

УДК 574.2:615.91

Е.О. Аристархова

к. б. н.

Житомирський інженерно-технологічний інститут

І.Ф. Палій

к. с.-г. н.

Державний агроекологічний університет

Л.А. Шубович

ОблЕНЦУМ

А.М. Машегова

ОблЕНЦУМ

БИОТЕСТУВАННЯ ПРОМИСЛОВИХ ТОКСИКАНТІВ НА ОСНОВІ ПОРУШЕНЬ ПОВЕДІНКИ БІЛИХ МИШЕЙ (*MUS MUSCULUS L.*)

*У статті розглядається можливість застосування лабораторних тварин (*Mus musculus L.*) для біотестування найбільш небезпечних промислових токсикантів, вплив яких на організм ссавців у дослідженні моделюється за допомогою інгаляційного введення аміаку. Показані суттєві зміни в окремих видах поведінки білих мишей, що виникають у залежності від часу дії малих доз аміаку на їх організм.*

Вступ

Інтенсивний розвиток промисловості та використання великої кількості потенційно небезпечних хімічних речовин призвели до необхідності розробки, апробації та впровадження нових експресних методів діагностики порушень, що відбуваються з тваринами та людиною під впливом цих токсикантів (2, 6). З іншого боку виникла нагальна потреба щодо виявлення у довіллі певних токсичних речовин та з'ясування особливостей їх впливу на тваринний та людський організм (5, 10, 11). Найбільш надійним у подібних ситуаціях є метод моделювання дії токсикантів на організменому рівні (1, 8). Для екстраполяції отриманих даних на людину обов'язковим є використання в експерименті ссавців (4).

Вибір токсиканта, що застосовується у дослідженні, повинен ґрунтуватись на наступній його характеристиці:

- 1) широке застосування у промисловості, сільському господарстві, побуті або в інших галузях;
- 2) можливості надходження у довілля у великих кількостях (під час аварій, виливів чи випаровувань при транспортуванні тощо);
- 3) складності запобігання його шкідливій дії.

Одним з таких токсикантів є аміак. Він відноситься до промислових та мілітарних екологічних токсикантів (2, 4).

Матеріал і методика досліджень

Забруднення навколишнього середовища у дослідженні було змодельовано за допомогою випаровувань 10 %-го розчину аміаку. За нашими підрахунками концентрація аміаку протягом проведення експерименту у повітрі робочої зони не перевищувала $0,02 \text{ мг/м}^3$ (ГДК с.д. = 0,04; ГДК м.р. = $0,2 \text{ мг/м}^3$).

Рухову активність тварин визначали за допомогою загальноприйнятих методів з використанням лабіринту оригінальної конструкції (9, 7, 12). Якісне визначення рухової активності проводили візуально, враховуючи характер рухів миші, що проходить по лабіринту, та досліджували відхилення актів поведінки від норми. Одночасно визначали кількісні показники рухової активності, враховуючи час проходження миші по лабіринту за допомогою секундоміру (метод часових відрізків).

Дослідження проводили за наступною схемою:

1. Визначали рухову активність 5-ти білих мишей-аналогів у контролі (до введення аміаку), фіксуючи час проходження по лабіринту та характер рухів. Враховували час,

який витрачає кожна з тварин на проходження лабіринту з центру до одного з 4-х виходів. Усі дослідження проводили у трьох повторностях.

2. Досліджували зміни, що виникли у руховій активності цих самих тварин під дією аміаку. Аміак надходив у організм дослідних тварин інгаляційним шляхом. Спочатку змочували бавовняну тканину розміром 5x5 см 10 %-им розчином аміаку, який випаровувався протягом 3-х хвилин. Після цього підносили тканину і залишали її у клітці з дослідними мишами. Враховували різні терміни дії аміаку на тварин: 1, 5 та 10 хвилин.

3. Проаналізували можливість використання білих мишей для біологічного тестування аміаку, що знаходиться у повітрі робочої зони.

Результати досліджень та їх обговорення

Під впливом техногенних навантажень в екосистемах спостерігається значна різноманітність реакцій на різних рівнях організації - клітинному, тканинному, на рівні цілого організму, а також популяційному та біоценотичному. Існує думка, що екосистеми, які знаходяться під техногенним впливом, повинні оцінюватись на основі комплексних критеріїв [6, 8]. Проте комплексна оцінка шкідливості техногенного впливу іноді буває неможливою внаслідок складності визначення деяких показників, а також значних матеріальних витрат на проведення досліджень. Тому важливо, на наш погляд, знайти такі критерії оцінки екологічних токсикантів, які були б достатньо чутливими до подібного роду впливів і в той же час відносно дешевими. З цієї точки зору актуальним є вивчення особливостей поведінки тварин з метою виявлення забруднювачів у навколишньому середовищі. При цьому враховуються такі особливості, як реакція організму та деяких його складових на дію негативних зовнішніх подразників, взаємодія тварин у групах та популяціях [2, 6]. Тобто, охоплюються майже всі рівні організації, на основі яких можуть бути одержані дані про певні зміни у поведінці особин (або навіть виникненні порушень поведінки), що досить легко фіксуються за допомогою візуальних спостережень і нескладних фізіологічних та біохімічних аналізів. Залишається лише обґрунтувати, поведінку яких тварин доцільно використовувати для біотестування.

Існують дані про подібність протікання ферментативних процесів, ряду фізіологічних особливостей та реакцій вродженої поведінки у людини і ссавців. Тому використання у подібних дослідженнях лабораторних тварин, зокрема білих мишей, особливості поведінки яких вивчені досить детально, є цілком обґрунтованим.

Визначення швидкості проходження тварин по лабіринту

Результати проведених нами досліджень свідчать про те, що дослідні білі миші загалом під дією аміаку значно уповільнюють (майже на 31 %) час проходження по лабіринту (відповідно 57,17 с – до введення аміаку, 82,67 с – після його введення) порівняно з контролем. Проте введення аміаку дослідним тваринам поетапно, тобто через 1, 5 та 10 хвилин, вимагають більш детального розгляду особливості впливу цієї токсичної речовини на організм та рухову активність мишей (див. табл.).

Через 1 хвилину після введення аміаку кількісні показники рухової активності у мишей майже не змінились, хоча характер рухів уповільнився і вони стали менш чіткими. Найбільші зміни у кількісних та якісних показниках рухової активності відбулись у тварин після 5-хвилинного впливу аміаку. Через 10-хвилинний проміжок часу рухи мишей при проходженні лабіринту дещо прискорились (на 11,5 %), але характер рухів не змінився.

Характер переміщення по лабіринту. Характерною зміною у поведінці тварин були чітко виражені рухи комфортної поведінки. Після інгаляційної дії аміаку всі без виключення починали чистити шерсть та вусики. Скоріше за все це було пов'язано із бажанням тварин звільнитися від подразнень парами аміаку чутливі органи, що знаходяться в основі шерстного покриву та органи нюху на вусах.

Як відомо, реакції поведінки тварин усіх без виключення видів у більшості випадків мають адаптивний характер, тобто сприяють виживанню даної особини чи виду в цілому [9]. Вони "примушують" тварину відходити від небезпеки або "зменшують" реальну чи потенційну загрозу їх благополуччю, використовуючи будь-яку форму регуляції. В ряді випадків поведінка може бути неадаптивною по відношенню до даної особини, проте максимально підвищує шанси на виживання потомства, а відтак, і виду.

**Особливості рухової активності білих мишей (*Mus musculus* L.)
при інгаляційному введенні аміаку (А), n=15**

№ з/п	показники поведінки	До введення аміаку (контроль)	Після введення аміаку (дослід)		
			протягом:		
			1 хв	5 хв	10 хв
1	швидкість проходження лабіринту, с	57,2±6,4	51,3±8,9	104,5±22,7***	92,5±16,3***
2	характер переміщення	чіткі, впевнені рухи	зменшення чіткості та впевненості рухів	швидкі, але менш чіткі та впевнені рухи	швидкі, але менш чіткі та впевнені рухи
3	Види поведінки:				
3.1	рухова активність	прості рухи та локомоції	локомоції	локомоції	локомоції
3.2	комфортна	—	окремі рухи чистки шерсті	активна чистка шіберсті	активна чистка шерсті
3.3	дослідницька	дослідження лабіринту	дослідження джерела випаровувань (А) та лабіринту	дослідження джерела випаровувань (А)	дослідження джерела випаровувань (А) та лабіринту
3.4	адаптивна	адаптація до лабіринту	адаптація до лабіринту	адаптація до токсиканту	адаптація до токсиканту

Різниця між групами вірогідна: *** - $P \leq 0,001$

Особливості рухової активності при проходженні лабіринта. Під дією аміаку характер рухів у мишей дещо ускладнюється. Вони майже не виконують простих рухів. Локомоції (складні рухи), що є властивими для тварин при інгаляційному впливі аміаку, пов'язані з цілим рядом рухових актів. Особини проходять лабіринтом і при цьому обертаються, іноді повертаються назад, при заходженні у глухий кут досить часто залишаються в ньому. Серед локомоцій суттєве місце займає складна комфортна та адаптивна поведінка. Проте локомоції під дією аміаку здійснюються спочатку більш енергійно, а пізніше, коли вплив речовини стає сильнішим, значно уповільнюються.

Прояви комфортної поведінки під дією аміаку. Комфортна поведінка мишей виявилась переважно в їх намаганні очистити лапками шерсть та чутливі вусики від аміаку і, скоріше за все, ґрунтувалась на неприємних сенсорних відчуттях: запаху та дії аміаку на шкіру. Без впливу аміаку тварини подібної поведінки не виявляли. Характерні рухи щодо очищення шкіри та вусиків спостерігались у деяких особин і після закінчення досліджень, хоча вже не були чіткими і впевненими.

Дослідницька поведінка тварин. Дослідницька поведінка мишей під час експерименту була спрямована на незнайомий об'єкт — лабіринт та неприємний, їдкий запах. Під час досліджень лабіринту тварини особливо ретельно його обнюхували, коли проходили перший раз. При другому проходженні цікавість особин щодо лабіринту зменшувалась. Так само і реакція на запах аміаку: спочатку — обнюхування джерела випаровування аміаку, намагання уникнути неприємного запаху, а пізніше — адаптивна реакція на дію аміаку, проходження по лабіринту через тканину, змочену розчином аміаку.

Адаптивна поведінка до дії аміаку. Адаптивна реакція особин під час дослідження ґрунтувалась на швидкому звиканні до запаху аміаку та його транскутанному впливі на

організм. Якщо вперше джерело випаровувань аміаку, що знаходилось у лабіринті, було перепоною для проходження мишей в певному напрямку, то при повторному стиканні з неприємним запахом, вони проходили повз нього навіть не досліджуючи.

Визначення ступеня отруєння випаровуваннями аміаку. Під час проведення експерименту ознак, характерних для гострого отруєння аміаком у тварин не спостерігалось.

Висновки

1. Інгаляційний вплив аміаку протягом 5-ти та 10-ти хвилин змінює рухову активність білих мишей при проходженні ними лабіринту.
2. Найбільш суттєві зміни у якісних та кількісних показниках рухової активності відбуваються при 5-хвилинній тривалості дії аміаку на мишей: тварини збуджуються і в середньому виявляють досить активну рухову діяльність.
3. Більш тривалий вплив аміаку на організм білих мишей (протягом 10 хв.) викликає невелике зниження рухової активності, хоча характер рухів порівняно з 5-хвилинною дією при цьому майже не змінюється.
4. Оскільки при короткотривалій дії аміаку відбувається порушення у руховій активності білих мишей, використання часу та характеру їх проходження лабіринту, може бути застосовано для біологічного тестування аміаку та подібних до його дії промислових токсикантів у повітрі робочої зони.

Література

1. Антонов Г.И. Химико-токсикологические методы. - М.: Агропромиздат, 1989. - С. 26-35.
2. Бажора Ю.І. та ін. Біофізичний моніторинг осіб, які зазнали впливу несприятливих професійних факторів // Современные проблемы токсикологии. № 3, 2001. - С. 51-54.
3. Георгиевский В.И. Высшая нервная деятельность. Поведение. / В кн.: Физиология сельскохозяйственных животных. - М.: Агропромиздат, 1990. - С. 480-500.
4. Шумейко В.М. та ін. Екологічна токсикологія. - К.: Столиця, 1998. - С. 55-72.
5. Мітрясова О.П. Хімічні основи екології. - Київ: Ірпінь: ВТФ "Перун", 1999. - 192 с.
6. Проданчук Н.Г. и др. Принципы оценки токсикологических экспериментов на животных с учетом различной чувствительности к токсикантам взрослых и детей // Современные проблемы токсикологии, № 3, 2001. - С. 9-16.
7. Сафонов Н.А. Этология / В кн.: Практикум по физиологии сельскохозяйственных животных. / И.П.Битюков, В.Ф.Лысов, Н.А.Сафонов. - М.: Агропромиздат, 1991. - С.221-224.
8. Сытник К.М. и др. Словарь-справочник по экологии. - К.: Наукова думка, 1994. - С.584-585, 595, 606.
9. Хайнд Р. Поведение животных. - М.: Мир, 1975. - С. 720-734.
10. Хмельницкий Г.А., Локтионов В.Н., Полоз Д.Д. Ветеринарная токсикология. - М.: Агропромиздат, 1992. - С. 46-53.
11. Швайкова М.Д. Токсикологическая химия. - М.: Медицина, 1995. - С. 79-108.
12. Шмидт -Ниельсен К. Физиология животных. Т. 1-2. - М.: Мир, 1982. - С. 50-165.