних підприємствах.

Мета статті. Експериментально дослідити особливості і динаміку змін поведінкових реакцій у білих щурів при інтраназальному введенні різних доз нітроксоліну, як інтегрального показника фізіологічного стану організму та токсичного впливу на нервову систему.

Виклад основного матеріалу. Дослідження на лабораторних тваринах проводилися згідно методичних рекомендацій [4] на білих щурах масою 200 -300 г у віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького згідно санітарно-гігієнічних вимог. Тварини утримувалися в клітках по 6 особин однієї статі, знаходилися на повноцінному харчовому раціоні, мали однаковий час харчування і дослідження з врахуванням біоритмів поведінкових реакцій.

Тваринам одноразово інтраназально вводили водний розчин нітроксоліну в дозах, що відповідали концентраціям у повітрі 706,8 мг/м³, 235,6 мг/м³ та 78,5 мг/м³. Розрахунковий поріг однократної інгаляційної дії нітроксоліну становить 235,6 мг/м³ [19].

Контрольною групою були щури, яким вводили відповідну кількість дистильованої води. Проміжною дозою введення взяли розрахунковий поріг однократної інгаляційної дії нітроксоліну L₁₀, який становив 235,6 мг/м³.

Поведінкову активність щурів вивчали на першу добу після затруєння різними дозами нітроксоліну та на другу добу, по чергово починаючи з дослідної та контрольної груп, методом «відкритого поля». Для цього щурів поміщали в манеж, поверхнею розміром метр на метр, яка розділена на двадцять п'ять квадратів у затемненому приміщенні. Між квадратами зроблені

дев'ять нірок діаметром 5 см. Кожну тварину ставили індивідуально в центральний квадрат відкритого поля. Експеримент тривав 20 хвилин. Фіксували за допомогою секундоміра час виходу з центрального квадрату (латентний період), при цьому критерієм переходу тварин до іншого квадрата вважали переміщення обох тазових кінцівок через лінію, що розділяє квадрати. Протягом хвилини візуально відзначали кількість квадратів, у які зайшла тварина (горизонтальна рухова активність), кількість піднімань на задні кінцівки (вертикальна рухова активність), кількість «нірок», які щур обнюхав і заглянув у них (норковий рефлекс).

Проводили визначення функціональної активності ЦНС методом тіопенталової проби, шляхом внутрішньошлункового введення щурам 1% розчину тіопенталу натрію [20]. Визначали середню тривалість сну щурів кожної групи.

Сумаційно-пороговий потенціал (СПП) визначали згідно методики [21].

Результати порівнювалися з нормою [22] та статистично обчислювалися з використанням критерія Стьюдента. Дані представлені як середнє значення та та відповідною абсолютною похибкою (M ± m). Різницю між досліджуваними показниками вважали статистично достовірною за значення (p ≤ 0,05).

При оцінці токсикологічних базових поведінкових реакцій та окремих їх складових найбільш чутливим є вертикальний компонент рухової активності, що відображає глибокі зміни у функціонуванні ЦНС.

Результати тесту «відкритого поля» на першу добу показали, що із зростанням дози препарату вертикальна активність дещо знижується і наближається до показників контрольної групи (табл.). На другий день спостереження тенденція мала істотні зміни. Показники вертикальної активності щурів, які були затруєні максимальною дозою препарату дещо перевищили значення у контрольній групі, із зниженням дози лікарського засобу реєструвалися статистично вірогідне зниження вертикальної рухової активності. Всі ці показники протягом двох днів спостереження не виходили за межі статистично допустимих рівнів, носили фізіологічний, адаптаційний характер.

Одержані дані показників горизонтальної рухової активності впродовж 2 діб незначно коливалися відносно контрольних значень, хоч і було зафіксовано підвищені показники при

Таблиця

Показники поведінкових реакцій

Параметри оцінки Дози	Доби	Вертикальна рухова активність (M ± m)	Горизонтальна рухова активність (M ± m)	Норковий рефлекс (M ± m)	Тіопенталовий сон, хв (M ± m)	СПП
78,5 мг/м ³	1 день	1,17 ± 0,50	3,83 ± 0,62	1,17 ± 0,35	42,0 ± 2,62	7,17±0,39
	2 день	0,80 ± 0,43	3,71 ± 1,07	1,10 ± 0,48	41,5 ± 2,86	7,5±0,97
235,6 мг/м ³	1 день	0,92 ± 0,31	5,50 ± 1,35	0,65 ± 0,44	48,16 ± 4,23	8,25±0,92
	2 день	0,90 ± 0,40	4,80 ± 0,99	1,28 ± 0,43	48,17 ± 3,89	8,00±0,75
706,8 мг/м ³	1 день	0,75 ± 0,45	4,50 ± 1,81	3,35 ± 0,97	74,33 ±2,74	7,21±0,47
	2 день	1,60 ± 0,69	5,30 ± 1,61	1,30 ± 0,45	47,67 ± 2,38	6,5±2,0
Контроль	1 день	0,67 ± 0,47	5,90 ± 1,35	1,42 ± 0,66	38,30 ± 2,64	11,33 ± 1,65
	2 день	1,50 ± 0,59	4,70 ± 1,42	1,80 ± 0,43	37,33 ± 1,71	11,06±1,75

Примітка: *достовірність різниці між показниками p<0,05

дозі 235,6 мг/м³ на першу і другу доби та при 706,8 мг/м³ на другу добу, але в межах допустимих рівнів.

В результаті тесту відкритої площадки, в основу якого покладений «норковий рефлекс» видно, що при дозі, нижчій за розрахунковий поріг однократної інгаляційної дії, на першу і другу доби відмічається достовірно вірогідне зменшення кількості квадратів, у які зайшла тварина по відношенню до контрольних. При дозі 706,8 мг/м³ у перший день норковий рефлекс був дещо вищим у порівнянні з контрольною групою, але вірогідно не достовірним ($p < 0,05$).

У результаті «тіопеталової проби» встановлено збільшення тривалості сну у щурів при введенні нітроксоліну в дозі 706,8 мг/м³, різниця достовірна ($p < 0,05$) у порівнянні з контролем.

Сумаційно пороговий потенціал на першу та другу доби при всіх дозах був знижений по відношенню до контрольної групи, але ця різниця не суттєва ($p < 0,05$), що свідчить про адаптаційний процес в організмі на дію шкідливого фактору.

Висновки і пропозиції. Нітроксолін при інтраназальному введенні у дозах, що відповідає концентраціям у повітрі 706,8 мг/м³, 235,6 мг/м³ та 78,5 мг/м³ не викликає симптомів інтоксикації, неврологічних порушень (аномальної поведінки, порушення пози, координації рухів, м'язевого тону, тощо).

Аналіз поведінкових реакцій щурів, які знаходилися під впливом нітроксоліну показав відсутність змін вертикальної, горизонтальної рухової активності, норкового рефлексу.

У результаті «тіопеталової проби» встановлено збільшення тривалості сну у щурів при введенні нітроксоліну в дозі 706,8 мг/м³.

Сумаційно пороговий потенціал знаходиться в межах статистично допустимих рівнів.

Враховуючи літературні дані та власні дослідження, можна зробити висновок про необхідність подальших досліджень впливу нітроксоліну на організм, для обґрунтування мінімально допустимих терапевтичних доз, щоб передбачити ймовірний негативний вплив та попередити в майбутньому виникнення захворювання у працівників виробництва.

Список літератури:

1. МВ по обґрунтуванню гранично допустимих концентрацій лікарських засобів у повітрі робочої зони і атмосферному повітрі населених місць. [затв. МОЗ України 21.10.2005, № 544]. – К., 2005. – 19 с.
2. Горна О.І. Зміни поведінкових реакцій у тварин із різним профілем моторної асиметрії в умовах больового стресу / О.І. Горна // Фізіол. журнал. – 2014. – Т. 60, № 3, додаток. – С. 34–35.
3. Мельников А.В. Выбор показателей поведенческих тестов для оценки типологических особенностей поведения крыс / А.В. Мельников, М.А. Куликов, М.Р. Новикова [и др.] // Ж. высш. нерв. деятельности. – 2004. – Т. 54, № 5. – С. 712–717.
4. Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования: МР № 2166-80 [Утв. МЗ СССР 12.04.1980] Киев, 1980. – 47 с.
5. Александрова Ж.Г., Суворов Н.Б., Шанин Ю.Н., Цыган В.Н. Индивидуальные особенности поведения, обучения, адаптации крыс к экспериментальным воздействиям // Физиологический журнал СССР им. И.С. Сеченова. – 1984. – Т. 70, № 9. – С. 1294–1300.
6. Golinska P. Badania na szczurach – omowienie metodologii [Electron. resource] / P. Golinska. – 2015. – Access mode: <http://neuropsychologia.org/badania-na-szczurach-omowienie-metodologii>.
7. Ch. Vorhees. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory [Electron. resource] / Vorhees Ch., Williams M. – 2006. – Access mode: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2895266/>
8. Jamie N. Battery of behavioral tests in mice that models age-associated changes in human motor function / Jamie N. Justice, Christy S. Carter, Hannah J. Beck // Age (Dordr). 2014; 36(2): 583–595.
9. Alline C. Animal models of anxiety disorders and stress [Electron. resource] / Rev. Bras. Psiquiatr. 2013; 35(2). – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1590/1516-4446-2013-1139>.
10. Богоявленська В.Ф. Особливості формування поведінкових реакцій під дією антропогенних забруднювачів в експерименті / В.Ф. Богоявленська. // Сучасні проблеми токсикології. – 2011. – № 5. – С. 75–76.
11. Чуян Е.Н. Модуляция поведенческих реакций крыс с разным профилем моторной асимметрии под влиянием гипокинетического стресса / Е.Н. Чуян, О.И. Горная // Нейрофизиология. – 2010. – Т. 42, № 3. – С. 247–253.
12. Широкова Л.П. Динаміка змін поведінкових реакцій у білих щурів при експериментальній нітробензолній інтоксикації / Л.П. Широкова, В.В. Храпак // Сучасні проблеми токсикології. – 2002. – № 1. – С. 1–6.
13. Федоренко Ю.В. Сумація підпорогових імпульсів за умов окремої та поєднаної дії кадмію й іммобілізаційного стресу з урахуванням типології поведінки експериментальних тварин / Ю.В. Федоренко // Медичні перспективи. – 2015. – Т. XX, № 2. – С. 11–16.
14. Juostna V. Research article neurobehavioral alterations in cadmium exposed rats. International Journal of Recent Scientific Research. 2016;7(3), 9418 – 9424.
15. Петринич В.В. Динаміка змін поведінкових реакцій у статевозрілих щурів при марганцевій інтоксикації залежно від швидкості ацетилювання / В.В. Петринич, Л.І. Власик // Буковинський медичний вісник. – 2010. – Т. 14, № 2 (54). – С. 110–112.
16. Губар І.В. Вплив низьких доз сполук свинцю, ртуті, марганцю на поведінкові реакції піддослідних тварин залежно від їх віку / І.В. Губар // Нариси вікової токсикології; за ред. І.М. Трахтенберга. – К.: Авіцена, 2005. – С. 149–164.
17. Зінов'єва М.Л. Особливості поведінкових реакцій самок і самців щурів за субхронічної дії 7-гідроксикумарину / М.Л. Зінов'єва, Н.О. Карпезо, О.В. Линчак // Сучасні проблеми токсикології. – 2012. – № 3-4. – С. 81–85.
18. Янчук В.В. Динаміка змін поведінкових реакцій та їх структури у інфантильних щурів при ізольованій та комбінованій нітратно свинцевій інтоксикації / В.В. Янчук, Л.І. Власик // Сучасні проблеми токсикології. – 2002. – № 4 (20).
19. Knez D., Brus B., Coquelle N., Sosič I., Šink R., Brazzolotto X., Mravljak J., Colletier J.P., Gobec S. Structure-based development of nitroxoline derivatives as potential multifunctional anti-Alzheimer agents. Bioorg Med Chem. 2015;23(15):4442–52. doi: 10.1016/j.bmc.2015.06.010.

20. Кузьмінов Б.П. Обґрунтування орієнтовно безпечного рівня впливу нітроксоліну у повітрі робочої зони виробничих приміщень / Б.П. Кузьмінов, Т.С. Зазуляк, Г.І. Яськів, В.А. Туркіна // Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки. – 2016. – № 3 (75). – С. 39–42.
21. Гижларян М.С. Нове данные к применению гексеналовой пробы в токсикологическом эксперименте / М.С. Гижларян // Гигиена труда и профзаболевания. – 1979. – № 10. – С. 49–50.
22. Сперанский С.В. О преимуществах использования нарастающей силы тока при исследовании способности белых мышей к суммации подпороговых импульсов / С.В. Сперанский // Фармакология и токсикология. – 1965. – № 1. – С. 123–124.
23. Трахтенберг. И.М., Сова Р.Е., Шефтель О.В., Оникиенко Ф.А. Показатели нормы у лабораторных животных в токсикологическом эксперименте (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы). – М., Медицина, 1978. – 176 с.

Ясків А.І.

Львовский национальный медицинский университет
имени Данила Галицкого

ІЗМЕНЕННЯ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ У БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ИНТРАНАЗАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ НИТРОКСОЛИНУ

Анотація

Исследовано влияние нитроксолину на поведение белых крыс при интраназальном введении в дозах, соответствующем концентрациям в воздухе 706,8 мг/м³, 235,6 мг/м³ и 78,5 мг/м³. Исследованные уровни воздействия препарата не вызывают изменений вертикальной, горизонтальной двигательной активности, норкового рефлекса. Динамика изменения показателей в течение двух дней наблюдения не выходила за пределы статистически допустимых уровней, носила физиологический, адаптационный характер. В результате «тиопеталовой пробы» установлено увеличение продолжительности сна у крыс при введении нитроксолину в дозе 706,8 мг/м³. Суммационно пороговый потенциал находится в пределах статистически допустимых уровней.

Ключевые слова: нитроксолин, вертикальная та горизонтальная двигательная активность, норковый рефлекс, тиопенталовый сон.

Iaskiv G.I.

Danylo Galytsky Lviv National Medical University

CHANGE BEHAVIORS WITH DIFFERENT DOSES OF INTRANASAL NITROXOLINE IN WHITE RATS

Summary

The influence Nitroxoline the behavior of white rats with intranasal doses corresponding concentrations in the air of 706,8 mg/m³ and 235,6 mg/m³ and 78,5 mg/m³. Investigating the influence of the drug does not cause changes in vertical and horizontal motor activity, mink reflex. Dynamics of changes in observation for two days did not extend beyond statistically acceptable levels, wore physiological, adaptive nature. As a result, «tiopetalovoy test» found increasing sleep duration in rats when administered Nitroxoline a dose of 706,8 mg/m³. Summation threshold potential within statistically acceptable levels.

Keywords: Nitroxoline, vertical and horizontal motor activity, mink reflex, sleep with tiopentalom.