

УДК:591.445:57.044

## А.Н. Скоробогатов ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ БИОМИНЕРАЛА ТАЗОВОЙ КОСТИ ПОСЛЕ 60-ДНЕВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОРГА- НИЗМ ПАРОВ ЭПИХЛОРИДИНА

*Государственное учреждение «Луганский государственный медицинский университет»*

**Скоробогатов А.Н.** Возрастные особенности ультраструктуры биоминерала тазовой кости после 60-дневного воздействия на организм паров эпихлоргидрина // Украинський морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 4. – С. 95-99.

60-дневное воздействие паров эпихлоргидрина с экспозицией 5 часов в 10 ПДК сопровождается дестабилизацией кристаллической решетки костного биоминерала, выраженность и темпы восстановления которой зависят от возраста подопытных животных. Быстрее всего размеры кристаллитов и коэффициент микротекстурирования восстанавливались у неполовозрелых крыс, в период инволютивных изменений восстановление было минимальными. Применение на фоне ингаляций эпихлоргидрина 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, эпихлоргидрин, биоминерал, ультраструктура.

**Скоробогатов А.М.** Вікові особливості ультраструктури біомінерала кульшової кістки після 60-денної дії на організм парів епіхлоргідріна // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 4. – С. 95-99.

60-денний вплив парів епіхлоргідріна з експозицією 5 годин в 10 ГДК супроводжується дестабілізацією кристалічної решітки кісткового біомінерала, виразність і темпи відновлення якої залежать від віку піддослідних тварин. Найшвидше розміри кристалітів та коефіцієнт микротекстуривання відновлювалися у статевонезрілих щурів, в період інволютивних змін відновлення було мінімальним. Застосування на тлі інгаляцій епіхлоргідріна 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, епіхлоргідрин, біомінерал, ультраструктура.

**Skorobogatov A.N.** Age peculiarities of hip bone biomineral ultrastructure after influence of the 60-day exposure to epichlorhydrin vapor on organism // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 4. – С. 95-99.

60-days of the epichlorhydrine inhalations in dosage of 10 MPC as a single 5-hour exposure per day caused the destabilization of bone biominerals with the dose- and age-dependent mode. Reparation of the bone mineral status (microtexturation and scattering blocks) 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, epichlorohydrine, biomineral, ultrastructure.

**Введение.** Костная система активно реагирует на воздействие самых различных факторов окружающей среды. Одним из таких факторов в настоящее время являются эпоксидные смолы [6].

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 эпихлоргидрин (ЭХГ), который обладает выраженными раздражающими и sensibilizing свойствами [12]. Доказана также высокая мутагенность ЭХГ, которая проявляется значительным повышением хромосомных aberrаций,

что напрямую связано с продолжительностью действия токсического фактора [11].

Доказано, что длительное воздействие паров ЭХГ сопровождается негативным влиянием на морфогенез органов иммунной, половой и костной систем [1, 2, 5]. Известно также, что после длительного воздействия паров эпихлоргидрина нарушается фазовый состав костного биоминерала [10]. Однако, сведения о том, как длительное воздействие ЭХГ влияет на ультраструктуру кристаллической решетки костного биоминерала в возрастном аспекте, в доступной литературе отсутствуют.

Поэтому **целью исследования** явилось установить особенности ультраструктуры кристаллической решетки 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, иммунной 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, использующихся для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986) [13].

1-ю группу составили крысы (контрольная группа), которым внутрибрюшинно вводили эквивалентное по объему количество 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) [12]. 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 внутривентрикулярной зонды настойку эхинацеи пурпурной из расчета 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы крысы (производство "ЗАТ" Фармацевтическая фабрика "Виола", г. Запорожье). Расчет 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. Ис-

пользовали 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 [7].

На полученных дифрактограммах исследовали наиболее выраженные дифракционные пики, по угловому положению которых рассчитывали размеры блоков когерентного рассеивания по уравнению Селякова-Шерера и коэффициент микротекстурирования по методу соотношения рефлексов [8]. Также производили расчет параметров элементарных ячеек костного биоминерала.

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

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

В ходе наблюдения размеры элементарных ячеек биоминерала тазовой кости вдоль оси *a* у неполовозрелых животных увеличивались с  $9,360 \pm 0,002 (10^{-10})$  М до  $9,380 \pm 0,005 (10^{-10})$  М, а размеры вдоль оси *c* – с  $6,824 \pm 0,002 (10^{-10})$  М до  $6,843 \pm 0,002 (10^{-10})$  М. При этом соотношение размеров элементарных ячеек *c/a* в ходе наблюдения оставалось практически неизменным и колебалось в пределах 72,91-72,96 у.е. Увеличивались у неполовозрелых животных контрольной группы в ходе наблюдения и размеры блоков когерентного рассеивания – с  $36,23 \pm 0,58$  нМ до  $41,64 \pm 0,85$  нМ. Коэффициент микротекстурирования костного биоминерала при этом также возрастал – с  $0,3140 \pm 0,0094$  у.е. до  $0,3862 \pm 0,0142$  у.е.

У половозрелых животных ходе наблюдения, с 1 по 60 день, размеры элементарных ячеек биоминерала тазовой кости вдоль осей *a* и *c* увеличивались соответственно с  $9,380 \pm 0,001 (10^{-10})$  М до  $9,383 \pm 0,003 (10^{-10})$  М, и с  $6,839 \pm 0,003 (10^{-10})$  М до  $6,852 \pm 0,001 (10^{-10})$  М. В результате соотношение размеров элементарных ячеек *c/a* в ходе наблюдения также несколько увеличивалось – с  $72,92 \pm 0,03$  у.е. до  $73,03 \pm 0,02$  у.е. Вместе с этим за период с 1 по 60 день наблюдения размеры блоков когерентного рассеивания костного биоминерала увеличивались с  $40,57 \pm 0,54$  нМ до  $43,94 \pm 0,49$  нМ, а коэффициент микротекстурирования возрастал с  $0,3942 \pm 0,0068$  у.е. до  $0,4262 \pm 0,0045$  у.е.

В период инволютивных изменений в ходе наблюдения размеры элементарных ячеек биоминерала тазовой кости вдоль оси *a* увеличивались с  $9,394 \pm 0,001 (10^{-10})$  М до  $9,403 \pm 0,002 (10^{-10})$  М.

<sup>10)</sup> М, а размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* – с  $6,862 \pm 0,002$  ( $10^{-10}$ ) М до  $6,879 \pm 0,001$  ( $10^{-10}$ ) М. также, соотношение размеров элементарных ячеек *c/a*, характеризующее степень их симметрии, за период с 1 по 60 день наблюдения увеличилось с  $73,05 \pm 0,03$  у.е. до  $73,16 \pm 0,02$  у.е.

Также, в ходе наблюдения у контрольных крыс старческого возраста увеличивались и размеры блоков когерентного рассеивания, что свидетельствует об уменьшении общей обменной поверхности: с  $48,33 \pm 0,71$  нМ до  $51,64 \pm 0,68$  нМ. Коэффициент микротекстурирования при этом с 1 по 60 день наблюдения уменьшался от  $0,4034 \pm 0,0042$  у.е. до  $0,3401 \pm 0,0038$  у.е.

Полученные результаты свидетельствуют об увеличении степени упорядоченности кристаллической решетки у неполовозрелых и половозрелых животных контрольной группы и об ее дестабилизации в инволютивный возрастной период, является проявлением первичного возрастзависимого остеопороза.

Ингаляционное ежедневное воздействие паров ЭХГ на протяжении двух месяцев сопровождалось дестабилизацией кристаллической решетки биоминерала тазовой кости. Выраженность изменений при этом зависела от возраста подопытных животных.

На 1 день после окончания воздействия паров эпихлоргидрина на неполовозрелых крыс размеры элементарных ячеек биоминерала тазовой кости вдоль осей *a* и *c* были больше контрольных значений 1-й группы на 0,22% и 0,20%, а размеры кристаллитов – на 11,51%. При этом коэффициент микротекстурирования был меньше значений 1-й группы на 11,20%.

В период реадaptации после воздействия паров эпихлоргидрина на организм неполовозрелых крыс нарушения ультраструктуры костного биоминерала постепенно сглаживались и на 60 день наблюдения достоверные отличия от 1-й группы регистрировались в единичных случаях.

Размеры элементарных ячеек биоминерала тазовой кости вдоль оси *a* с 7 по 30 день наблюдения были больше контрольных значений 1-й группы соответственно на 0,20%, 0,15% и 0,13%, а размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* на 7 и 15 день – на 0,21% и 0,19%. Также, с 7 по 30 день наблюдения размеры кристаллитов костного биоминерала были больше значений 1-й группы соответственно на 10,75%, 9,87% и 8,76%, а коэффициент микротекстурирования – меньше на 11,98%, 10,00% и 8,27%.

На 1 день после окончания 60-дневного воздействия паров эпихлоргидрина на половозрелых животных размеры элементарных

ячеек биоминерала тазовой кости вдоль осей *a* и *c* были больше значений 1-й группы на 0,23% и 0,21%. Также, размеры блоков когерентного рассеивания были больше значений 1-й группы на 10,25%, а коэффициент микротекстурирования – меньше на 10,03%.

В период реадaptации после воздействия паров эпихлоргидрина на организм половозрелых белых крыс выявленные изменения ультраструктуры биоминерала тазовой кости сохранялись на одном уровне преимущественно до 30 дня наблюдения и лишь затем начинали сглаживаться.

Размеры элементарных ячеек биоминерала тазовой кости вдоль оси *a* были больше значений 1-й группы во все установленные сроки наблюдения соответственно на 0,22%, 0,20%, 0,20% и 0,19%, а размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* с 7 по 30 день – на 0,20%, 0,16% и 0,15%.

Также во все установленные сроки наблюдения размеры кристаллитов костного биоминерала были, больше значений 1-й группы соответственно на 8,73%, 9,68%, 8,40% и 6,53%, а коэффициент микротекстурирования – меньше на 12,16%, 11,91%, 11,55% и 9,69%.

На 1 день после окончания 60-дневного воздействия паров эпихлоргидрина на организм белых крыс старческого возраста размеры элементарных ячеек костного биоминерала вдоль осей *a* и *c* были больше значений 1-й группы на 0,13% и 0,16%. При этом размеры блоков когерентного рассеивания были больше значений 1-й группы на 4,70%, а коэффициент микротекстурирования костного биоминерала – меньше на 7,65%.

В период реадaptации после воздействия паров эпихлоргидрина на инволютивных белых крыс выявленные отклонения практически не восстанавливались.

Размеры элементарных ячеек костного биоминерала вдоль оси *a* были больше значений 1-й группы во все установленные сроки наблюдения соответственно на 0,14%, 0,14%, 0,17% и 0,12%, а размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* – на 0,15%, 0,11%, 0,16% и 0,14%. Также, коэффициент микротекстурирования костного биоминерала был меньше значений 1-й группы во все установленные сроки наблюдения соответственно на 6,25%, 6,36%, 6,09% и 4,17%, а размеры кристаллитов на 7 день – больше на 3,53%.

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

нения сохранялись 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 размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* были меньше контрольных показателей на 0,14%, а размеры кристаллитов – на 5,20%. При этом коэффициент микротекстурирования был больше значений 2-й группы на 5,66%.

В период реадaptации после воздействия условий 3-й группы эксперимента на неполовозрелых крыс размеры кристаллитов биоминерала тазовой кости были меньше значений 2-й группы на 7 и 15 день на 5,68% и 7,63%, а коэффициент микротекстурирования на 7 день – больше на 7,09%. Также, на 15 день наблюдения размеры элементарных ячеек костного биоминерала вдоль осей *c* и *a* были меньше значений 2-й группы на 0,14% и 0,16%.

У половозрелых животных 3-й группы размеры элементарных ячеек костного биоминерала вдоль оси *a* с 15 по 60 день наблюдения были меньше значений 2-й группы на 0,16%, 0,15% и 0,20%, а размеры кристаллитов на 60 день – на 5,37%. Наконец, коэффициент микротекстурирования на 30 и 60 день наблюдения был больше контрольных значений 2-й группы эксперимента на 9,17% и 8,76%.

В инволютивный возрастной период у животных 3-й группы эксперимента размеры элементарных ячеек биоминерала тазовой кости вдоль оси *a* были меньше контрольных значений 2-й группы на 30 и 60 день наблюдения на 0,10% и 0,11%, а размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* на 60 день – на 0,15%.

Таким образом, применение тиотриазолина на фоне воздействия на подопытных животных паров ЭХГ в дальнейшем сопровождается сглаживанием негативного влияния условий эксперимента на ультраструктуру биоминерала тазовых костей. У неполовозрелых крыс эти явления наблюдаются в период всего наблюдения, у половозрелых – с 15 по 60 день, 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 ультраструктуру кристаллической решетки биоминерала тазовых костей, но несколько меньше, чем введение тиотриазолина.

При сравнении результатов рентгеноструктурного анализа костного биоминерала подопытных животных 4-й группы эксперимента с аналогичными значениями 2-й группы установили, что достоверные отличия имели место только на 15 и 30 день наблюдения.

На 15 и 30 день наблюдения коэффициент микротекстурирования биоминерала тазовой кости был больше значений 2-й группы на 8,40% и 8,55%, а размеры элементарных ячеек биоминерала тазовой кости вдоль оси *a* на 30 день были меньше контрольных на 0,15%.

Сравнение результатов рентгеноструктурного анализа костного биоминерала подопытных животных 4-й группы эксперимента с аналогичными результатами 2-й группы показало, что достоверные отличия регистрировались с 30 дня наблюдения.

Размеры элементарных ячеек костного биоминерала вдоль оси *c* были меньше значений 2-й группы на 30 день наблюдения на 0,14%, а размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* – на 60 день на 0,15%. Также, коэффициент микротекстурирования костного биоминерала был больше значений 2-й группы на 30 и 60 день наблюдения на 7,24% и 6,33%.

У подопытных животных старческого возраста 4-й группы эксперимента сравнение с аналогичными данными 2-й группы показало, что достоверные отличия регистрировались только на 60 день периода реадaptации: на 60 день размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* и содержание кальция были меньше значений 2-й группы на 0,11%.

Таким образом, применение настойки эхинацеи пурпурной на фоне воздействия на подопытных животных паров ЭХГ в дальнейшем сопровождается сглаживанием негативного влияния условий эксперимента на ультраструктуру биоминерала тазовых костей. У неполовозрелых крыс это проявляется на 15 и 30 день наблюдения, а у половозрелых – на 30 и 60 день, а у инволютивных – на 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 дестабилизация кристаллической решетки биоминерала тазовой кости у белых крыс различного возраста.

2. В период реадaptации после воздействия паров ЭХГ темпы восстановления ультра-

структуры 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 ультраструктуру биоминерала тазовой кости. Использование тиотриазолина было более эффективным, чем применение эхинацеи.

**Перспективы дальнейших исследований.** Выявленные методом рентгеноструктурного анализа изменения ультраструктуры кристаллической решетки 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 статовнезрілих 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 статовнезрілих 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 меду-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – Киев: Морион, 2000. – 320 с.
5. 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.
6. 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.
7. Миркин Л.И. Рентгеноструктурный анализ. Индексирование рентгенограмм: справочное руководство / Миркин Л.И. – М.: Наука, 1981. – 496 с.
8. Михеев В.И. Рентгенометрический определитель минералов / В.И. Михеев. – М.: Госгеолтехиздат., 1957. – 868 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. Скоробогатов А.Н. Возрастные особенности влияния 60-дневного воздействия паров эпихлоргидрина на фазовый состав биоминерала тазовой кости и возможности его коррекции / А.Н. Скоробогатов, В.И. Лузин // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 3. – С. 55-59.
11. Draft for NIOSH review. Skin Notation (SK) Profile for Epichlorohydrin, 1997. - 23 p.
12. Epichlorohydrin in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. - World Health Organization, 2004. –15 p.
13. 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 26.04.2014 р.

Рецензент: проф. А.Д.Савенко