

УДК 591.441:547.533
© Волошин В.М., 2011

ЕФЕКТИ ТІОТРИАЗОЛІНУ ТА НАСТОЯНКИ ЕХІНАЦЕЇ НА ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ, ЯКІ ЗНАВАЛИ ІНГАЛЯЦІЙНОГО ВПЛИВУ ТОЛУОЛУ

Волошин В.М.

ДЗ «Луганський державний медичний університет»

Волошин В.М. Ефекти тіотриазоліну та настоянки ехінацеї на гістоморфометричні показники селезінки щурів, які знавали інгаляційного впливу толуолу // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 59-61.

У роботі наведені результати вивчення гістологічної будови селезінки статевонезрілих білих щурів після поєднаної дії інгаляцій толуолу та лікарських засобів з імуномоделюючими властивостями – тіотриазоліну та настоянки ехінацеї. Введення коректорів дещо нівелює зміни гістологічної будови селезінки, викликані експозицією толуолу. Різниця між гістоморфометричними ефектами тіотриазоліну та настоянки ехінацеї є незначною, тому виділити вплив одного з коректорів, як більш виражений, не можна.

Ключові слова: селезінка, гістологія, тіотриазолін, ехінацея.

Волошин В.Н. Эффекты титотриазолина и настойки эхинацеи на гистоморфометрические показатели селезенки крыс, подвергавшихся ингаляционному воздействию толуола // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 59-61.

В работе приведены результаты изучения гистологического строения селезенки неполовозрелых крыс после совместного действия ингаляций толуола и лекарственных средств с иммуномоделирующими свойствами – титотриазолина и настойки эхинацеи. Введение корректоров несколько нивелирует изменения гистологического строения селезенки, вызванные экспозицией толуола. Разница между гистоморфометрическими эффектами титотриазолина и настойки эхинацеи незначительна, поэтому выделить влияние одного из них, как более выраженное, не представляется возможным.

Ключевые слова: селезенка, гистология, титотриазолин, эхинацея.

Voloshin V.N. Effects of echinacea tincture and thiotriazolin on histomorphometric indices of spleen of rats exposed to the inhalation of toluene // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 59-61.

The paper presents the results of histological study of spleen of immature rats after inhalation of toluene joint action and medicines - tincture of echinacea and thiotriazolin. Application medicines several changes of histological structure eliminates the spleen caused by exposure of toluene. The difference between the histomorphometric effects of echinacea tincture and thiotriazolin are insignificant, and therefore isolate the impact of one of them, the more pronounced is not possible.

Key words: spleen, histology, thiotriazolin, echinacea.

Селезінка – це найбільший вторинний лімфоїдний орган в організмі ссавців, що відіграє важливу роль у фільтрації крові та у процесах імунного захисту [2, 3, 12]. Для ефективного виконання своєї функції селезінка організована у різні компартменти, кожен з яких містить свої спеціалізовані клітини та має специфічну мікроархітектуру. Зовні орган вкритий капсулою, що побудована зі сполучної тканини. В товщі селезінки капсула видає трабекули (*trabeculae lienis*), більшість з яких починається у ділянці воріт органу. Біла пульпа селезінки (*pulpa lienalis rubra*) (БП) містить різні зони для Т- та В-лімфоцитів, які забезпечують умови для початку антигенспецифічних імунних реакцій. До її складу входять (1) періартеріальні лімфатичні півхи (ПАЛП), що оточують центральні артерії, (2) лімфатичні вузлики (*folliculi lymphatici lienalis*) (ЛВ) та (3) крайова зона (КЗ), що оточує вище названі ділянки. Червона пульпа селезінки (*pulpa lienalis alba*) (ЧП) складається з селезінкових тяжів (тяжів Більрота) та синусів. Тяжі червоної пульпи сформовані сполучною тканиною з розміщеними тут лімфоцитами, плазматичними клітинами, макрофагами, гранулоцитами, еритроцитами та тромбоцитами.

Толуол (Сas № 108-88-3) – прозора, безбарвна рідина з характерним запахом. В природі толуол зустрічається у сирій нафті та у дереві толу. Він також виробляється при виготовленні бензину та інших видів палива з нафти та при коксуванні кам'яного вугілля. Толуол широко використовується у виробництві фарб, розчинників для фарб, лаків, клеїв, виробів з резини, а в деяких випадках він застосовується у процесах виготовлення шкіряних виробів. Крім того, з толуолом часто контактують працівники, зайняті на виробництві епоксидних смол, спиролу, деяких видів фармацевтичної продукції, поліграфісти, виробники взуття [9].

Вплив хімічних агентів на організм людини призводить до зниження адаптаційних можливостей

організму. Однією з самих ранніх ознак дії вказаних факторів є зміни у імунному статусі, що може бути використано у оцінці стану здоров'я людини.

Важливою проблемою в морфології є також пошук препаратів, які виявляють властивості цитопротекторів та імуномодуляторів. Останніми роками активізувався напрямок досліджень біопотенціалу препаратів, що виготовлені з рослинної сировини, одним з яких є ехінацея пурпурова [11]. Широке застосування цих препаратів викликане тим, що їх можна споживати протягом тривалого часу, вони мають якості адаптогенів, стабілізують гомеостаз, спричиняють активацію антиокислювальних та антирадикальних процесів, здатні до імуностимуляції. Крім того, речовини-протектори з антиоксидантного дію здатні захистити мембрани клітин та зменшити ендогенну токсемію [7]. Тіотриазолін – новий оригінальний препарат вітчизняного виробництва, який останнім часом набув широкого застосування завдяки його антиоксидантним, мембраностабілізуючим та імуномоделюючим властивостям [4, 6].

Метою презентованого дослідження стало вивчення в динаміці морфогенезу селезінки після інгаляційного впливу на організм толуолу та застосуванні у якості коректорів змін структури органу тіотриазоліну та настоянки ехінацеї, а також порівняти між собою дію останніх. Презентована робота виконана у відповідності з планом наукових досліджень ДЗ «Луганський державний медичний університет» та є частиною наукової теми кафедри анатомії людини «Морфогенез органів ендокринної, імунної та кісткової систем під хронічним впливом летучих компонентів епоксидних смол» (номер державної реєстрації – 0109U004615).

Матеріал і методи дослідження. Робота виконана на 90 білих статевонезрілих щурах-самцях з початковою масою тіла 40-50 г. Тварин отримували з виварію ДЗ «Луганський державний медичний університет». Дослідження проводилося у відповідності

до етичних норм та рекомендацій щодо гуманізації роботи з лабораторними тваринами, які відображені у «Європейській конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших цілей» (Страсбург, 1985). Тварини були розділені на три експериментальні серії (по 30 тварин в кожній). Щури І серії зазнавали впливу толуолу у концентрації 500 мг/м³ протягом 60 днів (5 годин/добу, 5 днів/тиждень). Такі умови створювалися за допомогою спеціальної установки, яка складалася з затравочної камери, камери, у якій створювалася необхідна концентрація діючої речовини, датчика толуолу та допоміжного оснащення. Після закінчення вказаного терміну тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом через 1, 7, 15, 30 та 60 днів (1, 2, 3, 4 та 5 групи відповідно), дотримуючись «Методичних рекомендацій з виведення лабораторних тварин з експерименту». Серію І-ТЗ склали щури, які на тлі дії толуолу отримували тіотриазолін, що вводився в порожнину очеревини у дозі 117 мг/кг. Серію І-ЕХ склали тварини, яким на тлі дії толуолу у шлунок за допомогою зонда вводилася настоянка ехінацеї у дозі 0,2 мл/кг. Забір, фіксацію селезінки та виготовлення парафінових блоків з розміщеними в них шматочками органу виконували у відповідності до загальноприйнятих методик. Виготовляли поперечні зрізи селезінки в ділянці воріт органу товщиною 3-4 мкм. Для вивчення структурних компонентів селезінки гістологічні зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином. Деталі гістологічної будови органу вивчали за допомогою цитоморфологічного комплексу на базі мікроскопа Olympus BX 41. Площі різних структурних компонентів селезінки визначали за допомогою програми «Master of Morphology», [5] а кількісні показники обробляли за застосуванням методів варіаційної статистики за допомогою програми «Statistica 6.0». Достовірною вважали статистичну похибку менше 5% ($p < 0,05$). Критичним вважали t -критерій Ст'юдента – 2,23.

Результати дослідження. *Гістологічна будова селезінки статево незрілих щурів, які на тлі впливу толуолу отримували тіотриазолін.* Структура поперечного зрізу селезінки тварин, які на тлі дії толуолу отримували у якості коректора тіотриазолін, на гістологічному рівні має типову для щурів будову. Селезінка вкрита капсулою, що складається з щільної волокнистої сполучної тканини та містить фіброblastи і клітини неспеціалізованої м'язової тканини. Капсула деінде має хвилястий хід та вкрита зовні мезотелієм. В ділянці воріт селезінки та від її поверхонь в товщу органу відходять трабекули. В останніх часто зустрічаються трабекулярні судини – артерії та вени. Трабекулярна артерія, яка залишає трабекулу, під назвою центральна артерія заходить в пульпу. Досить часто на гістологічних препаратах органу ми спостерігали макрофаги та мегакаріоцити. Динаміка змін гістоморфометричних параметрів селезінки щурів, які під час інгаляційного впливу толуолу отримували тіотриазолін, наведена нижче.

Частка БП на гістологічних препаратах селезінки щурів 1 та 2 груп серії І-ТЗ була менше даних відповідних груп І серії на 8,43% ($p=0,211$) та 11,97% ($p=0,045$) відповідно. У тварин, які на тлі дії толуолу отримували у якості коректора тіотриазолін та були виведені з експерименту через 15, 30 та 60 днів після припинення дії толуолу, відсоток БП по відношенню до значень, одержаних у тварин, які коректор не отримували, був менше на 12,05% ($p=0,034$), 13,11% ($p=0,047$) та 15,86% ($p=0,007$).

По відношенню до показників відповідних груп

І серії відносна площа ЧП була більшою в 1 та 2 групах на 9,73% ($p=0,022$) та 14,94% ($p=0,055$), а в 3 та 4 групах – на 11,60% ($p=0,059$) та 19,47% ($p=0,036$) відповідно. У щурів, які були виведені з експерименту через 60 днів після припинення дії толуолу, частка ЧП перевищувала дані, одержані у тварин, які коректор не отримували, на 20,88% ($p=0,010$).

Вищезазначені дані привели до змін співвідношення білої та червоної пульпи. Так, індекс БП/ЧП у тварин 3 та 4 груп, які на тлі дії толуолу отримували у якості коректора тіотриазолін, коливався у межах від 0,78 до 1,04. Дія тіотриазоліну знижувала цей індекс на 17,89% ($p=0,155$) та 22,00% ($p=0,031$) в 1 та 3 групах щурів відповідно. Частка сполучної тканини змінювалася незначною мірою. Під дією коректора зазначений показник в переважній більшості випадків був більше значень серії І.

Площа, яку займала периартеріальна область (ПАО) у структурі ПЛАП, перевищувала відповідні дані І серії в 1 та 2 групах на 5,83% ($p=0,492$) та 21,85% ($p=0,239$), а в 3 та 4 – на 21,17% ($p=0,255$) та 6,77% ($p=0,258$). Через 60 днів після припинення дії толуолу ПЛАП була більше значень І серії на 10,04% ($p=0,117$).

Дія тіотриазоліну привела до зменшення відсотку площі, яку займав гермінативний центр (ГЦ) у структурі ЛВ у порівнянні з даними, одержаними у тварин, які коректор не отримували, на 4,98% ($p=0,392$) та 7,58% ($p=0,263$) через 1 та 7 днів після припинення дії толуолу. Частка МнЗ у структурі лімфоїдного вузлика тварин була більшою за дані І серії на 4,12% ($p=0,553$) та 28,58% ($p < 0,001$) в 1 та 4 групах відповідно. Площа КЗ вузлика в 1, 2 та 3 групах тварин серії І-ТЗ виявилася менше значень І серії на 1,19% ($p=0,808$), 9,76% ($p=0,023$) та 6,43% ($p=0,182$) відповідно.

Гістологічна будова селезінки статево незрілих щурів, які на тлі впливу толуолу отримували настоянку ехінацеї. Селезінка статево незрілих щурів серії І-ЕХ має гістологічну будову, характерну для цього виду тварин. Крім іншого, слід зазначити, що біла пульпа представлена ПЛАП та лімфатичними вузликами. Останні поділяються на ПАВ та ВАВ. Вторинні лімфатичні вузлики мають більш світлий (за рахунок меншої щільності розташування клітин, основу яких становлять великі лімфоцити, фолікулярні дендритні клітини та макрофаги) гермінативний центр та темну МнЗ. Остання відокремлена від КЗ за допомогою крайового синуса. ПЛАП і ЛВ разом оточені КЗ, яка містить велику кількість ретикулярних клітин, середніх лімфоцитів та невелику кількість великих лімфоцитів. По периферії КЗ продовжується в ЧП, але межа між ними залишається досить чіткою. На зрізах ЦА дуже гарно видно всі шари, типові для артерії еластичного виду.

Частка БП на гістологічних препаратах селезінки щурів, які на тлі дії толуолу отримували настоянку ехінацеї, була нижче даних відповідних груп І серії на 8,43% ($p=0,285$) та 11,97% ($p=0,059$) – через 1 та 7 днів після припинення дії толуолу та на 12,05% ($p=0,009$) та 13,11% ($p=0,075$) – через 15 та 30 днів.

Через 1, 7 та 15 днів після припинення дії толуолу та введення настоянки ехінацеї у якості коректора показник площі ЧП перевищував дані, одержані у тварин, які коректор не отримували, на 9,73% ($p=0,325$), 14,94% ($p=0,067$) і 11,60% ($p=0,010$). В 4 та 5 групах тварин зазначений показник був вище значень відповідних груп серії І на 19,47% ($p=0,072$) та 20,88% ($p=0,018$). Збільшення відносної площі білої пульпи привело до зниження індексу БП/ЧП у щурів серії І-ЕХ по відношенню до значень І серії. Так, індекс в 1

та 2 групах серії I-EX склав 1,04 та 0,99, що на 15,45% ($p=0,324$) та 22,05% ($p=0,114$) нижче значень, одержаних у тварин, які коректор не отримували. Значення площі, яку сполучна тканина займала на гістологічних препаратах були такими, що статистично вірогідно не відрізнялися від даних, отриманих в I серії.

Ведення шурам ехінацеї на тлі дії толуолу привело до зменшення відносної площі ГЦ по відношенню до показників серії I на 8,11% ($p<0,001$), 5,09% ($p=0,333$) та 4,92% ($p=0,261$) через 15, 30 та 60 днів після припинення дії зазначених чинників. У той же час ми спостерігали перевищення значень відносної площі МнЗ даних серії I у відповідних групах на 13,68% ($p=0,249$), 16,22% ($p=0,003$) та 23,88% ($p<0,001$) (рис.).

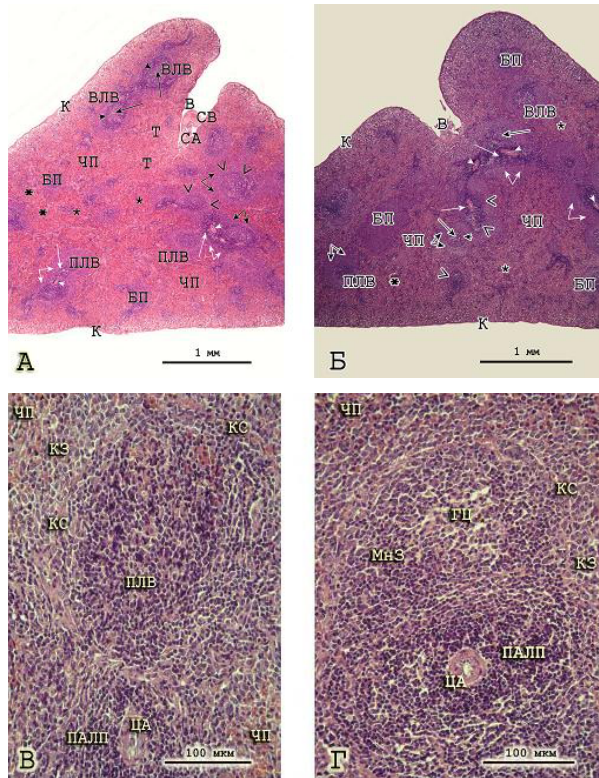


Рис. А і В – селезінка шура 2 групи серії I-T3 ; Б і Г - селезінка шура 2 групи серії I-EX. БП – біла пульпа, ЧП – червона пульпа, ПААП і довга біла стрілка – периартеріальна лімфатична піхва, ПЛВ і ВЛВ – первинні та вторинні лімфатичні вузлики, ЛВ – лімфатичний вузлик, В – ворота, К – капсула, КС і > - крайовий синус, ГЦ і довга чорна стрілка – гермінативний центр, МнЗ і коротка чорна стрілка – мантіїна зона, КЗ – крайова зона, подвійна чорна стрілка – крайова зона вузлика, подвійна біла стрілка - крайова зона ПААП, ЦА і коротка біла стрілка – центральна артерія, СА і СВ – селезінкові артерії та вена, * - ділянки екстрамедулярного кровотворення, * - трабекулярна артерія.

Обговорення. Джерелом надходження толуолу до навколишнього середовища є фарби, розчинники для фарб, клеї, лаки (у тому числі і для нігтів), бензин та інше. Крім того, підвищеного ризику зазнають деякі групи людей, які піддаються впливу толуолу професійно. При синтезі епоксидних смол та їх використанні у виробництві для виготовлення склопластику та інших полімерних матеріалів робітники зазнають постійного інтенсивного впливу переважно легких хімічних речовин (епіхлоргідрин, толуол, дифенілол-пропан та ін.), вміст яких у повітрі робочої зони значно перевищує гранично допустимі концентрації [1], що створює умови для гострих і хронічних професійних інтоксикацій [8].

Толуол – розповсюджений розчинник (третій клас небезпеки), який при випаровуванні легко по-

трапляє в кров через легені і розповсюджується по всьому організму і накопичується переважно у ліпофільних ділянках [10]. Він може потрапляти до нирок, печінки, селезінки і головного мозку [13]. Толуол збільшує продукцію радикалів кисню, що є основним механізмом, відповідальним за ушкодження клітин під час експозиції толуолу [14].

У нашому дослідженні було встановлено, що завдяки введенню шурам, які зазнавали впливу толуолу, лікарських речовин у вигляді тіотриазоліну та настоянки ехінацеї у селезінці відбувається зменшення відсоткового вмісту БП. Під дією коректорів також зменшується площа гермінативних центрів ЛВ та крайової зони. Таку дію коректорів ми пов'язуємо з їх протекторними властивостями, які запобігають розвитку процесів перекисного окислення ліпідів і, тим самим, знижують утворення ендогенних антигенів, у тому числі і корпускулярних, які можуть стимулювати гіперплазію лімфоїдної тканини.

Висновки: (1) Введення шурам на тлі інгаляційного впливу толуолу тіотриазоліну та настоянки ехінацеї в цілому дещо зменшує зміни гістологічної будови селезінки, викликані експозицією толуолу. (2) Різниця між гістоморфометричними ефектами тіотриазоліну та настоянки ехінацеї є незначною, тому виділити вплив одного з коректорів, як більш виражений, не можна.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні змін у селезінці за умов, що описані у представленій роботі, на ультрамікроскопічному рівні.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Вітрищак В.Я. Гепатотоксические и иммунные нарушения у работающих с эпоксидными композициями, их раннее выявление, коррекция и первичная профилактика: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Ростов-на-Дону, 1990. – 26с.
2. Кащенко С.А. Взаимосвязь морфогенеза костного скелета с органами иммунной системы при иммуностимуляции и иммуносупрессии в онтогенезе (анатомо-экспериментальное исследование) / С.А. Кащенко // Дис... д-ра мед. наук. - 14.03.01. - Луганск, 2004. - 491 с.
3. Ковешников В. Г. Функциональная морфология органов иммунной системы // Ковешников В.Г., Бибики Е.Ю. – Луганск: «Виртуальная реальность», 2007. – 172 с.
4. Мазур И.А. Тиотриазолин / И. А. Мазур, Н. А. Волошин, И. С. Чекман и др. // Запорожье-Львов, 2005 — 144 с.
5. Овчаренко В.В. Компьютерна програма для морфометричних досліджень «Master of Morphology» / В.В.Овчаренко, В.В. Маврич // Свід. про реєстрацію авт. права на винахід № 9604, дата реєстрації 19.03.2004.
6. Фоміна К.А. Динамика массы тела, массы мозга половозрелых крыс и органомерических показателей гипофиза после двухмесячного воздействия тиотриазолина / К.А. Фоміна, В.В. Сікорка // Вісник СумДУ. Серія Медицина. – 2009. – Том 2, №2. – С. 34-39.
7. Шамало С.М. Вплив тиотриазоліну на регенерацію периферійного нерва за умов довготривалого мікромеркуріалізму / С.М. Шамало, Ю.Б. Чайковський, А.В. Корсак // Вісник морфології. – 2010. - №16(1). – С. 99-102.
8. Шевченко А.М. Профилактика профинтоксикаций при производстве и применении эпоксидных смол / А.М. Шевченко, А.П. Яворовский // К.: Здоров'я, 1985. – 96 с.
9. 4: Final report on the safety assessment of toluene // International Journal of Toxicology. - 1987. - Volume 6, Number 1. – P. 77-120.
10. 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.
11. Block K. Mead Immune system effects of echinacea, ginseng, and astragalus: a review / K. Block, N. Mark // Int. cancer ther. 2003. - № 2. – P. 247-267.
12. Cesta Mark F. Normal structure, function, and histology of the spleen / Mark F. Cesta // Toxicol. Pathol. – 2006. - № 34. – P. 455-465.
13. Fuke C. Postmortem diffusion of ingested and aspirated painter thinner / C. Fuke, C.L. Berry, D.J. Pounder // Forens. Scien. Int. – 1996. - №78. – P. 199–207.
14. Halifeoglu I. Effect of thinner inhalation on lipid peroxidation and some antioxidant enzymes of people working with paint thinner / I. Halifeoglu, H. Canatan, B. Ustundag et al. // Cell bioch. function. – 2000. - №18. – P. 263–267.

Надійшла 14.09.2011 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін