

УДК:591.445:57.044

## А.Н. Скоробогатов, В.И. Лузин ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ 60-ДНЕВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПАРОВ ЭПИХЛОРИДРИНА НА ФАЗОВЫЙ СОСТАВ БИОМИНЕРАЛА ТАЗОВОЙ КОСТИ И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО КОРРЕКЦИИ

Государственное учреждение «Луганский государственный медицинский университет»

**Скоробогатов А.Н., Лузин В.И.** Возрастные особенности влияния 60-дневного воздействия паров эпихлоридрина на фазовый состав биоминерала тазовой кости и возможности его коррекции // Украинський морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 3. – С. 55-59.

60-дневное воздействие паров эпихлоридрина с экспозицией 5 часов в 10 ПДК сопровождается увеличением степени аморфности костного биоминерала, выраженность и темпы восстановления которого зависят от возраста подопытных животных. Быстрее всего показатели восстанавливались у неполовозрелых крыс, в период инволютивных изменений восстановление было минимальными. Применение на фоне ингаляций эпихлоридрина тиотриазолина в дозировке 117,4 мг/кг массы либо настойки эхинацеи пурпурной из расчёта 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы сопровождалось сглаживанием выявленных изменений. Использование тиотриазолина было более эффективным, чем применение эхинацеи.

**Ключевые слова:** кости, эпихлоридрин, биоминерал, фазовый состав.

Скоробогатов А.М., Лузин В.І. Вікові особливості впливу 60-денної дії парів епіхлорідрина на фазовий склад біомінерала кульшової кістки та можливості його корекції // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 3. – С. 55-59.

60-денний вплив парів епіхлорідрина з експозицією 5 годин в 10 ГДК супроводжується збільшенням ступеня аморфності кісткового біомінерала, виразність і темпи відновлення якого залежать від віку піддослідних тварин. Найшвидше показники відновлювалися у нестатевозрілих щурів, в період інволютивних змін відновлення було мінімальними. Застосування на тлі інгаляцій епіхлорідрина тиотриазоліна в дозуванні 117,4 мг / кг маси або настоянки ехінацеї пурпурової з розрахунку 0,1 мг сухої речовини на 100 г маси супроводжувалося згладжуванням виявлених змін. Використання тиотриазоліну було більш ефективним, ніж застосування ехінацеї.

**Ключові слова:** кістки, епіхлорідрин, біомінерал, фазовий склад

**Skorobogatov A. N., Lusin V.I.** Age peculiarities of influence of the 60-day exposure to epichlorhydrin vapor on phase composition of hip bone biomineral and the possibility of it's correction // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 3. – С. 55-59.

60-days of the epichlorhydrine inhalations in dosage of 10 MPC as a single 5-hour exposure per day caused the amorphity of the bone biominerals with the dose- and age-dependent mode. Reparation of the bone mineral status was possible in young organisms, but in older age groups changes have become unimproved. Administration of the thiotriazoline in dosage of 117.4 mg per kg of body weight or tinctura of Echinacea Purpurea in dosage of 0.1 mg of active substance per 100 grams of body weight prevents the distortion of the bony biominerals after the 60-days influence of the epichlorhydrine vapors, but the thiotriazoline has much more reparative potency.

**Key words:** bones, epichlorohydrin, biomineral, phase composition.

**Введение.** Эпоксидные смолы применяются в авто- и судостроении, нефтяной промышленности, а также используются для получения лакокрасочных покрытий и клеев [3]. Одним из главных сырьевых продуктов при производстве эпоксидных смол является эпихлоридрин (ЭХГ), который обладает выраженными раздражающими и сенсibilизирующими свойствами [12]. Доказана также высокая мутагенность ЭХГ, которая проявляется значительным повышением хромосомных aberrаций, что напрямую связано с продолжительностью действия токсического фактора [10].

Доказано, что длительное воздействие паров ЭХГ сопровождается негативным влиянием на морфогенез органов иммунной, половой и костной систем [1, 2, 6]. Однако, сведения

о том, как длительное воздействие ЭХГ влияет на фазовый состав костного биоминерала в возрастном аспекте, в доступной литературе отсутствуют.

Поэтому **целью исследования** явилось установить особенности фазового состава биоминерала тазовой кости у белых крыс различного возраста после 60-ти дневного ингаляционного воздействия паров ЭХГ, а также обосновать возможности коррекции выявленных изменений тиотриазолином и настойкой эхинацеи пурпурной.

Работа была выполнена в рамках плана научных исследований ГУ «Луганский государственный медицинский университет» и является составной частью научно-исследовательской работы кафедры анатомии человека «Морфогенез органов эндокринной, иммун-

ной и костной систем под хроническим влиянием летучих компонентов эпоксидных смол» (государственный регистрационный номер №0109U00461).

**Материал и методы исследования.** Эксперимент был проведен на 420 белых крысах-самцах трех возрастных групп (неполовозрелых, половозрелых и периода инволютивных изменений), полученных из вивария ГУ "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) [11].

1-ю группу составили крысы (контрольная группа), которым внутрибрюшинно вводили эквивалентное по объему количеству изотонического физиологического раствора в течение 2 месяцев. 2-я группа – крысы, которые ежедневно на протяжении двух месяцев в установке для ингаляционного введения веществ получали ингаляции ЭХГ с единоразовой экспозицией 5 часов в 10 ПДК (ГОСТ 12. 1. 005 – 88) [7]. 3-я группа – животные, которые ежедневно на протяжении двух месяцев на фоне ингаляций ЭХГ получали внутрибрюшинно ампулярный 2,5% раствор тиотриазолина в дозе 117,4 мг/кг (производство АТ «Галичфарм», г. Львов). 4-я группа – крысы, которые на протяжении двух месяцев ежедневно на фоне ингаляций ЭХГ 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). Расчёт дозировки вводимых препаратов производили с учётом рекомендаций Ю.Р. и Р.С. Рыболовлевых [9].

Крыс выводили из эксперимента на 1, 7, 15, 30, 60 сутки после завершения двухмесячного воздействия ЭХГ посредством декапитации под эфирным наркозом. Выделяли тазовые кости и исследовали методом рентгеноструктурного анализа. Исследование порошка костного вещества, полученного в агатовой ступке, проводили на аппарате ДРОН-2,0 с гониометрической приставкой ГУР-5. Использовали К $\alpha$  излучение меди с длиной волны 0,1542 нм; напряжение и сила анодного тока составляли соответственно 30 кВ и 20 А. Дифрагированные рентгеновские лучи регистрировали в угловом диапазоне от 2° до 37° со скоростью записи 1° в 1 минуту [8]. На полученных дифрактограммах исследовали фазовый состав биоминерала тазовых костей по методике внутреннего контроля [5]. Определяли объемное содержание кристаллического фосфата кальция – гидроксилпатита, а также содержание аморфного фосфата кальция ( $\beta$ -трикальцийфосфата либо витлокита) и карбоната кальция (кальцита).

Все полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [4].

**Результаты и их обсуждение.** Оценка полученных результатов во всех случаях проводилась при обязательном сопоставлении с аналогичными показателями контрольных одновозрастных животных.

За период с 1 по 60 день наблюдения у неполовозрелых контрольных крыс содержание витлокита и кальцита в биоминерале тазовой кости уменьшилось с  $14,01 \pm 0,26\%$  до  $13,65 \pm 0,20\%$ , и с  $19,62 \pm 0,29\%$  до  $16,98 \pm 0,37\%$ , а содержание гидроксилпатита увеличилось с  $66,37 \pm 0,34\%$  до  $69,37 \pm 0,46\%$ .

В репродуктивный возрастной период с 1 по 60 день наблюдения процентное содержание гидроксилпатита в биоминерале тазовой кости продолжало увеличиваться с  $71,63 \pm 0,43\%$  до  $72,30 \pm 0,27\%$ . Процентное содержание в костном биоминерале аморфных составляющих – витлокита и кальцита – в ходе наблюдения соответственно уменьшалось с  $13,26 \pm 0,21\%$  до  $12,97 \pm 0,20\%$ , и с  $15,11 \pm 0,48\%$  до  $14,73 \pm 0,25\%$ .

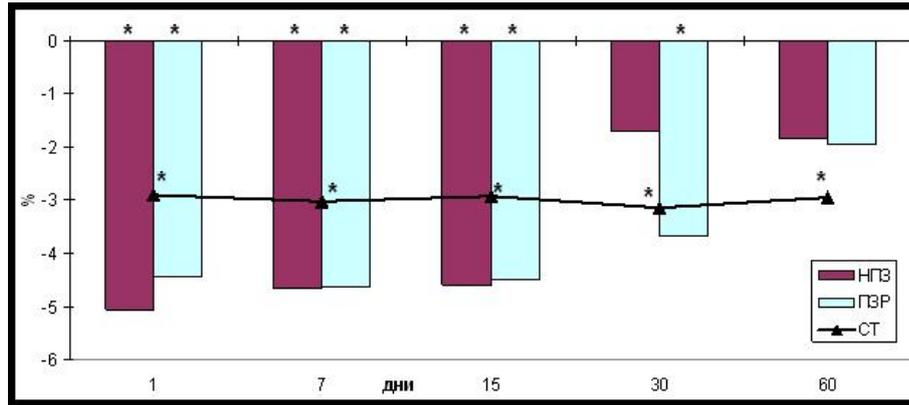
У контрольных животных старческого возраста содержание витлокита в ходе наблюдения увеличивалось с  $12,61 \pm 0,12\%$  до  $13,76 \pm 0,26\%$ , а содержание кальцита – с  $16,25 \pm 0,40\%$  до  $17,42 \pm 0,30\%$ . При этом содержание гидроксилпатита уменьшалось с  $71,13 \pm 0,46\%$  до  $68,82 \pm 0,36\%$ .

Полученные результаты свидетельствуют об увеличении степени кристаллизации костного биоминерала у неполовозрелых и половозрелых животных контрольной группы и об увеличении степени его аморфности в инволютивный возрастной период, является проявлением первичного возрастзависимого остеопороза.

Ингаляционное ежедневное воздействие паров ЭХГ на протяжении двух месяцев сопровождалось увеличением степени аморфности биоминерала тазовой кости. Выраженность изменений при этом зависела от возраста подопытных животных.

На 1 день после окончания воздействия условий 2-й группы на неполовозрелых крыс содержание витлокита и кальцита в биоминерале тазовой кости было больше значений 1-й группы на 10,63% и 9,15%, а содержание гидроксилпатита – меньше на 4,95% (рис. 1).

В период реадaptации содержание витлокита в биоминерале тазовой кости во все установленные сроки наблюдения было больше значений 1-й группы соответственно на 11,93%, 11,02%, 9,50% и 5,28%, а содержание гидроксилпатита – меньше на 4,52%, 4,15%, 3,57% и 2,16%. При этом больше контрольного было и содержание кальцита с 7 по 30 день наблюдения – соответственно на 8,10%, 8,00% и 6,87%.



**Рис. 1.** Динамика содержания гидроксилапатита в биоминерале тазовой кости у белых крыс после воздействия паров эпихлоргидрина в зависимости от возраста животных и длительности периода реадaptации (в % по отношению к контрольной группе).

**Примечание:** \* - здесь и далее обозначает достоверное отличие от группы сравнения ( $p < 0,05$ );

НПЗ – неполовозрелые животные;

ПЗР – половозрелые животные;

СТ – крысы периода инволютивных изменений.

На 1 день после окончания воздействия паров ЭХГ на половозрелых животных в составе биоминерала тазовой кости содержание аморфных фаз (витлокита и кальцита) было больше значений 1-й группы на 10,29% и 15,60%, а содержание гидроксилапатита – меньше на 5,20%.

В период реадaptации у половозрелых крыс в костном биоминерале процентное содержание гидроксилапатита было меньше значений 1-й группы во все сроки наблюдения соответственно на 4,84%, 4,05%, 4,10% и 2,56%. При этом содержание витлокита и кальцита также во все установленные сроки наблюдения было больше значений 1-й группы соответственно на 9,46%, 10,08%, 9,72% и 6,52%, и на 14,43%, 15,09%, 16,51% и 6,84%.

У животных старческого возраста на 1 день после окончания воздействия паров ЭХГ на организм содержание в костном биоминерале витлокита и кальцита было больше значений 1-й группы на 6,48% и 8,64%, а содержание гидроксилапатита – меньше на 3,12%.

В период реадaptации после воздействия паров ЭХГ на инволютивных белых крыс содержание витлокита было больше значений 1-й группы во все сроки наблюдения на 5,96%, 4,96%, 6,02% и 5,67%, а содержание кальцита – на 10,09%, 11,44%, 9,26% и 11,81%. Также во все установленные сроки периода реадaptации содержание в костном биоминерале гидроксилапатита было меньше контрольного на 3,37%, 3,59%, 3,42% и 4,12%.

Таким образом 60-дневное воздействие паров ЭХГ на организм подопытных животных сопровождалось дестабилизацией фазового состава биоминерала тазовой кости. У неполовозрелых животных изменения постепенно сглаживались и на 60 день наблюдения сохранялись единичные отличия от контроля, у половозрелых животных изменения сохра-

нялись на одном уровне до 30 дня наблюдения, а в инволютивный возрастной период восстановление не происходило.

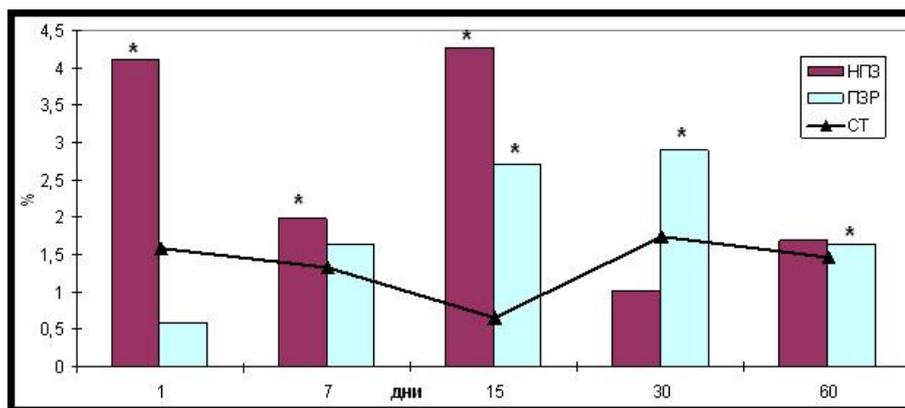
С целью коррекции выявленных изменений нами были использованы раствор тиотриазолина и настойка эхинацеи пурпурной.

Введение подопытным животным внутрибрюшинно 2,5% раствора тиотриазолина в дозировке 117,4 мг/кг на фоне ингаляций парами ЭХГ, сопровождалось сглаживанием выявленных изменений.

При сравнении с результатами рентгеноструктурного анализа костного биоминерала неполовозрелых животных 2-й группы установили, что на 1 день после окончания воздействия условий 3-й группы содержание витлокита и кальцита было меньше значений 2-й группы на 5,37% и 6,90%, а содержание гидроксилапатита – больше на 3,66% (рис. 2). При этом с 15 по 60 день наблюдения процентное содержание гидроксилапатита было больше значений 2-й группы соответственно на 3,67%, 2,39% и 2,07%, а содержание витлокита на 15 и 30 день – меньше на 7,37% и 4,99%.

У половозрелых животных 3-й группы содержание витлокита было меньше показателей 2-й группы на 7 и 30 день наблюдения на 3,16% и 7,05%, а процентное содержание кальцита – с 15 по 60 день на 7,02%, 11,27% и 6,18%. Содержание гидроксилапатита также с 15 по 60 день наблюдения было больше значений 2-й группы соответственно на 2,92%, 4,36% и 2,22%.

Наконец, у инволютивных животных 3-й группы эксперимента содержание в костном биоминерале гидроксилапатита было больше значений 2-й группы на 30 и 60 день наблюдения на 2,56% и 3,70%, а содержание витлокита и кальцита на 60 день – меньше на 5,09% и 7,74%.



**Рис. 2.** Динамика содержания гидроксилапатита в биоминерале тазовой кости у белых крыс после применения тиотриазолина на фоне воздействия паров эпихлоргидрина в зависимости от возраста животных и длительности периода реадaptации (в % по отношению к 2-й группе).

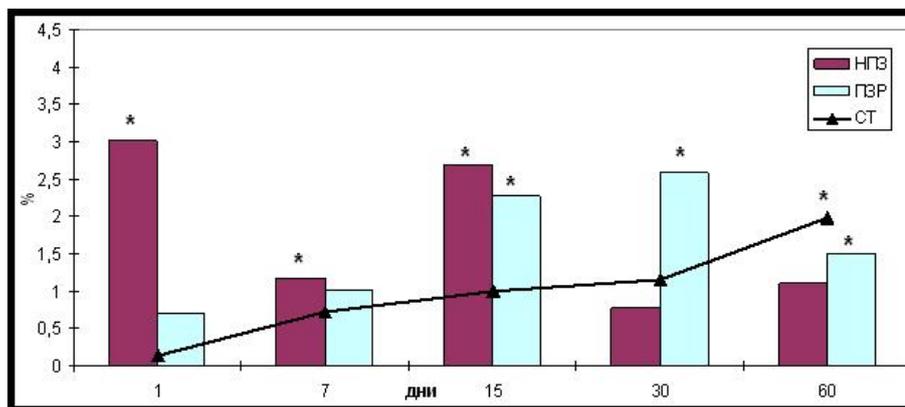
Таким образом, применение тиотриазолина на фоне воздействия на подопытных животных паров ЭХГ в дальнейшем сопровождается сглаживанием негативного влияния условий эксперимента на фазовый состав биоминерала тазовых костей, что проявляется в увеличении степени кристаллизации. У неполовозрелых и половозрелых крыс эти явления наблюдаются в период всего наблюдения, а в инволютивный возрастной период – на 30 и 60 день реадaptации.

Внутрижелудочное ежедневное введение настойки эхинацеи пурпурной из расчёта 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы крысы одновременно с ингаляцией ЭХГ также сглаживало негативное влияние паров ЭХГ на фазовый состав биоминерала тазовых костей, но

несколько меньше, чем введение тиотриазолина.

У неполовозрелых крыс 4-й группы эксперимента на 15 и 30 день наблюдения содержание в костном биоминерале витлокита и кальция было меньше значений 2-й группы соответственно на 7,37% и 7,11%, и на 7,13% и 4,80%, а содержание гидроксилапатита – больше на 3,67% и 2,68% (рис. 3).

Процентное содержание витлокита и кальция в биоминерале тазовой кости половозрелых крыс на 30 и 60 день наблюдения было меньше значений 2-й группы соответственно на 4,68% и 4,80%, и на 8,44% и 5,30%, а содержание гидроксилапатита было больше контрольного на 3,135 и 2,13%.



**Рис. 3.** Динамика содержания гидроксилапатита в биоминерале тазовой кости у белых крыс после применения настойки эхинацеи пурпурной на фоне воздействия паров эпихлоргидрина в зависимости от возраста животных и длительности периода реадaptации (в % по отношению к 2-й группе).

Наконец, у подопытных животных старческого возраста 4-й группы эксперимента содержание в биоминерале тазовой кости витлокита было меньше показателей 2-й группы на 30 и 60 день наблюдения на 2,92% и 3,83%. Также на 60 день содержание кальция было меньше значений 2-й группы на 6,49%, а содержание гидроксилапатита было больше на 2,76%.

Таким образом, применение настойки эхинацеи пурпурной на фоне воздействия на подопытных животных паров ЭХГ в дальнейшем сопровождается сглаживанием негативного влияния условий эксперимента на фазовый состав биоминерала тазовых костей, что проявляется в оптимизации его фазового состава. У неполовозрелых крыс это проявляется на 15 и 30 день наблюдения, а у половозрелых и

инволютивных - на 30 и 60 день. Эффективность применения настойки эхинацеи пурпурной в целом была ниже, чем эффективность применения тиотриазолина

#### **Выводы.**

1. После 60-дневного ингаляционного воздействия паров ЭХГ наблюдается увеличение степени аморфности биоминерала тазовой кости у белых крыс различного возраста.

2. В период реадаптации после воздействия паров ЭХГ темпы восстановления ультраструктуры и фазового состава биоминерала тазовой кости зависели от возраста подопытных животных. Быстрее всего эти показатели восстанавливались у неполовозрелых крыс, в период инволютивных изменений эти явления были минимальными.

3. Применение на фоне ингаляций ЭХГ тиотриазолина либо настойки эхинацеи пурпурной сопровождалось сглаживанием негативного влияния ЭХГ на фазовый состав биоминерала тазовой кости. Использование тиотриазолина было более эффективным, чем применение эхинацеи.

**Перспективы дальнейших исследований.** Выявленные методом рентгеноструктурного анализа изменения фазового состава биоминерала тазовой кости после длительного воздействия паров ЭХГ требуют выяснения основных механизмов их возникновения. С этой целью планируется исследование макро- и микроэлементного состава костей подопытных животных в условиях нашего эксперимента.

#### **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:**

1. Волошин В.М. Морфологічні зміни тиму-су статево незрілих білих щурів після інгаляційного впливу епіхлоргідрину та можливість їх корекції тиотриазоліном / В.М. Волошин // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 1. – С. 118-121.
2. Волошина І.С. Ефекти інгаляційного впливу епіхлоргідрину на сім'яники статево незрілих щурів / І.С. Волошина // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 62-64.
3. К вопросу о нормировании модифицированной эпоксидной смолы марки УП-666-4 в

воздухе рабочей зоны / Т. Е. Теплова, Е. В. Богатырева, Я. Б. Ли, И. В. Василенко, В. В. Мухин // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2005. - № 2. – С.84-88.

4. 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.

5. Лузин В.И. Применение рентгеноструктурного анализа для исследования фазового состава костного минерала / В.И. Лузин // Український морфологічний альманах. – 2005. - Том 3, №4. – С. 61-64.

6. 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.

7. Майданюк О.О. Вплив побутової хімії та шкідливих речовин на організм людини / О.О. Майданюк // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2011. – № 1. – С. 166-167.

8. Миркин Л.И. Рентгеноструктурный анализ. Индексирование рентгенограмм: справочное руководство / Миркин Л.И. – М.: Наука, 1981. – 496 с.

9. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Том 247, № 6. – С. 1513-1516.

10. Draft for NIOSH review. Skin Notation (SK) Profile for Epichlorohydrin, 1997. - 23 p.

11. Epichlorohydrin in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. - World Health Organization, 2004. –15 p.

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.

*Надійшла 11.03.2014 р.*

*Рецензент: проф.. В.А.Пастухова*