

УДК:591.445:57.044

© Лузин В.И., Луговсков Д.А., Скоробогатов А.Н., 2012

**МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ МЫШЦЕЛКОВОГО ХРЯЩА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ КРЫС ПОСЛЕ 60-ДНЕВНОЙ ИНГАЛЯЦИИ ПАРАМИ ТОЛУОЛА****Лузин В.И., Луговсков Д.А., Скоробогатов А.Н.***ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»*

Толуол (Сas № 108-88-3) – это прозрачная, бесцветная жидкость с характерным запахом; в естественных условиях толуол встречается в сырой нефти и в дереве тол. Также он производится при изготовлении бензина и других видов топлива из нефти и при коксировании 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, 3, 10, 11].

В настоящее время достаточно полно изучено влияние паров толуола на морфогенез надпочечных желез, органов репродуктивной и иммунной систем и др. [4-6, 8]. Имеются также и единичные сведения о влиянии паров толуола на формирование костей скелета (длинных трубчатых, плоских, губчатых, а также нижней челюсти).

Источником роста нижней челюсти, по данным Н. U. Luder, является мышцелковый хрящ [13]. По данным W. E. Roberts мышцелковый хрящ нижней челюсти не подвергается энхондральному окостенению и функционирует на протяжении всего периода онтогенеза [15]. Кроме того, он обладает способностью к адаптивной перестройке в ответ на изменение функциональной нагрузки или положения нижней челюсти во время или после завершения своего роста [14, 16]. Однако, ростовые потенции мышцелкового хряща нижней челюсти после 60-дневной ингаляции парами толуола до сих пор не исследованы.

Исходя из этого **целью данной работы** является изучение особенностей гистологического строения мышцелкового хряща нижней челюсти репродуктивных белых крыс после 60-дневной ингаляции толуолом с экспозицией в 10 ПДК на протяжении 4 часов, а также обоснование возможных путей коррекции выявленных изменений тиотриазолином и экстрактом эхинацеи пурпурной.

**Связь работы с научными программами, планами, темами.** Работа выполнена в рамках плана научных исследований ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» и является составной частью научно-исследовательской работы кафедры нормальной анатомии человека «Морфогенез ор-

ганов эндокринной, иммунной и костной систем под влиянием экологических факторов» (государственный регистрационный номер № 0110U005043) 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, используемых для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986) [12].

Первую группу составили половозрелые интактные крысы-самцы (контрольная группа), которым внутрибрюшинно вводили эквивалентное по объему количество изотонического физиологического раствора в течение 2 месяцев. Вторая группа – крысы-самцы, 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) [10, 12]. Третья группа – половозрелые крысы-самцы, 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 – половозрелые крысы-самцы, которые на протяжении двух месяцев ежедневно получали с помощью внутрижелудочного 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 желудочного 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 день после завершения двухмесячного воздействия толуола посредством декапитации под эфирным наркозом. Выделяли и очищали от мягких тканей нижние челюсти выделяли нижние челюсти (НЧ), отделяли мышечковый отросток, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали 5% раствором муравьиной кислоты, обезвоживали в спиртах возрастающей крепости и заливали в парафин. Готовили гистологические срезы мышечкового отростка НЧ толщиной до 8-10 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином [1].

На полученных срезах измеряли общую ширину мышечкового хряща нижней челюсти, ширине отдельных его зон, объемное содержание первичной спонгиозы и удельное количество клеток в зоне субхондрального остеогенеза [15].

Все полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [7].

**Результаты исследований и их обсуждение.** У интактных крыс в ходе наблюдения общая ширина мышечкового хряща нижней челюсти уменьшалась с  $834,86 \pm 5,25$  мкм до  $792,75 \pm 4,09$  мкм. Это происходило за счет сужения всех его зон. Так, с 1 по 60 день наблюдения ширина зоны покоя уменьшилась с  $181,92 \pm 2,84$  мкм до  $166,75 \pm 2,14$  мкм, зоны пролиферации – с  $130,69 \pm 1,63$  мкм до  $121,11 \pm 1,27$  мкм, зоны гипертрофического хряща – с  $286,81 \pm 3,57$  мкм до  $279,61 \pm 2,63$  мкм, зоны эрозии – с  $137,17 \pm 1,96$  мкм до  $130,36 \pm 1,56$  мкм и зоны субхондрального остеогенеза – с  $98,28 \pm 1,15$  мкм до  $94,92 \pm 1,07$  мкм. При этом объемное содержание первичной спонгиозы и удельное количество клеток в зоне субхондрального остеогенеза также уменьшались – соответственно с  $63,67 \pm 1,17\%$  до  $61,17 \pm 0,66\%$  и с  $57,64 \pm 1,11$  шт/мм<sup>2</sup> до  $54,92 \pm 0,75$  шт/мм<sup>2</sup>.

Это совпадает с тем, что свидетельствует о значительных ростовых потенциях мышечковых хрящей репродуктивных интактных животных, и соответствует результатам наших исследований темпов роста и формообразования нижней челюсти [10, 11].

После 60-дневной ингаляции парами толуола было зарегистрировано сужение мышечковых хрящей нижней челюсти с пропорциональным сужением всех их зон, которое удерживалось на одном уровне с 1-го по 30-й день после прекращения ингаляции и в дальнейшем лишь незначительно сглаживалось.

При этом и через 60 дней после прекращения цикла ингаляций толуолом достоверные отклонения от показателей интактных животных еще сохранялись.

При этом общая ширина мышечкового хряща была меньше аналогичных значений 1-й группы во все установленные сроки эксперимента соответственно на 8,56%, 8,72%, 8,78%, 7,76% и 5,75%. Соответственно ширина зоны покоя с 1 по 60 день наблюдения была меньше контрольной на 6,43%, 5,90%, 6,71%, 7,28% и 3,51%, ширина зоны пролиферации – на 11,92%, 9,71%, 13,32%, 9,82% и 5,41%, ширина зоны гипертрофического хряща – на 7,38%, 8,28%, 7,07%, 6,16% и 6,38%, зоны эрозии – на 10,81%, 12,79%, 11,21%, 10,14% и 7,24%, а зоны субхондрального остеогенеза – на 8,37%, 7,34%, 7,96%, 7,29% и 6,20%.

Нарушения зонального строения сопровождались и изменениями соотношения объемных компонентов в нем. Объемное содержание первичной спонгиозы в зоне субхондрального остеогенеза во все установленные сроки эксперимента было меньше контрольного соответственно на 8,64%, 8,82%, 9,37%, 7,00% и 6,72%. При этом удельное количество клеток в этой же зоне было меньше, чем в 1-й группе соответственно на 9,16%, 8,52%, 5,74%, 4,00% и 5,16%.

Внутрибрюшинное введение 2,5% раствора тиотриазолина в дозировке 117,4 мг/кг массы тела животного сопровождалось оптимизацией морфо-функционального состояния мышечковых хрящей нижней челюсти, которая проявлялась до 30 дня после окончания применения препарата.

С 1 по 30 день эксперимента общая ширина мышечкового хряща была больше контрольной соответственно на 4,14%, 4,64%, 4,45% и 3,77%. При этом в эти же сроки ширина зоны пролиферации была больше, чем в 1-й группе, соответственно на 5,87%, 8,39%, 4,33% и 5,62%, ширина зоны гипертрофического хряща – на 4,49%, 4,08%, 4,50% и 3,52%, а ширина зоны субхондрального остеогенеза – на 5,43%, 4,79%, 4,65% и 3,73%. Ширина зоны покоя превосходила значения 1-й группы к 7 и 15 дню на 4,50% и 3,52%, а ширина эрозивной зоны – на 1, 15 и 30 день на 5,35%, 5,49% и 4,67%.

В этих условиях объемная доля первичной спонгиозы в зоне субхондрального остеогенеза была больше значений 1-й группы в период с 1 по 30 день эксперимента соответственно на 5,54%, 5,33%, 4,42% и 5,07%, а удельное количество клеток – на 6,07%, 6,62%, 7,82% и 4,50%.

Ежедневное внутривентрикулярное введение настойки эхинацеи пурпурной из расчёта 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы крысы в течение двух месяцев так же, как и 3-й группе, сопровождалось оптимизацией морфо-функционального состояния мышечковых хрящей нижней челюсти, которая проявлялась менее

длительно - лишь до 15 дня после окончания применения препарата.

Общая ширина мышечкового хряща животных 4-й группы была больше контрольных показателей с 1 по 15 день эксперимента соответственно на 2,96%, 4,15% и 3,76%. При этом в те же сроки ширина зоны пролиферации была больше контрольной соответственно на 4,87%, 8,56% и 3,73%, а ширина зоны эрозии – на 1 и 15 день на 4,07% и 4,61%. Помимо этого ширина зоны покоя к 7 и 15 дню эксперимента была больше контрольной на 5,40% и 4,13%, ширина зоны субхондрального остеогенеза – на 4,59% и 4,05%, а удельное количество клеток в ней – на 5,26% и 5,79%. Остальные исследуемые показатели достоверно от аналогичных значений 1-й группы не отличались.

Внутрибрюшинное введение 2,5% раствора тиотриазолина в дозе 117,4 мг/кг массы тела крысы на фоне 60-дневной ингаляции параами толуола так же, как и во 2-й группе (изолированная ингаляция параами толуола) сопровождалось угнетением ростовых потенциалов мышечковых хрящей нижней челюсти, однако выраженность его была значительно меньше. Более того, общая ширина мышечкового хряща превосходила аналогичные показатели 2-й группы во все установленные сроки эксперимента соответственно на 4,33%, 5,63%, 5,01%, 5,98% и 4,89%.

При этом ширина зоны пролиферации была больше контрольных значений соответственно на 5,60%, 7,82%, 7,13%, 7,27% и 5,09%, зоны гипертрофического хряща – на 3,90%, 4,68%, 3,89%, 4,25% и 5,83%, зоны эрозии – на 6,54%, 5,76%, 6,20%, 8,04% и 5,90%, а зоны субхондрального остеогенеза – на 4,53%, 4,15%, 3,79%, 6,37% и 4,93%. Ширина зоны покоя была достоверно больше значений 2-й группы с 7 по 30 день эксперимента соответственно на 8,37%, 5,13% и 6,14%.

Наряду с этим, удельное количество клеток в зоне субхондрального остеогенеза было больше контрольного к 1 и 7 дню эксперимента на 6,21% и 5,59%, а объемная доля первичной спонгиозы там же – к 30 и 60 дню на 6,08% и 5,89%.

Внутрижелудочное введение настойки эхинацеи пурпурной из расчёта 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы крысы на фоне 60-дневной ингаляции параами толуола (6-я группа) так же, как и во 2-й группе (изолированная ингаляция параами толуола) сопровождалось восстановлением строения мышечковых хрящей нижней челюсти.

Сравнение полученных данных с показателями 2-й группы показало, что общая ширина

мышечкового хряща была больше контрольной во все установленные сроки эксперимента соответственно на 3,96%, 5,83%, 5,72%, 7,27% и 4,51%. При этом ширина зоны пролиферации, эрозивной зоны и зоны субхондрального остеогенеза были больше показателей 2-й группы соответственно на 7,24%, 8,68%, 8,46%, 9,27% и 4,41%, на 5,47%, 5,71%, 6,93%, 9,34% и 6,13%, и на 4,19%, 4,49%, 4,71%, 6,34% и 4,03%. Ширина зоны покоя была больше контрольной в период с 7 по 30 день эксперимента соответственно на 7,45%, 5,77% и 6,74%, а ширина зоны гипертрофического хряща – с 7 по 60 день на 4,12%, 4,30%, 6,10% и 5,41%.

Вместе с этим, удельное количество клеток в зоне субхондрального остеогенеза во все установленные сроки эксперимента было больше, чем во 2-й группе, соответственно на 5,15%, 5,90%, 4,35%, 3,59% и 4,64%, а объемное содержание первичной спонгиозы – в период с 15 по 60 день соответственно на 4,68%, 6,13% и 5,60%.

Поскольку при применении в качестве корректора экстракта эхинацеи пурпурной амплитуда отклонений от показателей интактных животных во всех случаях была меньше, чем в 5-й группе, можно утверждать, что ее применение более эффективно, чем применение тиотриазолина.

#### Выводы:

1. Ингаляционная затравка толуолом сопровождается сужением мышечковых хрящей нижней челюсти подопытных животных с сужением всех их зон, а также уменьшением объемного содержания первичной спонгиозы и удельного количества клеток в зоне субхондрального остеогенеза. Выявленные изменения регистрировались с 1 по 30 день после окончания ингаляций толуолом и к 60 дню лишь незначительно сглаживались.

2. Одновременное с ингаляцией применение тиотриазолина (внутрибрюшинно в дозе 117,4 мг/кг массы) и экстракта эхинацеи пурпурной (внутрижелудочно из расчёта 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы) сглаживало негативное влияние условий эксперимента на ростовые потенциалы мышечковых хрящей нижней челюсти.

3. Применение экстракта эхинацеи пурпурной в целом было несколько эффективнее, чем использование тиатриазолина.

#### Перспективы дальнейших исследований.

Для подтверждения выявленных закономерностей будет проведен однофакторный дисперсионный анализ гистоморфометрических показателей мышечковых хрящей нижней челюсти крыс в условиях нашего эксперимента.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Автандилов Г.Г. - М.: Медицина, 2002. - 240 с.  
2. Васильева И. А. Состояние специфических функций у работниц, подвергающихся воздейст-

вию 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. Высоккий И.Ю. Токсичность и метаболизм эпо-

кислородных соединений / И.Ю. Высоцкий // Украинский медицинский альманах. - 2000. - Т. 3, № 2. - С. 43-46.

4. **Волошин В.М.** Эффекты ингаляционного влияния толуола на массу селезенки статовозрелых шурив / В.М. Волошин // Украинский медицинский альманах. - 2009. - Том 12, № 5 (додаток). - С. 65-68.

5. **Волошина І.С.** Эффекты ингаляционного влияния эпихлоргидрина на сѣм'яники статовонезрелых шурив / І.С. Волошина // Украинский морфологический альманах. - 2011. - Том 9, №3. - С. 62-64.

6. **Ковешніков В.Г.** Застосування факторного аналізу при вивченні впливу деяких ксенобіотиків на особливості морфогенезу органів імунної системи / В.Г. Ковешніков, В.М. Волошин // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения (Труды Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского). - 2010. - Т. 146. - часть 5. - С. 197.

7. **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.

8. **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.

9. **Лузин В.И.** Формообразование нижней челюсти у белых крыс после длительной ингаляции парами толуола / В.И. Лузин, Д.А. Луговсков, А.Н.

**Скоробогатов** // Украинский морфологический альманах. - 2011. - Том 9, № 2. - С. 43-46.

10. **Шевченко А.М.** Профилактика профинтоксикаций при производстве и применении эпоксидных смол / А.М. Шевченко, А.П. Яворовский // К.: Здоров'я, 1985. - 96 с.

11. AEGLS. 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.

12. 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.

13. **Luder H. U.** Perichondrial and endochondral components of mandibular condylar growth: morphometric and autoradiographic quantitation in rats / H. U. Luder // J. Anat. - 1994. - № 185. - P. 587-598.

14. **Rabie A. B.** Functional appliance therapy accelerates and enhances condylar growth / A. B. Rabie, T. T. She, U. Hägg // Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop. - 2003. - № 123. - P. 40-48.

15. **Roberts W. E.** Bone development and function: genetic and environmental mechanism / W. E. Roberts, J. K. Jr. Hartsfield // Semin. Orthod. - 2004. - № 10. - P. 100-122.

16. **Sakamoto Y.** Morphological influence of ascorbic acid deficiency on endochondral ossification in osteogenic disorder Shionogi rat / Y. Sakamoto, Y. Takano // Anat. Rec. - 2002. - № 268. - P. 93-104.

**Лузин В.И., Луговсков Д.А., Скоробогатов А.Н.** Морфо-функциональное состояние мышечкового хряща нижней челюсти крыс после 60-дневной ингаляции парами толуола // Украинский медицинский альманах. - 2012. - Том 15, № 1. - С. 87-90.

В эксперименте исследовали гистологическое строение мышечковых хрящей нижней челюсти белых крыс после 60-дневной ингаляции толуолом с экспозицией в 10 ПДК на протяжении 4 часов. Установлено, что ингаляционная заправка толуолом сопровождается сужением мышечковых хрящей нижней челюсти подопытных животных с сужением всех их зон, а также уменьшением объемного содержания первичной спонгиозы и удельного количества клеток в зоне субхондрального остеогенеза. Выявленные изменения регистрировались с 1 по 30 день после окончания ингаляций толуолом и к 60 дню лишь незначительно сглаживались. Одновременное с ингаляцией применение тиотриазолина (внутрибрюшинно в дозе 117,4 мг/кг массы) и экстракта эхинацеи пурпурной (внутрижелудочно из расчёта 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы) сглаживало негативное влияние условий эксперимента на ростовые потенции мышечковых хрящей нижней челюсти. Применение экстракта эхинацеи пурпурной в целом было несколько эффективнее, чем использование тиотриазолина.

**Ключевые слова:** нижняя челюсть, мышечковый хрящ, толуол, тиотриазолин, экстракта эхинацеи пурпурной.

**Лузин В.И., Луговсков Д.О., Скоробогатов А.М.** Морфо-функциональный стан виросткових хрящів нижньої щелепи у білих шурив після тривалої інгаляції парами толуолу // Український медичний альманах. - 2012. - Том 15, № 1. - С. 87-90.

В експерименті досліджували гістологічну будову виросткових хрящів нижньої щелепи білих шурив після 60-денної інгаляції толуолом з експозицією в 10 ГДК протягом 4:00. Встановлено, що інгаляційна заправка толуолом супроводжується звуженням мицелкових хрящів нижньої щелепи піддослідних тварин із звуженням всіх їх зон, а також зменшенням об'ємного змісту первинної спонгіозы і питомої кількості клітин в зоні субхондрального остеогенезу. Виявлені зміни реєструвалися з 1 по 30 день після закінчення інгаляцій толуолом і до 60 дня лише трохи згладжувалися. Одночасне з інгаляцією застосування тиотриазоліну (внутрішньочеревно в дозі 117,4 мг / кг маси) і екстракту ехінацеї пурпурової (внутрішньощлунково із розрахунку 0,1 мг сухої речовини на 100 г маси) згладжувало негативний вплив умов експерименту на ростові потенції мицелкових хрящів нижньої щелепи. Застосування екстракту ехінацеї пурпурової в цілому було кілька ефективніше, ніж використання тиотриазоліна.

**Ключові слова:** нижня щелепа, виростковий хрящ, толуол, тиотриазолін, екстракт ехінацеї пурпурної.

**Luzin V.I., Lugovskov D.A., Skorobogatov A.N.** Forming of the mandible in white rats after prolonged inhalation of vapors of toluene // Український медичний альманах. - 2012. - Том 15, № 1. - С. 87-90.

In this experiment we investigated the histological structure of the mandible condylar cartilage in white rats after a 60-day inhalation exposure to toluene at 10 MPC for 4 hours. Found that toluene inhalation is accompanied by narrowing of the mandible condylar cartilage in experimental animals with the restriction of their zones, as well as a decrease of volume content of primary spongiosa and number of cells in the area of subchondral bone formation. The detected changes were recorded from 1 to 30 days after inhalation of toluene and 60 day only slightly smoothed. Simultaneous with the use of inhaled Thiatriazolone (intraperitoneally at a dose of 117.4 mg / kg) and an extract of Echinacea purpurea (intraperitoneally of 0.1 mg of dry matter per 100 g body weight) smoothed the negative effect of experimental conditions on the growth potential of condylar cartilage of the mandible. The use of an extract of Echinacea purpurea as a whole was slightly more efficient than using thiatriazolone.

**Key words:** mandible, condylar cartilage, toluene, thiatriazolone, an extract of Echinacea purpurea.

Надійшла 12.09.2011 р.

Рецензент: проф. С.А.Кащенко