

УДК 618.3:613.63

В. В. БАЛЬЯН, А. С. КАЗАРЯН, М. С. ГИЖЛАРЯН

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОРОГА ЭМБРИОТОКСИЧЕСКОГО И
ГОНАДОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ 1,1,2-ТРИХЛОРБУТА-
ДИЕНА-1,3 И 1,1,2,3-ТЕТРАХЛОРБУТАДИЕНА-1,3 У КРЫС

Установлены пороговые концентрации по специфическому действию для 1,1,2-трихлорбутадиена-1,3 (ТХБД) и 1,1,2,3-тетрахлорбутадиена-1,3 (ТеХБД). Показано, что эти вещества при ингаляционном введении самкам крыс в течение всего периода беременности в концентрации 14,02 для ТХБД и 9,9 мг/м³ для ТеХБД вызывают нарушения в эмбриональном развитии, увеличивая процент гибели зародышей после имплантации. Полученные данные свидетельствуют о слабом действии этих веществ на функциональное состояние сперматозоидов и семяродный эпителий.

Данные клинических и экспериментальных исследований о неблагоприятном течении беременности и серьезных нарушениях развития новорожденных, матери которых во время беременности подвергались воздействию химических веществ, выдвинули перед профилактической медициной, в частности перед фармакологией и токсикологией, необходимость оценки эмбриотоксического действия различных химических препаратов в эксперименте. В литературе накопился большой фактический материал об эмбриотоксическом, гонадотоксическом и тератогенном действии хлорорганических соединений, в частности хлоропрена—одного из представителей хлорзамещенных бутадиенов [2, 8, 9, 10].

Трихлорбутадиен (ТХБД) является основным мономером, а тетрахлорбутадиен (ТеХБД)—побочным продуктом в производстве политрихлорбутадиена. Настоящая работа предпринята в связи с реальной возможностью загрязнения парами этих веществ воздуха рабочих помещений, а также исходя из эмбриотоксического и гонадотоксического действия родственного им соединения—хлоропрена. Цель эксперимента—выявление возможности влияния ТХБД и ТеХБД на течение беременности, развитие плода и функцию семенников. В доступной литературе мы не обнаружили работ, посвященных этим вопросам. Ранее проведенными исследованиями установлена довольно выраженная токсичность ТХБД и ТеХБД как при ингаляционном, так и при внутрижелудочном путях введения [5].

Материал и методика

Для экспериментального исследования были использованы беспородные белые крысы: 42 самки для эмбриотоксического и 24 поло-

возрелых самца для гонадотоксического действия. Ингаляция проводилась в затравочных камерах при 4-часовой экспозиции и динамическом режиме подачи веществ. Фактические концентрации, контролируемые хроматографически, составляли $14,02 \pm 0,12$ для ТХБД и $9,9 \pm 0,13$ мг/м³ для ТеХБД, то есть концентрация ТеХБД находилась на уровне порога хронического действия по общетоксическим показателям, а концентрация ТХБД была в три раза меньше. Во второй серии опытов затравлялись самки ТеХБД концентрацией на порядок ниже— $1,09 \pm 0,02$ мг/м³. Самки подвергались воздействию веществ с 1 по 19-й день беременности. Затравку крыс-самцов осуществляли в течение 2,5 месяцев, исходя из длительности сперматогенеза у крыс и времени, необходимого для прохождения сперматозоидов через придаток семенника. Указанный срок позволял оценить функциональное состояние сперматозоидов, которые на всем протяжении своего развития подвергались воздействию веществ. Самок вскрывали на 20-й день беременности, учитывали эмбриональную смертность [7], средний помет на одну самку, средний вес и размер плодов, вес и диаметр плацент. Для определения ориентации и патологии внутренних органов плодов использовался микроанатомический метод Вильсона [14] в модификации А. П. Дыбана. Самцов забивали непосредственно после затравочного периода. Показателями гонадотоксического действия являлись морфологическое состояние семенников (количество канальцев со слущенным семяродным эпителием, количество канальцев с 12-й стадией мейоза, количество сперматогоний, индекс сперматогенеза) и функциональное состояние сперматозоидов (длительность движения, жизнеспособность, осмотическая резистентность, количество сперматозоидов, количество патологических форм). Изучение эмбриотоксического и гонадотоксического действия ТХБД и ТеХБД проводили согласно методическим указаниям, рекомендованным для экспериментального исследования по установлению порогов действия промышленных ядов на генеративную функцию [11]. Данные исследования подвергались статистической обработке методом малых выборок различий по тесту t Стьюдента—Фишера. За критерий достоверности принималось значение $p < 0,05$. Каждая статистическая группа состояла из 8—15 животных.

Результаты исследований

При исследовании эмбрионального материала, полученного от самок крыс, подвергавшихся воздействию ТХБД и ТеХБД в заданных концентрациях в течение всего периода беременности, было зарегистрировано изменение отдельных показателей. Условия эксперимента и результаты подсчета представлены в табл. 1. Наиболее чувствительным показателем оказалась выживаемость эмбрионов. Из приведенных в табл. 1 данных видно, что под влиянием обоих веществ наблюдалось увеличение эмбриональной смертности. Установлен большой процент гибели

Таблица 1

Результаты вскрытия самок, спаренных с интактными самцами

Вещество	Концентрация, мг/м ³	Количество беременных самок	Количество желтых тел беременности	Количество плодов на самку	Эмбриональная смертность, %			Вес, г	Размер, см
					до имплантации	после имплантации	общая		
ТХБД	14,9±0,12	9	10,3±0,7	8,6±1,1	16,3±1,1*	6,4±2,5	21,5±4,3	2,3±0,05*	2,98±0,03
ТеХБД	9,9±0,13	8	10,7±0,9	5,6±1,1*	24,7±4,76*	33,3±7,6*	47,1±5,3*	2,2±0,03	3,04±0,02*
ТеХБД	1,1±0,02	10	9,9±0,5	8,1±0,5	11,5±3,1	7,9±3,9	18,2±3,9	2,2±0,03	2,96±0,03
Контроль	—	15	9,7±0,4	8,6±0,3	5,5±1,9	5,8±1,9	11,0±2,6	2,1±0,02	2,98±0,02

*—достоверное изменение.

зародышей на разных стадиях развития. Ввиду того, что число желтых тел достаточно точно отражает число овулировавших яйцеклеток и что у мышей и крыс практически все овулировавшие яйцеклетки оплодотворяются, нужно признать, что в наших опытах наблюдались существенные потери оплодотворенных яйцеклеток, чем и обусловлено увеличение доимплантационной смертности в обеих группах. У самок, затравленных ТеХБД, увеличена смертность и после имплантации: в рогах матки были обнаружены резорбции различной величины (2—8 мм), то есть гибель происходила как в раннюю, так и в позднюю стадии эмбрионального развития. Высокая смертность явилась причиной уменьшения численности плодов на одну самку.

Таблица 2

Функциональное состояние сперматозоидов и морфологические показатели состояния семяродного эпителия у крыс после воздействия ТХБД и ТеХБД в течение 2,5 месяцев

Показатели	Концентрация веществ, мг/м ³		Контроль
	ТХБД, 14,02±0,12	ТеХБД, 9,9±0,13	
Весовой коэффициент семенников	10,5±0,42	9,9 ±0,27	10,2 ±0,41
Жизнеспособность сперматозоидов	15,4±2,6	21,3 ±1,56*	13,9 ±1,27
Длительность движения сперматозоидов, мин	257,1 ±27,6	255,0 ±23,9	286,9 ±28,8
Количество патологических форм	2,1 ±0,21	2,1 ±0,26	2,0 ±0,38
Количество сперматозоидов, млн	34,6 ±5,6	52,0 ±3,14	45,0 ±7,6
Осмотическая резистентность	4,05±0,19	4,16±0,18	4,10±0,29
Индекс сперматогенеза	3,52±0,05	3,48±0,04	3,50±0,02
Среднее количество сперматогоний	23,3 ±0,72	25,0 ±0,57	24,4 ±0,63
Случивание зародышевого эпителия	6,5 ±1,28	6,2 ±0,67	4,7 ±0,69
Количество канальцев с 12-й стадией мейоза	4,0 ±0,68	3,6 ±0,57	2,4 ±0,74

*—достоверное изменение.

На фоне повышенной эмбриональной смертности наблюдалось увеличение среднего веса плодов, веса и диаметра плацент. При наружном осмотре плодов внешних аномалий не обнаружено. Исследование поперечных и сагитальных срезов также не выявило отклонений в их внутренних органах, за исключением единичных случаев кровоизлияния и отека.

Результаты второй серии опытов показали, что ТеХБД в концентрации $1,09 \pm 0,02$ мг/м³ не оказывал существенного влияния на эмбриональное развитие.

Из табл. 2, в которой представлены результаты исследования гонадотоксического действия, следует, что, кроме достоверного увеличения нежизнеспособных сперматозоидов, у животных, подвергавшихся ингаляции ТеХБД, других изменений в определяемых показателях не наблюдалось. Исследование мазков сперматозоидов, окрашенных метиленовой синью, выявило отдельные случаи появления клеток измененной формы. При исследовании морфологических показателей се-

менников наблюдались единичные случаи опустошения и спадения семенных канальцев, что и привело к увеличению количества канальцев со слущенным семяродным эпителием у подопытных животных. Как видно из таблицы, эти изменения находились в пределах колебаний контрольной группы.

Изложенные выше факты свидетельствуют о том, что если ТеХБД в указанных условиях опыта оказывает довольно выраженное эмбриотоксическое действие, значительно увеличивая гибель до и после имплантации, то ТХБД, кроме увеличения доимплантационной гибели, существенных изменений не вызывал. Следовательно, концентрацию 14,02 мг/м³ для ТХБД можно считать пороговой по специфическому действию, 9,9 мг/м³ для ТеХБД—действующей, а 1,09 мг/м³—недействующей.

Обсуждение результатов

Результаты проведенного исследования показали, что ингаляционное поступление данных веществ в течение всего периода беременности сопровождается, в основном, эмбриотоксическим действием, не вызывая аномалий развития плода.

При анализе общей эмбриональной смертности видно, что в ее увеличении большой процент занимает гибель зародышей до имплантации. Следовательно, вредное действие ТХБД и ТеХБД проявлялось еще на стадии оплодотворения яйцеклетки, видимо, оказывая воздействие как непосредственно на зиготу, так и на процессы, ответственные за создание связи между материнским организмом и зиготой (нидация, децидуализация). Известно, что в этих процессах важную роль играют половые гормоны [13]. Исследуемые вещества, будучи жирорастворимыми, не имеют никаких барьеров в организме и могут отрицательно влиять как на процессы продукции этих гормонов, так и на реализацию их функций. Л. Н. Демкиев [3] указывал на нарушение процесса имплантации при снижении уровня овариальных гормонов. Логично предположить, что ТХБД и ТеХБД влияют на гормональную функцию яичника и плаценты, которая в поздние стадии беременности утрачивает зависимость от материнских гормонов и превращается в самодифференцирующуюся эндокринную структуру [12]. Основная часть имплантировавшихся зародышей развивалась нормально.

Вес эмбрионов и плацент затравленных животных был выше, чем у контрольных, что, на наш взгляд, может быть связано с уменьшением количества плодов на одну самку в результате повышения эмбриональной смертности в подопытных группах. Не исключается возможность нарушения гормональной регуляции процессов роста плода. Аналогичное явление наблюдали и другие исследователи [1, 4, 6].

Таким образом, порог специфического действия для ТХБД оказался на уровне 14,02, для ТеХБД—около 5,5 мг/м³ (среднее между действующей и недействующей концентрациями).

Приведенные данные позволяют заключить, что исследуемые вещества обладают специфическим эмбриотоксическим действием, поскольку порог по этому показателю в 2—3 раза ниже порога общетоксического действия. Гонадотоксическое действие ТХБД и ТеХБД по данным наших опытов выражено слабо.

ВНИИПолимер НПО
«Наирит»

Поступила 8/VIII 1978 г.

Վ. Վ. ԲԱԼԻԱՆ, Ա. Ա. ԴԱԶԱՐԻԱՆ, Մ. Ս. ԳԻԶԼԱՐԻԱՆ

1, 1, 2 — ՏՐԻԿԼՈՐԲՈՒԹԱԴԻԵՆ — 1, 3 (ՏՔԲԹ) եվ
1, 1, 2, 3 — ՏԵՏՐԱԿԼՈՐԲՈՒԹԱԴԻԵՆ — 1, 3 (ՏԵՔԲԹ)
ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՐԱԿԱՆ ՍԵՌԱԿԱՆ ԲՋԻՋՆԵՐԻ
ԵՎ ՍԱԳՄԻ ԶԱՐԳԱՑՄԱՆ ՎՐԱ

Ուսումնասիրվել է ՏՔԲԹ և ՏԵՔԲԹ ազդեցությունը արական սեռական բջիջների և սաղմի զարգացման վրա շնչական ճանապարհով սպիտակ առնետների օրգանիզմ ներթափանցելու ժամանակ:

Պարզվել է, որ ՏՔԲԹ և ՏԵՔԲԹ վերը նշված պայմաններում թողնում են արտահայտված ազդեցություն սաղմի զարգացման վրա և ավելի թույլ արտահայտված՝ արական սեռական բջիջների վրա:

Յուրահատուկ ազդեցության շեմքը ՏՔԲԹ համար գտնվում է $14,02 \text{ մգ/մ}^3$, իսկ ՏԵՔԲԹ համար 5, 5 մգ/մ^3 մակարդակին:

V. V. BALIAN, A. A. GHAZARIAN, M. S. GIZHLARIAN

DETERMINATION OF THE THRESHOLD OF THE EMBRYOTOXIC AND GONADOTOXIC EFFECT OF 1, 1, 2-TRICHLORBUTADIEN-1, 3 AND 1, 2, 3-TETRACHLORBUTADIEN-1, 3 IN RATS

The authors have determined the threshold concentrations of the specific effect of 1, 1, 2-trichlorobutadien-1, 3 and 1, 1, 2, 3-tetrachlorobutadien-1, 3. It is shown, that in inhalative introduction of these substances in concentration $14,02 \text{ mg/m}^3$ for TCBD and $9,9 \text{ mg/m}^3$ for TECBD in females during the period of pregnancy brings to disturbances of embrional development, increasing the percentage of the destruction of the germ after implantation. The data obtained testify to the low effect of these substances on the functional state of spermatozoa and spermatogenic epithelium.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Возовая М. А. Гигиена и санитария, 1974, 7, стр. 25.
2. Давтян Р. М. В кн.: Токсикология и гигиена продуктов нефтехимии и нефтехимических производств. Ярославль, 1972, стр. 95.

3. Демкиев Л. П., Шевчук Е. Е. Вопросы эндокринологии и обмена веществ. Киев, 1970, вып. 1, стр. 111.
4. Динерман А. А., Лаврентьева Н. А., Ильинская Н. А. Гигиена и санитария, 1970, 2, стр. 39.
5. Казарян А. С., Гижларян М. С., Азнаурян А. С. Ж. экспер. и клинич. мед. АН Арм. ССР, 1975, 6, стр. 25.
6. Константинова Т. К. Гигиена труда и профессиональные заболевания, 1976, 8, стр. 15.
7. Малащенко А. М., Егоров И. К. Генетика, 1967, 3, стр. 59.
8. Мелик-Алавердян Н. О. Генеративная функция яичников и эстральный цикл у крыс при хронической хлоропреновой интоксикации. Ереван, 1967.
9. Сальникова Л. С., Фоменко В. Н. Гигиена труда и профессиональные заболевания, 1975, 7, стр. 30.
10. Сальникова Л. С., Фоменко В. Н. Гигиена труда и профессиональные заболевания, 1973, 8, стр. 23.
11. Саноцкий И. В., Сальникова Л. С., Фоменко В. Н., Чиркова Е. М., Пашкова Г. А. Методы экспериментального исследования по установлению порогов действия промышленных ядов на генеративную функцию. М., 1969.
12. Bodemer C. W. Modern Embryology. Washington, 1971, 380.
13. Shelesnjak M. В кн.: Факторы, воздействующие на плодовитость. Л., 1970, 263.
14. Wilson G. J. In Teratology Principles and Techniques. Chicago, 1965, 262.