

УДК 613.632+616—099

ВЛИЯНИЕ 1,4-ДИХЛОРБУТЕНА НА ГЕНЕРАТИВНУЮ ФУНКЦИЮ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

В. В. БАЛЬЯН, Ф. Р. ПЕТРОСЯН, М. С. ГИЖЛАРЯН

С помощью функциональных, морфогистохимических и морфометрических методов исследований на крысах-самцах, подвергаемых интоксикации 1,4-дихлорбутеном в течение 2,5 месяцев, установлен гонадотоксический эффект. Спариванием затравленных самцов с интактными самками выявлено воздействие вещества на репродуктивную функцию крыс.

Ключевые слова: хлорированные бутены, токсичность, действие на семенники.

При хлорировании бутадиена в производстве хлоропрена образуются хлорзамещенные бутены, к числу которых принадлежит 1,4-дихлорбутен-2 (1,4-ДХБ). В литературе имеются данные о его мутагенном и канцерогенном действиях [8, 9]. В связи с отсутствием данных о влиянии 1,4-ДХБ на генеративную функцию мы исследовали воздействие его на гонады животных.

Материал и методика. Опыты проводили на половозрелых крысах-самцах массой 180—210 г, которых подвергали ингаляционной и внутрижелудочной интоксикации 1,4-ДХБ в течение 2,5 месяцев, исходя из продолжительности цикла сперматогенеза. Ингаляцию 1,4-ДХБ проводили в двух сериях опытов— $8,3 \pm 0,5$ (I) и $1,8 \pm 0,4$ мг/м³ (II), а пероральное введение—в трех сериях—0,1 (I); 0,01 (II); 0,001 мг/кг (III). Во всех сериях, а также в контроле, использовали по 12 животных. Известно, что по функциональному состоянию сперматозондов невозможно окончательно судить о способности к оплодотворению и определить полноценность потомства [4], поэтому после окончания затравки самцов спаривали с интактными самками в фазах предтечки или течки. Вскрывали их на 21-й день беременности, регистрировали число желтых тел беременности, а также рассчитывали показатели общей эмбриональной, пред- и постимплантационной смертности по соответствующим формулам [3]. Определяли процент эффективных скрещиваний, характеризующих плодовитость животных. При вскрытии самцов оценивали функциональное состояние сперматозондов по длительности сохранения их подвижности, осмотической резистентности, количеству в придатке семенника, проценту нежизнеспособных. Состояние сперматогенного эпителия семенников оценивали по количественным морфологическим показателям: индексу сперматогенеза, количеству канальцев со слущенным эпителием, среднему количеству нормальных сперматогоний, числу канальцев с 12-й стадией мейоза. Для этого полученные из семенников гистосрезы окрашивали гематоксалин-эозином, по методу Браше на РНК, ШИК-реакцией на гликоген [2]. Опыты проводили в соответствии с требованиями методических указаний по установлению порогов действия промышленных ядов на генеративную функцию [5].

Результаты и обсуждение. При спаривании затравленных самцов с интактными самками наблюдалось значительное нарушение способности животных к воспроизведению потомства, что выражалось в уменьшении процента эффективных скрещиваний. В первых сериях опытов наблюдалось некоторое увеличение постимплантационной смертности, но общая эмбриональная смертность была выше в основном за счет ги-

бели плодов до имплантации. Масса и краниокаудальный размер плодов самок в первых сериях опытов достоверно превышали контрольные показатели, что, на наш взгляд, объясняется значительно меньшим количеством плодов на одну самку.

Нарушение репродуктивной функции у животных в первых двух сериях опытов коррелирует с изменениями морфофункциональных показателей сперматозоидов. Как видно из таблицы, у животных, подвергнутых ингаляционной заправке 1,4-ДХБ, выраженных нарушений функциональных показателей сперматозоидов не отмечается. При внутрижелудочном введении его имело место достоверное изменение массового коэффициента семенника, процента мертвых сперматозоидов и количества сперматозоидов в I и II сериях опыта. Часто обнаруживались сперматозоиды патологической формы — с приращением хвоста к головке.

Исследование количественных показателей зародышевого эпителия семенников, особенно среднего числа нормальных сперматогоний и количества канальцев со слущенным эпителием, является простым, объективным и чувствительным методом [6]. В наших опытах морфометрическое исследование семенников при обоих путях поступления 1,4-ДХБ в организм выявило более выраженные нарушения зародышевого эпителия, чем изучение функциональных показателей сперматозоидов. Так, при ингаляции 1,4-ДХБ установлено достоверное изменение индекса сперматогенеза, числа канальцев с 12-й стадией мейоза и количества сперматогоний. При внутрижелудочном введении его в дозе 0,1 мг/кг изменялись индекс сперматогенеза, число канальцев со слущенным эпителием и с 12-й стадией мейоза, а во второй серии — число канальцев со слущенным эпителием и с 12-й стадией мейоза. В третьей серии опытов достоверных изменений в количественных показателях не отмечено. На основании полученных количественных показателей можно судить о нарушении сперматогенеза, а следовательно, и о гонадотоксическом действии 1,4-ДХБ при обоих путях поступления.

Прямым доказательством сказанного являются результаты гистологического и гистохимического изучения препаратов семенников. У животных первых серий опытов в семенниках были выявлены деструктивные изменения эпителиальных клеток, межуточной ткани, сосудистой системы и оболочек органа. Клетки сперматогенного эпителия находились в состоянии тяжелой дистрофии, некробиоза и некроза. В результате гибели и слущивания эпителия в семенных канальцах образовались пустоты, «окна». Нередко в канальцах обнаруживались многоядерные «гигантские» клетки, свидетельствующие о нарушениях в делении сперматогенного эпителия. Межканальцевые перегородки и оболочки органа резко утолщались, в основном за счет пролиферации и инфильтрации интерстициальных, лимфоидных и гистиоцитарных клеток. Отмечалось также утолщение стенок кровеносных сосудов, гомогенизация с выраженной ШИК-положительной реакцией, пролиферация эндотелия сосудов.

В настоящее время доказано существование гематотестикулярного барьера, состоящего из стенок кровеносных сосудов, оболочек семенных канальцев и специализированных соединений между клетками Сер-

Таблица

Функциональное состояние сперматозоидов и морфологические показатели семенников крыс,
затравляемых 1,4-дихлорбутеном в течение 2,5 месяцев

Показатели	Ингаляционная заправка, мг/м ³			Внутрижелудочное введение, мг/кг			
	Контроль n=12	8,3±0,5 n=10	1,8±0,4 n=11	Контроль n=12	0,1 n=11	0,01 n=12	0,001 n=12
Массовый коэффициент семенников	9,7±0,1	9,6±0,5	9,9±0,3	7,2±0,3	8,4±0,4*	6,6±0,6	8,7±0,6*
Процент мертвых сперматозоидов	29,9±5,6	30,8±3,2	27,4±4,7	27,0±3,5	37,3±4,2*	50,0±3,6*	26,2±3,0
Длительность движения сперматозоидов, мин	365±26	405±29	367±25	428±19	415±21	401±52	430±21
Количество сперматозоидов, млн	61,3±12	50,8±9,0	66,2±8,9	47,1±6,7	22,0±4,3*	19,7±7,5*	37,7±6,0
Осмотическая резистентность	3,67±0,09	3,87±0,1	3,83±0,1	4,25±0,2	3,71±0,2	3,70±0,4	4,17±0,2
Индекс сперматогенеза	3,66±0,04	3,21±0,2*	2,92±0,2*	3,78±0,02	3,57±0,1*	3,64±0,1	3,73±0,07
Среднее число сперматогоний	26,2±0,19	21,6±0,7*	19,2±1,04*	26,5±0,19	25,7±0,3	25,8±0,2	26,4±0,11
Число канальцев со слущенным эпителием	2,2±0,5	4,0±1,3	5,6±2,1	2,3±0,5	4,16±0,4*	3,66±0,3*	3,06±0,3
Число канальцев с 12-й стадией мейоза	2,15±0,3	3,5±0,3*	4,0±0,6*	1,66±0,1	2,53±0,1*	2,83±0,3*	2,16±0,3

Примечание: * — $P < 0,05$.

толи. Этот барьер ограничивает проникновение многих чужеродных соединений в мужские половые клетки. Но вещества, хорошо растворимые в липидах (в том числе и 1,4-ДХБ), легко проникают через гематогенно-стигулярный барьер [1].

Состояние нуклеинового и белкового обмена в семенниках служит объективным и чувствительным показателем при тестировании гонадотоксического действия химических веществ и разработке предельно допустимой концентрации (ПДК) [6]. Изменение морфологических показателей сперматогенеза обычно сопровождается снижением содержания РНК в клетках зародышевого эпителия, особенно в сперматогониях и сперматоцитах [7]. При постановке реакции по Браше у затравленных 1,4-ДХБ животных также выявлено значительное снижение содержания РНК и ДНК во всех генерациях сперматогенного эпителия (сперматогониях, сперматоцитах I и II порядка, сперматиде и сперматозоидах).

Таким образом, 1,4-ДХБ в указанных дозах и концентрациях, за исключением 0,001 мг/кг, оказывает токсическое влияние на генеративную функцию животных, нарушая процессы развития сперматозоидов. Наблюдается зависимость степени выраженности токсического эффекта от концентрации вещества.

Научно-производственное объединение «Наирит»

Поступило 13.XII 1982 г.

1, 4-ԴԻՔԼՈՐԻՆԲՆԵՆԻ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ՓՈՐՁՆԱԿԱՆ ԿԵՆՏԱՆՆԵՐԻ ԳՆՆԵՐԱՏԻՎ ՖՈՒՆԿՑԻԱՅԻ ՎՐԱ

Վ. Վ. ԲԱԼԻԱՆ , Ֆ. Ռ. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ, Մ. Ս. ԴԻՔԼԱՐՅԱՆ

Արու անենտների 1,4-դիքլորբուտենով 2,5 ամիս տևողությամբ թունավորումից հետո հայտնաբերվել է գոնադոտոքսիկ ազդեցություն:

Թունավորված արու անենտների և ինտակտ էգերի ղուգավորմամբ ի հայտ է բերվել 1,4-դիքլորբուտենի ազդեցությունը անենտների ռեպրոդուկտիվ ֆունկցիայի վրա:

THE INFLUENCE OF 1,4-DICHLORINEBUTENE ON GENERATIVE FUNCTION OF EXPERIMENTAL ANIMALS

V. V. BALIAN , F. R. PETROSSIAN, M. S. GIJHLARIAN

The study of male rats, intoxicated by dichlorinebutene in course of 2,5 months, with the help of functional, morphohistochemical and morphometrical methods has determined the gonadotoxic effect. The pairing of intoxicated male rats with intact females has shown that dichlorinebutene affects the reproductive function of rats.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Кудрин Н. Н. Скакун Н. П. Новое в жизни, науке, технике. Сер. Медицина, 1, 1982.

2. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М., 1969.
3. Малащенко А. М., Егоров И. К. Генетика, 3, 59, 1967.
4. Саноцкий И. В., Авхименко М. М., Иванов В. Н. Токсикология новых промышленных химических веществ. 9, 71, Л., 1967.
5. Саноцкий И. В., Фоменко В. Н. и др. Методы экспериментального исследования по установлению порогов действия промышленных ядов на генеративную функцию. М., 1977.
6. Саноцкий И. В., Фоменко В. П. Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм. М., 1979.
7. Чиркова Е. М. Автореф. канд. дисс., М., 1970.
8. Bartisch H. et al. Arch. Toxicol., 41, 249, 277, 1979.
9. Benjamin L. Cancer Research, 35, 2533, 1975.

«Биолог. ж. Армении». г. XXXVI, № 8, 1983

УДК 577.15.591.8

АКТИВНОСТЬ АСПАРАГИНАЗЫ ДРОЖЖЕЙ CANDIDA GUILLIERMONDII ВКМ-V-42 ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ИХ ХРАНЕНИЯ

К. Р. СТЕПАНЯН, М. А. ДАВТЯН

В зависимости от значения pH среды хранения дрожжей *Candida guilliermondii* ВКМ-V-42 аэрация по-разному влияет на активность аспарагиназы. При низких значениях pH буфера (pH 3,0) она способствует сохранению активности фермента, при средних (pH 6,4) снижает ее, а при высоких существенного влияния на этот показатель не оказывает.

Под влиянием низкой pH внешней среды (pH 3,0) медленно (в течение 24 ч) понижается внутриклеточный pH, что, вероятно, и является причиной потери активности фермента.

Ключевые слова: дрожжи, аэрация, аспарагиназа.

Биологическая роль аспарагиназы, особенно у микроорганизмов, не выяснена. Можно только предполагать, что фермент способствует усвоению аспарагина и регулирует уровень аспарагина, аспартата и аммиака в клетке. Для выяснения роли ферментов в организме, в том числе и аспарагиназы, ценную информацию может дать исследование их активности при разных физиологических состояниях клетки (при варьировании источников азота и углерода, физико-химических параметров среды и т. д.).

Изучение влияния различных физико-химических факторов на активность фермента имеет большое прикладное значение с точки зрения разработки способов хранения и обеспечения максимального выхода ферментных препаратов при их получении, особенно в промышленных масштабах. В этом аспекте представляет определенный интерес изучение активности аспарагиназы при длительном хранении дрожжей в буфере с различными значениями pH.