

УДК:591.445:57.044
© Луговсков Д. А., 2012

РЕНТГЕНОСТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОСТНОГО ВЕЩЕСТВА И ДЕНТИНА РЕЗЦА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ КРЫС ПОСЛЕ 60-ДНЕВНОЙ ИНГАЛЯЦИИ ПАРАМИ ТОЛУОЛА

Луговсков Д.А.

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

Толуол представляет собой прозрачную, бесцветную жидкость с характерным запахом, которая в естественных условиях встречается в сырой нефти и в дереве тол. Также он производится при изготовлении бензина и других видов топлива из нефти и при коксовании каменного угля. Толуол широко используется в производстве красителей, растворителей, лаков, клеев, изделий из резины, а в некоторых случаях и в процессах изготовления кожных изделий. Кроме того, с толуолом часто контактируют работники, занятые на производстве эпоксидных смол, стирола, некоторых видов фармацевтической продукции, полиграфисты, производители обуви [2, 4, 14, 13].

В настоящее время достаточно полно изучено влияние паров толуола на морфогенез надпочечных желез, тимуса, селезенки и других органов [3, 6, 12]. Имеются также единичные сведения о влиянии паров толуола на процессы роста и формирования скелета (трубчатых, плоских, смешанных, а также нижней челюсти) [7, 8].

При этом в доступной литературе отсутствуют сведения об особенностях ультраструктуры биоминералов костного вещества и резца нижней челюсти (НЧ) после ингаляционного воздействия паров толуола и сведения о возможности коррекции возникающих изменений при помощи тиотриазолина и настойки эхинацеи пурпурной.

Поэтому целью исследования явилось установить особенности ультраструктуры биоминералов костного вещества и резца нижней челюсти (НЧ) половозрелых крыс после 60-дневного ингаляционного воздействия паров толуола и применения в качестве корректоров тиотриазолина и эхинацеи пурпурной.

Работа выполнена в рамках плана научных исследований ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» и является составной частью научно-исследовательской работы кафедры нормальной анатомии человека «Морфогенез органов эндокринной, иммунной и костной систем под влиянием экологических факторов» (государственный регистрационный номер № 0110U005-043) и «Морфогенез органов эндокринной, иммунной и костной систем под хроническим влиянием летучих компонентов эпоксидных смол» (государственный регистрационный номер №0109U00461).

Материал и методы исследования. Экспериментальное исследование было проведено на 180 белых беспородных половозрелых крысах-самцах, полученных из вивария ГЗ "Луганский государственный медицинский университет" и содержащихся согласно требованиям и положениям, установленным "Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, использующихся для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986) [16].

Первую группу составили половозрелые инга-

ктные крысы-самцы (контрольная группа), которым внутрибрюшинно вводили эквивалентное по объему количество изотонического физиологического раствора в течение 2 месяцев. Вторая группа – крысы, которые ежедневно на протяжении двух месяцев в установке для ингаляционного введения веществ получали ингаляции толуола с единоразовой экспозицией 4 часа в 10 ПДК (ГОСТ 12. 1. 005 – 88) [15]. Третья группа – животные, которые ежедневно на протяжении двух месяцев получали внутрибрюшинно ампулярный 2,5% раствор тиотриазолина в дозе 117,4 мг/кг (производство АТ «Галичфарм», г. Львов, разработка НВО «Фарматрон», г. Запорожье, утверждённый приказом МОЗ Украины №641 от 18.10.2007 г., регистрационный номер № UA/2931/01/02). Четвертая группа – крысы, которые на протяжении двух месяцев ежедневно получали с помощью внутривенного зонда настойку эхинацеи пурпурной из расчёта 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы крысы (производство "ЗАТ" Фармацевтическая фабрика "Виола", г. Запорожье, утверждённый приказом МОЗ Украины №342 от 01.07.2008г., регистрационный номер № UA/0363/01/01). Пятая группа – половозрелые крысы-самцы, которым на протяжении двух месяцев на фоне ингаляционного введения толуола в специальной установке параллельно вводили внутрибрюшинно ампулярный 2,5% раствор тиотриазолина в дозе 117,4 мг/кг.

Шестая группа – половозрелые крысы-самцы, которым на протяжении двух месяцев на фоне ингаляционного введения толуола в специальной установке параллельно при помощи внутривенного зонда вводили настойку эхинацеи пурпурной из расчёта 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы крысы.

Крыс выводили из эксперимента на 1, 7, 15, 30, 60 сутки после завершения двухмесячного воздействия толуола посредством декапитации под эфирным наркозом. НЧ разделяли на костное вещество и резец, с которого при помощи бормашины ставили эмаль и цемент. Рентгеноструктурное исследование порошка костного вещества и дентина резца, полученного в агатовой ступке, проводили на аппарате ДРОН-2,0 с гониометрической приставкой ГУР-5. Использовали К α излучение меди с длиной волны 0,1542 нм; напряжение и сила анодного тока составляли соответственно 30 кВ и 20 А [10]. Дифрагированные рентгеновские лучи регистрировали в угловом диапазоне от 2° до 37° со скоростью записи 1° в 1 минуту [1]. На полученных дифрактограммах исследовали наиболее выраженные дифракционные пики, по угловому положению которых рассчитывали размеры блоков когерентного рассеивания по уравнению Селякова-Шерера и рассчитывали коэффициент микротекстурирования по методу соотношения рефлексов [8, 11].

Полученные цифровые данные подвергались статистической обработке в программе «STATISTICA 5.11» (определяли среднее значение параметра, среднюю ошибку) [5]. Достоверность статистически значимых различий между показателями экспериментальных и контрольных групп определяли с помощью критерия Стьюдента ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. Внутривнутрибрюшинное введение подопытным животным 2,5% раствора тиотриазолина в дозировке 117,4 мг/кг сутки в течение 60 дней (2-я группа) сопровождалось некоторой ультраструктурой минерального компонента костного вещества нижней челюсти.

Непосредственно после окончания цикла введения тиотриазолина размеры кристаллитов были меньше контрольных на 4,54%, а коэффициент микротекстурирования – больше на 2,81%. Это является свидетельством увеличения общей обменной поверхности костного биоминерала и упорядочивания его кристаллической решетки.

Ультраструктура биоминерала дентина нижней резца на 1 день после окончания введения тиотриазолина характеризовалась аналогичными изменениями. Размеры кристаллитов были меньше контрольных значений на 3,79%, а коэффициент микротекстурирования – больше на 2,61%. Кроме этого размеры элементарных ячеек биоминерала дентина вдоль оси *a* были меньше значений 1-й группы на 0,14%. Это свидетельствует и о предпосылках к активному росту элементарных ячеек биоминерала дентина.

Период реадaptации после применения тиотриазолина характеризовался постепенным сглаживанием явлений оптимизации ультраструктуры биоминералов НЧ, признаки которой, однако, сохранялись вплоть до конца периода наблюдения.

Размеры элементарных ячеек костного минерала вдоль оси *c* были меньше значений 1-й группы на 7 и 15 день наблюдения на 0,10% и 0,12%, а размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* – на 15 день на 0,09%. При этом коэффициент микротекстурирования был больше контрольного с 7 по 30 день соответственно на 3,11%, 2,59% и 2,57%, а размеры кристаллитов были меньше контрольных во все установленные сроки наблюдения на 5,18%, 5,79%, 6,53% и 5,64%.

В биоминерале дентина размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* были меньше, чем в 1-й группе с 7 по 30 день наблюдения на 0,14%, 0,14% и 0,13%, а размеры вдоль оси *c* – на 30 день на 0,12%. При этом размеры кристаллитов биоминерала дентине были также меньше контрольных с 7 по 30 день периода реадaptации соответственно на 3,70%, 3,73% и 3,95%. Коэффициент микротекстурирования, напротив, был больше значений 1-й группы во все сроки наблюдения соответственно на 2,65%, 2,63%, 2,28% и 1,89%.

Внутрижелудочное введение в течение 60 дней настойки эхинацеи пурпурной из расчёта 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы у половозрелых крыс сопровождалось, так же как и при введении тиотриазолина, явлениями оптимизации ультраструктуры биоминералов кости и дентина резца. При этом выраженность и длительность эффекта была значительно меньше.

По окончании введения настойки эхинацеи пурпурной размеры кристаллитов костного биоминерала были меньше значений 1-й группы на 3,41%, а коэффициент микротекстурирования –

больше на 2,24%. В биоминерале дентина при этом размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* были меньше контрольных на 0,12%, а коэффициент микротекстурирования – больше на 2,39%. Это также является свидетельством увеличения общей обменной поверхности биоминералов НЧ и упорядочивания их кристаллической решетки.

Период реадaptации после применения настойки эхинацеи пурпурной характеризовался постепенным сглаживанием явлений оптимизации ультраструктуры биоминералов НЧ, признаки которой к концу периода наблюдения уже не определялись.

В костной биоминерале животных 3-й группы размеры кристаллитов были меньше контрольных лишь на 7 и 15 день наблюдения – на 3,92% и 3,73%, а коэффициент микротекстурирования на 7 день – больше на 2,28%.

В этих условиях в биоминерале дентина лишь коэффициент микротекстурирования был больше значений 1-й группы с 7 по 30 день соответственно на 2,28%, 2,17% и 1,56%.

Тот факт, что после применения настойки эхинацеи пурпурной, в отличие от применения тиотриазолина, не было выявлено изменения размеров элементарных ячеек биоминералов нижней челюсти, свидетельствует о том, что оптимизирующий эффект в данном случае проявляется не на этапе нуклеации, а при росте кристаллитов.

Ингаляционное воздействие паров толуола с единоразовой экспозицией 4 часа в 10 ПДК в течение 60 дней у половозрелых крыс сопровождалось дисбалансом ультраструктуры как биоминерала костного вещества, так и биоминерала дентина резца НЧ.

На 1-й день после окончания ингаляций парами толуола размеры элементарных ячеек костного биоминерала вдоль осей *a* и *c* были больше значений 1-й группы соответственно на 0,19% и 0,25%, а размеры блоков когерентного рассеивания – на 8,41%. Коэффициент микротекстурирования был меньше контрольного на 10,12%.

В целом аналогичные изменения регистрировались и в ультраструктуре биоминерала дентина: размеры элементарных ячеек вдоль осей *a* и *c* были больше значений 1-й группы на 0,26% и 0,23%, а размеры кристаллитов – на 5,18%. При этом коэффициент микротекстурирования был меньше контрольного на 10,09%.

Период реадaptации после 60-дневного воздействия паров толуола характеризовался незначительным сглаживанием выявленных отклонений, однако и на 60 день наблюдения сохранялись признаки дестабилизации кристаллической решетки биоминералокости и дентина резца НЧ.

В костном биоминерале животных 4-й группы размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* были больше значений 1-й группы во все установленные сроки наблюдения соответственно на 0,29%, 0,28%, 0,23% и 0,15%, а размеры вдоль оси *a* – с 7 по 30 день – на 0,20%, 0,13% и 0,11%. При этом соотношение размеров *c/a* на 15 день также было больше контрольного на 0,16%, что свидетельствует о дестабилизации элементарных ячеек и склонности их к разрушению.

Также, размеры кристаллитов костного биоминерала НЧ с 7 по 30 день были больше значений 1-й группы соответственно на 7,33%, 6,97% и 5,51%. Коэффициент микротекстурирования при этом во

все сроки наблюдения был меньше контрольных значений соответственно на 10,08%, 9,76%, 7,95% и 5,23%.

Такие изменения свидетельствуют об увеличении степени аморфности костного биоминерала и уменьшении площади его общей обменной поверхности.

В целом аналогичные изменения наблюдались и в ультраструктуре биоминерала дентина: размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* во все сроки наблюдения были больше контрольных соответственно на 0,26%, 0,27%, 0,22% и 0,12%, а размеры вдоль оси *c* – с 7 по 30 день на 0,25%, 0,23% и 0,18%. Размеры кристаллитов биоминерала дентина после воздействия паров толуола в период с 7 по 30 день были больше значений 1-й группы соответственно на 5,70%, 5,22% и 4,23%, а коэффициент микротекстурирования во все сроки наблюдения – меньше соответственно на 4,45%, 4,07%, 3,99% и 2,72%.

Такие изменения также свидетельствуют об увеличении степени аморфности биоминерала дентина резца и уменьшении площади его общей обменной поверхности.

Таким образом, ингаляционное воздействие паров толуола с единоразовой экспозицией 4 часа в 10 ПДК в течение 60 дней у половозрелых крыс сопровождается признаками нарушения процессов нуклеации и дестабилизации элементарных ячеек, а также увеличением степени аморфности как костного минерала НЧ, так и биоминерала дентина резца. В период реадaptации отклонения сохраняются приблизительно на одном уровне вплоть до 30 дня наблюдения, после чего начинают сглаживаться. Однако и на 60 день сохраняются достоверные отличия от контрольной группы животных.

Амплитуда выявленных отклонений в биоминерале дентина была несколько меньше, что вероятно объясняется его более жесткой структурной детерминацией по сравнению с остеоопатитом.

В том случае, когда внутрибрюшинное введение подопытным животным 2,5% раствора тиотриазолина в дозировке 117,4 мг/кг сутки в течение 60 дней производилось на фоне ингаляций парами толуола (5-я группа), по окончании периода воздействия также определялись признаки дестабилизации ультраструктуры биоминералов НЧ, но выражены они были значительно меньше, чем в 4-й группе.

Сравнение полученных данных с показателями 4-й группы выявило, что в костном биоминерале НЧ непосредственно после окончания периода воздействия размеры кристаллитов были меньше контрольных на 4,40%, а коэффициента микротекстурирования – больше на 6,62%.

В биоминерале дентина резца НЧ размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* были меньше значений 4-й группы на 0,10%, а коэффициент микротекстурирования – больше на 2,71%.

В период реадaptации размеры кристаллитов костного биоминерала были меньше значений 4-й группы во все установленные сроки соответственно на 4,60%, 5,33%, 4,58% и 3,08%, а коэффициент микротекстурирования был больше контрольного соответственно на 6,54%, 6,96%, 6,57% и 4,20%.

При этом размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* были меньше значений 4-й группы с 15 по 60 день наблюдения на 0,30%, 0,30% и 0,12%, а размеры вдоль оси *a* на 15 день – на 0,11%.

В биоминерале дентина размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* были меньше значений 4-й группы с 7 по 60 день наблюдения соответственно на 0,14%, 0,19%, 0,30% и 0,13%, а размеры вдоль оси *c* с 7 по 30 день – на 0,16%, 0,16% и 0,15%. При этом размеры кристаллитов были меньше значений 4-й группы с 7 по 30 день на 3,24%, 3,99% и 3,68%, а коэффициент микротекстурирования превосходил контрольный во все установленные сроки соответственно на 4,25%, 4,02%, 3,97% и 3,22%.

Полученные данные свидетельствуют о том, что применение тиотриазолина на фоне ингаляций толуола в значительной мере сглаживает негативное влияние паров толуола на ультраструктуру кристаллической решетки биоминералов нижней челюсти. Это проявляется как непосредственно в условиях заправки, так и в период реадaptации.

В том случае, когда внутрижелудочное введение в течение 60 дней настойки эхинацеи пурпурной из расчёта 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы производилось на фоне ингаляций парами толуола (6-я группа), по окончании периода воздействия также определялись признаки дестабилизации ультраструктуры биоминералов НЧ, но выражены они были значительно меньше, чем в 4-й группе. Однако в сравнении с 5-й группой (применение в качестве корректора тиотриазолина) корригирующее влияние было выражено слабее.

Сравнение с 4-й группой показало, что в костном биоминерале сразу после окончания воздействия коэффициент микротекстурирования был больше контрольного на 3,47%. Кристаллографические показатели биоминерала дентина от показателей 4-й группы достоверно не отличались.

В реадaptационный период коэффициент микротекстурирования костного минерала был больше значений 4-й группы во все установленные сроки наблюдения соответственно на 3,32%, 2,73%, 3,64% и 2,90%. Также, размеры кристаллитов на 30 день были меньше контрольных на 3,15%.

В биоминерале дентина резца в период реадaptации размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* на 7 день наблюдения были меньше значений 4-й группы на 0,13%, а размеры вдоль оси *a* на 15 и 30 день – на 0,12% и 0,18%. При этом коэффициент микротекстурирования во все сроки наблюдения превосходил контрольный соответственно на 2,24%, 2,91%, 3,51% и 2,40%.

Из этого следует, что применение настойки эхинацеи пурпурной на фоне ингаляций парами толуола оказывает корригирующее влияние на ультраструктуру минерального компонента кости и дентина резца НЧ, которое выражено меньше, чем при применении тиотриазолина.

Выводы.

1. После 60-дневного ингаляционного воздействия паров толуола наблюдались явления дестабилизации ультраструктуры биоминералов костного вещества и дентина резца нижней челюсти. В период реадaptации отклонения постепенно сглаживались, но и через 60 дней наблюдались достоверные отличия от контроля.

2. Внутрибрюшинное введение животным тиотриазолина сопровождалось сглаживанием негативного влияния ингаляций парами толуола на ультраструктуру биоминералов нижней челюсти, как в период ингаляционного воздействия, так и в период реадaptации.

3. При внутрижелудочном введении настойки

ки эхинацеи пурпурной также наблюдалось сглаживание негативного влияния ингаляций парами толуола на ультраструктуру биоминералов нижней челюсти, но выражено оно было слабее, чем при использовании тиотриазолина.

Перспективы дальнейших исследований. С целью подтверждения выявленных закономерностей будет проведено гистологическое исследование резца нижней челюсти.

ЛИТЕРАТУРА:

1. **Азаров Л.В.** Метод порошка в рентгенографии / **Л.В.Азаров, М.И.Бургер** / - М.: Изд.-во иностранной литературы, 1961. - 363 с.
2. **Васильева И. А.** Состояние специфических функций у работниц, подвергающихся воздействию эпоксидных смол и полимерных материалов на их основе в процессе трудовой деятельности / И. А. Васильева, А. П. Яворовский // Лікарська справа. - 1999. - № 5. - С.142-146.
3. **Волошин В. М.** Эффекты ингаляционного влияния толуола на массу селезенки статевозрілих щурів / В. М. Волошин // Український медичний альманах. - 2009. - Т. 12, № 5 (додаток). - С. 65-68.
4. **Высоцкий И. Ю.** Токсичность и метаболизм эпоксидных соединений / И. Ю. Высоцкий // Український медичний альманах. - 2000. - Т. 3, № 2. - С. 43-46.
5. **Лапач С. Н.** Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. - Киев: Морион, 2000. - 320 с.
6. **Ли Я. Б.** Особенности биологического действия эпоксидной смолы марки УП-666-4 на организм животных в хроническом эксперименте/ Ли Я. Б. // Сб. Гигиена труда. - Киев, 2000. - Вып. 31. - С. 226.
7. **Лузин В. И.** Морфофункциональное состояние мышечного хряща нижней челюсти крыс после 60-дневной ингаляции парами толуола / В. И. Лузин, Д. А. Луговсков, А. Н. Скоробогатов // Український медичний альманах - 2012. - Т. 15, № 1. - С. 87-90.
8. **Лузин В. И.** Формообразование нижней челюсти у белых крыс после длительной ингаляции парами толуола / В. И. Лузин, Д. А. Луговсков, А. Н. Скоробогатов //
- Український морфологічний альманах. - 2011. - Т. 9, № 2. - С. 43-46.
9. **Миркин Л.И.** Рентгеноструктурный анализ. Индицирование рентгенограмм: справочное руководство / **Миркин Л.И.** - М.: Наука, 1981. - 496 с.
10. **Михеев В.И.** Рентгенометрический определитель минералов / **Михеев В.И.** - М.: Госгеолтехиздат., 1957. - 868 с.
11. **Подрушник Е.П.** Ультраструктура минерального компонента и прочность костной ткани позвонков у людей различного возраста / **Е.П.Подрушник, А.И.Новохацкий** // Ортопед. травматол. - 1983. - №8. - С.15-18.
12. **Овчаренко В. В., Маврич В. В.** Комп'ютерна програма для морфометричних досліджень «Morpholog» / Свідетство про реєстрацію авторського права на твір № 9604, дата реєстрації 19.03.2004.
13. **Шевченко А.М.** Профилактика профинтоксикаций при производстве и применении эпоксидных смол / А.М. Шевченко, А.П. Яворовский // К.: Здоров'я, 1985. - 96 с.
14. **Belik I. A.** Peculiarities of the adrenal glands morphogenesis by influence of toluene / I. A. Belik // Український медичний альманах. - 2012. - Т. 15, № 1. (додаток). - С. 11.
15. AEGs. Proposed Acute Exposure Guideline Levels. Toluene (CAS Reg. No. 108-88-3). United States Environmental Protection Agency Office of Pollution Prevention and Toxics. Public Draft. - 2000.
16. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. - Strasbourg, 1986. - 52 p.

Луговсков Д.А. Рентгеноструктурное исследование костного вещества и дентина резца нижней челюсти крыс после 60-дневной ингаляции парами толуола // Український медичний альманах. - 2012. - Том 15, №5. - С. 199-202.

В эксперименте на 180 белых крысах половозрелого возраста установлены особенности измененной ультраструктуры биоминералов нижней челюсти после 60-дневных ингаляций парами толуола и оценена возможность коррекции возникающих изменений при помощи тиотриазолина и настойки эхинацеи пурпурной. Выявлено, что внутрибрюшинное введение тиотриазолина сопровождалось более выраженным по амплитуде и продолжительности (с 1 по 60 сутки периода реадaptации) сглаживанием угнетающего влияния ингаляций парами толуола на ультраструктуру биоминералов кости и дентина резца, чем в группе с внутрижелудочным введением настойки эхинацеи пурпурной.

Ключевые слова: крысы, толуол, биоминералы, тиотриазолин, настойка эхинацеи пурпурной.

Луговський Д. О. Рентгеноструктурне дослідження кісткової речовини та дентина різця нижньої щелепи щурів після 60-догової інгаляції парами толуолу // Український медичний альманах. - 2012. - Том 15, №5. - С. 199-202.

В експерименті на 180 білих щурах статевозрілого віку встановлені особливості змін ультраструктури біомінералів нижньої щелепи після 60-денних інгаляцій парами толуолу та оцінена можливість корекції виникаючих змін за допомогою тиотриазоліну та настоянки ехінацеї пурпурової. Виявлено, що внутрішньоочеревинне введення тиотриазоліну супроводжувалося більш вираженим за амплітудою та тривалістю (з 1 по 60 добу періоду реадaptації) згладжуванням негативного впливу інгаляцій парами толуолу на ультраструктуру біомінералів кістки та дентину різця, ніж у групі з внутрішньошлунковим введенням настоянки ехінацеї пурпурової.

Ключові слова: щури, толуол, біомінерали, тиотриазолін, настоянка ехінацеї пурпурової.

Lugovskov D.A. X-ray diffraction analysis of the bone and dentin lower incisors of rats after a 60-day inhalation of toluene vapors // Український медичний альманах. - 2012. - Том 15, №5. - С. 199-202.

The peculiarities of changes of mandibular biominerals ultrastructure after a 60-day inhalation of toluene vapors and the potential compensation arising changes with thiotriazoline and tincture of echinacea purpurea in the experiment on 180 white mature rats was studied. It was found, that intraperitoneal administration thiotriazoline associated with more pronounced in amplitude and duration (1 to 60 day period of rehabilitation) smoothing inhibitory effect of inhaled toluene vapors on the ultrastructure of biominerals of bone and dentine, than in the group with intragastric administration of tincture of echinacea purpurea.

Key words: rat, toluene, biominerals, thiotriazolin, tincture of Echinacea purpurea

Надійшла 28.07.2012 р.
Рецензент: проф. С.А.Кащенко