

Е.А. Капустина, Д.В. Русанова

ИНГАЛЯЦИОННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ВИНИЛХЛОРИДА НА НЕРВНУЮ СИСТЕМУ БЕЛЫХ КРЫС-САМЦОВ И ИХ ПОТОМСТВО

Ангарский филиал – НИИ медицины труда и экологии человека ГУ НЦМЭ ВСНЦ СО РАМН (Ангарск)

В статье представлены результаты исследования нервной системы белых крыс-самцов, получавших ингаляционное воздействие винилхлорида (ВХ), и их потомства. Животных обследовали с помощью теста «Открытое поле». Для оценки периферической нервной системы применяли ЭНМГ. В ходе исследования выявлены изменения поведения животных и электронейромиографических показателей.

Ключевые слова: винилхлорид, белые крысы, потомство, нервная система

INHALATIVE EXPOSURE TO VINYL CHLORIDE ON THE NERVOUS SYSTEM OF ALBINO RATS-MALES AND THEIR DESCENDANTS

E.A. Kapustina, D.V. Russanova

Institute of Occupational Health and Human Ecology, Scientific Center of Medical Ecology, East-Siberian Scientific Center, Siberian Division of the RAMS, Angarsk

The study results of the nervous system of the albino rat-males exposed to the inhalation of vinyl chloride and their descendants are presented in this paper. The animals were examined using the «Open field» test. The electroneuromyography was used to evaluate the peripheral nervous system state. The alteration in the animals' behaviour and the electroneuromyographic indices have been revealed during the study process.

Key words: vinyl chloride, albino rats, descendants, nervous system

Сегодня перед здравоохранением России стоят чрезвычайно важные задачи по профилактике и лечению заболеваний химической этиологии [7]. Одним из распространенных химических веществ, используемых в промышленности, является винилхлорид. Известно, что этот газ обладает нейротропными свойствами, воздействуя как на центральную, так и на периферическую нервную систему [14, 15]. Поражения нервной ткани, возникающие при воздействии ВХ, выявляются как при контакте с веществом, так и в отдаленные сроки после окончания его воздействия [1, 9], кроме того, ВХ является канцерогеном [12]. В настоящее время показано, что не менее 80 % химических канцерогенов вызывают генные мутации и хромосомные aberrации [2]. В связи с этим возникает вопрос о возможности влияния ВХ на функцию гонад. Исследованиями И.В. Саноцкого с соавт. (1980) были выявлены нарушения репродуктивной функции у рабочих, контактирующих с ВХ. Изменения характеризовались увеличением числа мертворождений у жен этих рабочих, снижением удельного веса подвижных сперматозоидов и их концентрации [8]. Следствием влияния ВХ на гонады может явиться развитие патологических отклонений, в том числе и со стороны ЦНС, у детей, родители которых подвергались воздействию винилхлорида. Риск возникновения отдаленных эффектов чаще всего изучался при воздействии токсикантов на матерей. Вместе с тем анализ литературных данных указывает и на возможность возникновения нарушений в первом поколении детей, отцы у которых контактировали с химическими веществами, однако данная пробле-

ма изучена недостаточно [11]. В настоящее время в литературе не встречаются данные, описывающие состояние нервной системы у детей, рожденных от отцов, работавших в контакте с ВХ.

Исходя из вышеизложенного, целью нашей работы была оценка состояния нервной системы у крыс-самцов в отдаленном периоде винилхлоридной интоксикации, а также у их потомства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Беспородные крысы-самцы подвергались ингаляционному воздействию ВХ в 200 литровых газовых камерах на протяжении двух месяцев по четыре часа ежедневно, исключая выходные. Средняя концентрация ВХ в камерах составляла 1200 мг/м³. Контрольная группа животных в том же режиме воздействия помещалась в затравочные камеры, не содержащие изучаемого токсиканта. Крыс исследовали через 9 недель (т.е. в отдаленном периоде) после окончания воздействия ВХ.

Потомство было получено при спаривании опытных и контрольных самцов, через 3 месяца после окончания воздействия ВХ, с интактными самками. Крысята обследовались в возрасте 3 месяцев с учетом пола.

Для оценки функции ЦНС применялся тест «Открытое поле», характеризующий ориентировочно-исследовательскую деятельность и двигательную активность [3]. Для изучения функционального состояния периферических нервов проводилась стимуляционная ЭНМГ с использованием игольчатых электродов. Исследование проводилось на электронейромиографе «Нейро-ЭМГ-Микро» производства фирмы «Нейрософт»

(г. Иваново). Анализировались следующие ЭНМГ-показатели: амплитуда мышечного ответа (М-ответа), латентный период (латентность), длительность М-ответа, площадь вовлечения [6].

Исследования проводились в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к Приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 г. № 755).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась общепринятыми параметрическими и непараметрическими методами с использованием программы «Статистика».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении целостного поведения белых крыс через 9 недель после окончания воздействия ВХ выявлялись изменения в структуре поведения (табл. 1). У животных опытной группы, по сравнению с показателями контрольной, выявлено достоверное увеличение количества актов «локомоция», «стойка», тенденция к возрастанию суммарного числа всех двигательных актов, норки и обнюхиваний. Увеличение в поведении животных данных актов свидетельствовало о повышенной ориентировочно-исследовательской активности. Неспецифическая активация поведения характеризовалась уменьшением количества актов «сидит». Достоверно меньшая длительность акта «локомоция» у животных опытной группы связана с большим ее количеством, превышающим аналогичный показатель в контрольной группе в 1,9 раза.

В общей структуре поведения у животных опытной группы просматривались негативно-эмоциональные компоненты в виде переходов: «локомоция – стойка», «стойка – обнюхивание» [5].

Таким образом, поведение белых крыс в отдаленном периоде винилхлоридной нейроинтоксикации характеризовалось следующими проявлениями: увеличением общей двигательной активности, повышенной ориентировочно-исследовательской деятельности и негативно-эмоционального состояния.

Показатели ЭНМГ исследования крыс опытной группы свидетельствовали о наличии нарушений в ответной реакции периферических нервов и мышц при раздражении их электрическим током. Достоверно меньшая амплитуда М-ответа у белых крыс с интоксикацией ВХ ($2,29 \pm 0,4$ мВ; контроль – $4,86 \pm 0,7$ мВ; $p < 0,05$) показала, что количество вовлеченных в ответ на электрические стимулы функциональных двигательных единиц у этих животных было меньше, чем у контрольных, что подтверждалось достоверно меньшей площадью вовлечения ответа у опытных крыс ($2,72 \pm 0,5$ мВЧмс; контроль – $5,83 \pm 0,8$ мВЧмс; $p < 0,05$). Тенденция к увеличению латентности ($1,5 \pm 0,1$ мс – контроль, $1,83 \pm 0,2$ мс – опыт; $p < 0,05$) и длительности ($2,66 \pm 0,5$ мс – контроль, $3,01 \pm 0,3$ мс – опыт; $p < 0,05$) М-ответа выявляла более длительное время проведения импульса по нервным волокнам при воздействии ВХ.

Обследование с использованием теста «Открытое поле» половозрелого потомства крыс-самцов, получавших ингаляции ВХ, показало, что поведение этих животных отличалось от особой контрольной группы (табл. 2, 3).

Крысята-самцы опытной группы осуществляли достоверно меньшее количество всех актов, меньшее количество актов «локомоция», «обнюхивание», «движение на месте», «норка». Длительность актов «локомоция», «норка» была достоверно большей. Просматривалась тенденция к уменьшению количества груминга и стоек с упором, а также длительности этих актов и вертикальных стоек. Акты «локомоция», «обнюхивание», «движение на месте», «норка» характеризовали ориентировочно-исследовательскую активность животных, уменьшение их количества свидетельствовало о нарушении этого вида деятельности, снижении активности, что также подтверждалось меньшим количеством всех актов. Увеличение длительности актов «локомоция» и «норки» у потомства крыс, подвергавшихся воздействию винилхлорида, в этом случае может свидетельствовать о нарушении структуры ориен-

Таблица 1
Количество и длительность отдельных поведенческих актов в открытом поле крыс-самцов

Акты	Количество		Длительность (с)	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Локомоции	$4,5 \pm 0,9$	$8,6 \pm 1,7^*$	$3,2 \pm 0,5$	$2,1 \pm 0,1^*$
Обнюхивания	$14,7 \pm 1,8$	$21,1 \pm 3,2$	$4,2 \pm 0,4$	$3,5 \pm 0,4$
Движение на месте	$6,6 \pm 1,0$	$8,9 \pm 1,2$	$1,7 \pm 0,1$	$1,6 \pm 0,05$
Груминг	$0,9 \pm 0,03$	$0,9 \pm 0,1$	$6,3 \pm 1,1$	$3,6 \pm 1,5$
Стойка	$2,0 \pm 0,4$	$7,1 \pm 1,7^*$	$1,7 \pm 0,2$	$3,2 \pm 0,8$
Норка	$2,0 \pm 0,2$	$3,4 \pm 0,7$	$1,2 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,6$
Сидит	$4,6 \pm 0,5$	$3,2 \pm 0,4^*$	$15,1 \pm 2,6$	$13 \pm 4,2$
Суммарное количество актов	$37,3 \pm 4,4$	$52,2 \pm 7,6$	–	–

Примечание: * – статистически значимые различия показателей между опытной группой и контролем, $p < 0,05$.

Таблица 2
Количество и длительность отдельных поведенческих актов в открытом поле крысят-самцов

Акты	Количество		Длительность (с)	
	контроль	опыт	контроль	опыт
локомоция	12,6 ± 0,9	7,4 ± 0,8*	5,5 ± 0,2	7,6 ± 0,6*
обнюхивание	25,7 ± 1,4	19,3 ± 1,4*	2,6 ± 0,05	2,6 ± 0,06
движения на месте	10,9 ± 0,6	6,7 ± 0,4*	6,5 ± 0,3	7,0 ± 0,4
груминг	3,4 ± 1,6	1,2 ± 0,2	55,5 ± 11,5	29,8 ± 3,3
стойка с упором	8,3 ± 0,9	6,4 ± 0,4	10,2 ± 1,0	8,0 ± 0,4
вертикальная стойка	2,4 ± 1,1	2,4 ± 0,6	57,7 ± 15,1	36,0 ± 5,2
норка	6,1 ± 0,6	3,3 ± 0,2*	13,6 ± 1,4	20,3 ± 2,3*
сидит	4,7 ± 0,7	4,5 ± 0,4	16,5 ± 2,8	12,0 ± 1,7
суммарное количество актов	69,9 ± 2,9	48,5 ± 3,0*	–	–

Примечание: статистически значимые различия показателей между опытной группой и контролем обозначены * – $p < 0,05$.

Таблица 3
Количество и длительность отдельных поведенческих актов в открытом поле крысят-самок

Акты	Количество		Длительность (с)	
	контроль	опыт	контроль	опыт
локомоции	10,5 ± 1,1	8 ± 1,0	6,0 ± 0,4	7,7 ± 0,8
обнюхивания	23,8 ± 1,9	21,3 ± 1,6	2,6 ± 0,06	2,5 ± 0,07
движения на месте	6,8 ± 0,8	6,5 ± 0,7	10,0 ± 1,1	11,1 ± 2,5
груминг	0,4 ± 0,2	0,9 ± 0,2	16,2 ± 9,5	11,9 ± 3,5
стойка с упором	9,7 ± 1,1	6,6 ± 0,9	6,7 ± 0,5	10,4 ± 1,4
вертикальная стойка	0,2 ± 0,2	0,9 ± 0,3	4,4 ± 4,3	16,4 ± 5,2
норка	3,3 ± 0,7	2,8 ± 0,6	17,0 ± 2,6	18,9 ± 3,0
сидит	5,1 ± 0,7	5 ± 0,4	16,2 ± 4,5	12,1 ± 1,9
суммарное количество актов	60,8 ± 5,1	53,3 ± 4,1	–	–

тировочно-исследовательского поведения и наличия эмоционально-тревожного состояния [5, 10].

Обследование при использовании теста «Открытое поле» крысят-самок не выявило достоверных отличий в поведении животных опытной и контрольной групп. Однако можно выявить несколько тенденций: большее количество актов «груминг», «вертикальная стойка», меньшее – «стойка с упором» и общего количества актов, осуществленных крысами опытной группы. У крыс опытной группы просматривалась тенденция к укорочению длительности актов «груминг» и «сидит», а также увеличению продолжительности акта «стойка с упором».

Поведение в открытом поле потомства крыс-самцов, подвергавшихся воздействию ВХ, (как самок, так и самцов) свидетельствовало об изменении ориентировочно-исследовательской активности, что подтверждалось меньшим количеством всех актов, стоек с упором. Прослеживались элементы негативно-эмоционального состояния, что подтверждалось увеличением количества акта «груминг» [5, 10].

При проведении ЭНМГ исследований у крысят-самцов были получены следующие результаты: латентность – $3,15 \pm 0,1$ мс и $3,6 \pm 0,2$ мс; длительность – $3,55 \pm 0,3$ мс и $2,59 \pm 0,3$ мс; амплитуда – $3,63 \pm 0,6$ мВ и $2,41 \pm 0,4$ мВ; площадь вовлечения – $5,78 \pm 1,1$ мВ × мс и $2,71 \pm 0,2$ мВ × мс у особей контрольной и опытной групп соответственно. Статистически достоверное отличие между исследованными группами выявляется при анализе площади вовлечения ($p < 0,05$), изменения других ЭНМГ характеристик носили характер тенденции. Такие значения показателей свидетельствовали о наличии изменений в ответной реакции нервно-мышечного аппарата, заключающихся в уменьшении количества функциональных двигательных единиц у обследованных самцов в потомстве.

Таким образом, ингаляционное воздействие ВХ вызывало значительное изменение поведенческой активности в отдаленном постконтактном периоде у белых крыс-самцов и их потомства, что свидетельствовало о поражении ЦНС. Кроме того, у этих животных наблюдалось изменение функ-

ционирования периферических нервов по данным стимуляционной ЭНМГ.

Изменения нервной системы, выявленные у крыс-самцов, подтверждают литературные данные о нейротоксичности ВХ [1, 9]. Вместе с тем в настоящий момент не представляется возможным определить механизм влияния винилхлоридной интоксикации на формирования нарушений нервной системы у потомства крыс-самцов, подвергавшихся воздействию токсиканта. Возможно, это связано с активными метаболитами ВХ, которые реагируют с белками, ДНК и РНК, обуславливая его мутагенность [13]. Учитывая данный факт, можно предположить, что имеющее место влияние этого вещества на развитие нервной системы у потомства может быть обусловлено как прямым воздействием токсиканта на генетический аппарат половых клеток, так и опосредованным, при наличии токсической энцефалопатии у крыс-самцов. Генотоксический эффект ВХ возможно связан с прямым цитотоксическим влиянием на сперматогенные клетки. Наряду с этим, нарушение функциональных и метаболических процессов в ЦНС после токсического повреждения ВХ нервной ткани у самцов, способно изменять метаболизм половых стероидов, механизмы обратной связи в системе гипоталамус – гипофиз – яички и оказывать дополнительное неблагоприятное действие на репродуктивную функцию.

Меньшая выраженность поведенческих изменений, продемонстрированная крысами-самками, возможно, связана с их более высокой, по сравнению с самцами, адаптивностью [4].

ВЫВОДЫ

1. Ингаляционное воздействие винилхлорида на крыс-самцов привело к изменениям в поведении (повышение ориентировочно-исследовательской активности и наличие негативно-эмоционального состояния) и в ответных реакциях периферических нервов и мышц у этих животных, заключающихся в снижении амплитуды М-ответа и его площади вовлечения по данным стимуляционной электронейромиографии.

2. У потомства (самцов-крысят) обследованных крыс-самцов выявлены изменения ориентировочно-исследовательской активности и усиление негативно-эмоционального состояния, а также уменьшение количества функциональных двигательных единиц при исследовании периферических нервов.

3. Выявленные изменения поведения в потомстве более выражены у самцов

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонюженко В.А. Винилхлоридная болезнь – углеводородный нейротоксикоз / В.А. Антонюженко. – Горький: Волго-Вятское кн. изд-во, 1980. – 183 с.
2. Барияк И.Р. Генетические последствия загрязнения окружающей среды / И.Р. Барияк, Т.И. Бужиевская, А.И. Быхорез. – Киев: Наук. Думка, 1989. – 232 с.

3. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д.П. Хьюстон. – М.: Высшая школа, 1991.

4. Кассиль В.Г. Половой диморфизм в паттернах условнорефлекторной вкусовой аверзии и ориентировочно-исследовательского и пассивно-оборонительного поведения / В.Г. Кассиль, М.Ю. Бондаренко // Журнал высшей нервной деятельности. – 1996. – Т. 46, № 1. – С. 63–71.

5. Латерализация травмы мозга у крыс-самок (Вистар) определяет иммунный и неврологический статус потомства / Т.В. Авалиани [и др.] // Российский физиологический журнал им. Сеченова. – 2000. – № 12. – С. 1565–1522.

6. Многофункциональный компьютерный комплекс «Нейро МВП» для электронейромиографии, исследования слуховых, зрительных и соматосенсорных вызванных потенциалов мозга и электрореотографии: Метод. указания. – Иваново: НейроСофт, 2000. – 89 с.

7. Онищенко Г.Г. Проблема химических воздействий в Российской Федерации и задачи здравоохранения / Г.Г. Онищенко // Бюллетень НС Медико-экологические проблемы работающих. – 2004. – № 1. – С. 3–8.

8. Саноцкий И.В. Изучение мужской репродуктивной функции при действии некоторых химических веществ / И.В. Саноцкий, Р.М. Давтян, В.И. Глуценко // Гигиена труда и профессиональные заболевания. – 1980. – № 5. – С. 28–31.

9. Соседова Л.М. Морфо-функциональные нарушения у крыс при воздействии винилхлоридом в отдаленном периоде интоксикации / Л.М. Соседова, Е.А. Капустина, Е.А. Титов // Медицина труда и промышленная экология. – 2008. – № 1. – С. 24–29.

10. Унилатеральное повреждение сенсомоторной коры доминантного и субдоминантного полушарий мозга крыс-матерей и поведение потомства в «открытом поле» / Т.В. Авалиани [и др.] // Журнал высшей нервной деятельности. – 2002. – Т. 52, № 2. – С. 628–635.

11. Халепо А.И. Химическая безопасность и проблемы промышленной токсикологии на современном этапе / А.И. Халепо // Бюллетень НС Медико-экологические проблемы работающих. – 2004. – № 3. – С. 29–35.

12. Bolt H.M. Vinyl chloride-a classical industrial toxicant of new interest / H.M. Bolt // Critical reviews in toxicology. – 2005. – Vol. 35, N 4. – P. 307–323.

13. Dogliotti E. Molecular mechanisms of carcinogenesis by vinyl chloride / E. Dogliotti // Ann. Ist. Super Sanita. – 2006. – Vol. 24, N 2. – P. 163–199.

14. Langauer-Lewowicka H. Chronic toxic encephalopathies / H. Langauer-Lewowicka // Medycyna pracy. – 1982. – Vol. 33, N 1–3. – P. 113–117.

15. Polyneuropathy in workers with long exposure to vinyl chloride / G.F. Perticoni [et al.] // Electromyography and Clinical Neurophysiology. – 1986. – Vol. 26, N 1. – P. 41–47.