

УДК 591.445:57.044

*А.Н. Скоробогатов**ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»***ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ДИАФИЗА  
БОЛЬШЕБЕРЦОВОЙ КОСТИ ПОСЛЕ 60-ДНЕВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ  
ПАРОВ ТОЛУОЛА У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА**

После 60-дневного воздействия паров толуола наблюдалось нарушение гистологического строения середины диафиза большеберцовой кости белых крыс; выраженность изменений зависела от возраста подопытных животных. Применение на фоне ингаляций толуолом тиотриазолина либо настойки эхинацеи пурпурной сопровождалось сглаживанием негативного влияния толуола на исследуемые показатели. Использование тиотриазолина было более эффективным, чем применение эхинацеи.

**Ключевые слова:** кости, толуол, диафиз, гистологическое строение.

Толуол широко используется в производстве красителей, растворителей, лаков, клеев, изделий из резины и др. [1]. С толуолом часто контактируют работники, занятые на производстве эпоксидных смол, стирала, фармацевтической продукции, полиграфисты, производители обуви [2, 3].

Изучено влияние паров толуола на морфогенез надпочечных желез, тимуса, селезенки и других органов [4, 5]. Имеются единичные сведения о влиянии паров толуола на процессы роста и прочность костей скелета [6–8]. Сведений о том, как длительная ингаляция парами толуола влияет на гистологическое строение диафиза длинных костей у биологических объектов различного возраста в доступной литературе мы не нашли.

Целью данного исследования было установить особенности структуры середины диафиза большеберцовых костей у белых крыс различного возраста после 60-дневного ингаляционного воздействия паров толуола.

**Материал и методы.** Эксперимент проведен на 420 белых беспородных половозрелых крысах-самцах трех возрастных групп (неполовозрелых, половозрелых и периода инволютивных изменений), полученных из вивария Луганского государственного медицинского университета и содержавшихся согласно требованиям и положениям, установленным Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях (Страсбург, 1986) [9].

Подопытных животных разделили на четыре группы: 1-ю (контрольную) группу составили крысы, содержащиеся в стандартных условиях вивария; 2-ю – крысы, которые ежедневно на протяжении двух месяцев в установке для ингаляционного введения веществ получали ингаляции толуола с экспозицией 4 ч в 10 ПДК (ГОСТ 12.1.005-88) [5]; 3-ю – крысы, которые ежедневно на протяжении двух месяцев на фоне ингаляций толуола получали внутрибрюшинно ампулярный 2,5 %-ный раствор тиотриазолина в дозе 117,4 мг/кг; 4-ю – крысы, которые на протяжении двух месяцев ежедневно на фоне ингаляций толуола получали с помощью внутрижелудочного зонда настойку эхинацеи пурпурной из расчета 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы крысы. Животных выводили из эксперимента на 1, 7, 15, 30, 60-е сутки после завершения двухмесячного воздействия толуола посредством декапитации под эфирным наркозом, выделяли и очищали от мягких тканей большеберцовые кости. Отделяли средние части диафизов, фиксировали их в 10 %-ном растворе нейтрального формалина, декальцинировали, обезвоживали и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 6–8 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали с помощью окулярного винтового микрометра МОВ-1-15Х ГОСТ 7865-56 по общепринятой методике [10].

Полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [11].

© А.Н. Скоробогатов, 2014

**Результаты и их обсуждение.** Ингаляционное ежедневное воздействие паров толуола на неполовозрелых крыс на протяжении двух месяцев с единоразовой экспозицией 4 ч в 10 ПДК сопровождалось нарушением гистологического строения середины диафиза большеберцовых костей.

В 1-й день после окончания ингаляций общая ширина диафиза большеберцовой кости на поперечном срезе была меньше показателей 1-й группы на 11,41 %, ширина слоев наружных и внутренних генеральных пластинок – на 10,81 и 8,76 %, ширина остеонного слоя – на 12,82 %. Диаметры остеонов и площадь компактного вещества также были меньше контрольных показателей на 8,50 и 10,46 %. Диаметры каналов остеонов и площадь костно-мозговой полости также были больше показателей контрольных животных на 7,83 и 9,37 %.

В период реадaptации после воздействия паров толуола достоверные изменения строения диафиза большеберцовых костей у неполовозрелых крыс регистрировались до 30-го дня наблюдения. Общая ширина диафиза с 7-го по 30-й день наблюдения была меньше показателей 1-й группы соответственно на 9,21; 6,90 и 4,81 %, ширина слоя наружных генеральных пластинок – на 8,12; 6,63 и 4,37 %, а ширина остеонного слоя – на 10,50; 7,67 и 5,74 %. Ширина слоя внутренних генеральных пластинок была меньше контрольной на 7-й и 15-й день на 7,45 и 5,34 %.

Диаметры остеонов также были меньше показателей 1-й группы с 7-го по 30-й день наблюдения на 7,18; 6,87 и 3,99 %, а диаметры каналов остеонов превосходили контрольные значения на 7-й и 15-й день на 7,86 и 5,12 %. При этом площадь костно-мозговой полости большеберцовой кости была больше, чем в 1-й группе, в те же сроки наблюдения на 8,57; 6,92 и 4,60 %, а площадь компактного вещества – меньше на 8,21; 6,77 и 5,18 %.

Таким образом, после 60-дневного воздействия паров толуола гистологическое строение середины диафиза большеберцовых костей у неполовозрелых крыс постепенно восстанавливалось и после 30-го дня периода реадaptации достоверные отклонения от контроля уже не определялись.

Непосредственно по окончании затравок парами толуола общая ширина диафиза большеберцовых костей у половозрелых крыс была

меньше показателей 1-й группы на 10,25 %, ширина слоев наружных и внутренних генеральных пластинок – на 9,92 и 7,37 %, ширина остеонного слоя – на 11,59 %. Диаметры остеонов и площадь компактного вещества также были меньше контрольных значений на 9,75 и 10,29 %. Диаметры каналов остеонов и площадь костно-мозговой полости были больше контрольных значений на 10,66 и 9,82 %.

В период реадaptации после воздействия паров толуола у половозрелых крыс выявленные изменения сохранялись приблизительно на одном уровне до 15-го дня наблюдения, после чего начинали сглаживаться. Но и на 60-й день наблюдения большинство исследуемых показателей все еще достоверно отличалось от контрольных.

На протяжении всего периода наблюдения общая ширина диафиза была меньше показателей 1-й группы соответственно на 10,16; 9,29; 5,73 и 4,09 %, ширина слоя наружных генеральных пластинок – на 9,51; 9,15; 6,24 и 3,89 %, ширина остеонного слоя – на 11,64; 10,50; 5,94 и 4,72 %. Ширина слоя внутренних генеральных пластинок была меньше контрольной с 7-го по 30-й день наблюдения соответственно на 9,57; 7,72 и 4,71 %. При этом диаметр каналов остеонов и площадь костно-мозговой полости были больше показателей 1-й группы во все сроки наблюдения соответственно на 11,00; 7,13; 6,90 и 4,66 % и на 9,62; 7,55; 7,27 и 5,38 %. Наконец, диаметр остеонов был меньше показателей 1-й группы с 7-го по 30-й день наблюдения на 9,64; 8,65 и 4,89 %, а площадь сечения компактного вещества диафиза с 7-го по 60-й день на 9,67; 7,86; 6,53 и 5,44 %.

У животных старческого возраста по окончании затравок парами толуола общая ширина диафиза большеберцовой кости была меньше показателей 1-й группы на 10,40 %, ширина слоев наружных и внутренних генеральных пластинок – на 7,97 и 8,35 %, ширина остеонного слоя – на 12,88 %. Диаметры остеонов и площадь поперечного сечения компактного вещества диафиза также были меньше контрольных показателей на 7,65 и 8,91 %. Диаметры каналов остеонов и площадь костно-мозговой полости были больше контрольных показателей на 7,02 и 8,06 %.

В период реадaptации после воздействия паров толуола у подопытных животных стар-

ческого возраста восстановления исследуемых показателей практически не наступало, лишь на 60-й день наблюдения появлялись признаки сглаживания отклонений. Общая ширина диафиза большеберцовой кости была меньше показателей 1-й группы во все сроки наблюдения соответственно на 9,61; 8,98; 8,04 и 6,57 %; ширина слоя наружных генеральных пластинок – на 8,04; 6,84; 7,29 и 5,69 %, ширина слоя внутренних генеральных пластинок – на 7,32; 8,22; 6,85 и 5,83 %. Ширина остеонного слоя с 7-го по 60-й день наблюдения также была меньше значений 1-й группы соответственно на 11,73; 10,72; 9,18 и 7,56 %. При этом диаметр остеонов во все сроки наблюдения был меньше контрольного на 8,65; 8,73; 6,77 и 5,51 %, а площадь компактного вещества диафиза – на 8,58; 7,62; 5,46 и 5,01 %. В то же время диаметр каналов остеонов и площадь костно-мозговой полости были больше контрольных с 7-го по 30-й день соответственно на 7,40; 6,58 и 6,57 % и на 7,51; 6,17 и 5,16 %. Это может свидетельствовать о том, что интенсивность процессов эндостальной резорбции к 60-му дню наблюдения несколько снижается.

В том случае, когда неполовозрелые крысы ежедневно на протяжении двух месяцев получали внутрибрюшинно раствор тиотриазолина в дозировке 117,4 мг/кг на фоне ингаляций параами толуола, гистологическое строение диафиза большеберцовой кости изменялось в значительно меньшей степени.

При сравнении с показателями 2-й группы в 1-й день наблюдения общая ширина диафиза была больше контрольной на 9,06 %, ширина слоя наружных генеральных пластинок – на 9,32 %, ширина слоя внутренних генеральных пластинок – на 7,52 %, ширина остеонного слоя – на 9,60 %. При этом диаметр остеонов был больше значений 2-й группы на 6,47 %, а площадь компактного вещества – на 9,74 %. Наконец, диаметр каналов остеонов был меньше показателей 2-й группы на 6,15 %, а площадь костно-мозговой полости – на 5,78 %.

В период реадaptации после воздействия паров толуола достоверные отличия от показателей 2-й группы регистрировались лишь до 30-го дня. Общая ширина диафиза, а также ширина слоя наружных генеральных пластинок и остеонного слоя были больше значений

2-й группы с 7-го по 30-й день соответственно на 7,79; 6,29 и 4,50 %, на 6,42; 7,34 и 4,19 % и на 9,45; 6,36 и 5,23 %. Ширина слоя внутренних генеральных пластинок была больше контрольной в те же сроки на 5,60 и 4,90 %, диаметр остеонов – на 6,38 и 3,81 %. Наконец, площадь компактного вещества была больше показателей 2-й группы с 7-го по 30-й день на 5,78; 5,93 и 6,15 %, а площадь костно-мозговой полости на 7-й день была меньше контрольной на 7,08 %.

У крыс 3-й группы в 1-й день наблюдения общая ширина диафиза была больше значений 2-й группы на 5,18 %, а ширина слоев наружных и внутренних генеральных пластинок и остеонного слоя на 4,77; 4,10 и 5,84 %. Диаметр остеонов и площадь компактного вещества диафиза также были больше значений 2-й группы на 6,42 и 5,07 %, а диаметр каналов остеонов был меньше контрольного на 6,91 %.

В период реадaptации после соответствующего воздействия у крыс 3-й группы общая ширина диафиза была больше значений 2-й группы во все сроки наблюдения на 6,92; 6,46; 3,73 и 4,15 %. Это происходило за счет того, что ширина слоя наружных генеральных пластинок на 7-й и 15-й день была больше контрольной на 4,70 и 5,90 %, а ширина слоя внутренних генеральных пластинок с 7-го по 30-й день – на 6,40; 5,62 и 4,39 %. Ширина остеонного слоя на 7, 15 и 60-й день была больше контрольной на 8,26; 7,10 и 5,20 %.

Диаметр остеонов был больше значений 2-й группы с 7-го по 30-й день на 6,30; 9,31 и 4,91 %, а площадь компактного вещества на 7-й день – на 5,71 %. Наконец, диаметр каналов остеонов на 7-й и 30-й день был меньше значений 2-й группы на 6,92 и 4,84 %, а площадь костно-мозговой полости на 30-й день – на 5,77 %.

У животных периода инволютивных изменений, которые получали раствор тиотриазолина на фоне ингаляций параами толуола, негативное влияние условий эксперимента на гистологическое строение диафиза большеберцовых костей сглаживалось в значительно меньшей степени, чем у неполовозрелых и половозрелых крыс. При этом достоверные отличия от показателей 2-й группы регистрировались только с 15-го дня наблюдения.

Общая ширина диафиза была больше показателей 2-й группы с 15-го по 60-й день на

блюдения на 3,54; 4,02 и 3,38 %, ширина слоя внутренних генеральных пластинок на 15-й день – на 3,47 %, а ширина остеонного слоя на 30-й и 60-й день – на 5,45 и 4,28 %. Также диаметр остеонных на 15-й и 60-й день был больше значений 2-й группы на 4,23 и 4,36 %, а диаметр каналов остеонных на 30-й день меньше контрольного на 3,95 %.

Внутрижелудочное введение настойки эхинацеи пурпурной из расчёта 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы тела неполовозрелым крысам одновременно с ингаляцией толуола также сглаживало негативное влияние паров толуола на гистологическое строение диафиза большеберцовой кости, но в несколько меньшей степени, чем введение раствора тиотриазолина.

В 1-й день после окончания воздействия у неполовозрелых крыс 4-й экспериментальной группы общая ширина диафиза была больше, чем во 2-й группе, на 8,21 %, ширина слоя наружных генеральных пластинок – на 7,41 %, а ширина остеонного слоя – на 10,22 %. Также диаметр остеонных и площадь компактного вещества были больше значений 2-й группы на 4,81 и 9,69 %, а площадь костно-мозговой полости была меньше контрольной на 6,42 %.

В период реадaptации общая ширина диафиза у крыс этой группы была больше, чем во 2-й группе, во все сроки наблюдения на 8,67; 5,66; 4,18 и 2,33 %. При этом ширина слоя наружных генеральных пластинок и остеонного слоя была больше значений 2-й группы с 7-го по 30-й день соответственно на 8,08; 6,24 и 4,00 % и на 9,81; 6,01 и 5,13 %, а ширина слоя внутренних генеральных пластинок на 7-й и 15-й день – на 6,77 и 4,16 %. Площадь компактного вещества была больше значений 2-й группы с 7-го по 30-й день на 5,90; 5,15 и 5,38 %, а диаметр остеонных на 7-й день – на 6,49 %. Наконец, площадь костно-мозговой полости в эти сроки была меньше на 7,49; 5,41 и 5,42 %.

У половозрелых крыс 4-й группы в 1-й день после окончания воздействия только общая ширина диафиза и ширина остеонного слоя были больше значений 2-й группы на 3,84 и 4,61 %.

В период реадaptации после воздействия на крыс 4-й группы общая ширина диафиза

была больше показателей 2-й группы на 7, 15 и 60-й день наблюдения на 5,15; 4,53 и 3,52 %, а ширина слоя наружных генеральных пластинок на 60-й день на 4,44 %. Ширина остеонного слоя также была больше значений 2-й группы на 7, 15 и 60-й день на 6,07; 5,78 и 3,96 %, а ширина слоя внутренних генеральных пластинок на 7-й и 15-й день на 5,00 и 4,24 %. Также диаметр остеонных был больше значений 2-й группы на 7-й и 15-й день наблюдения на 4,65 и 5,77 %, а площадь костно-мозговой полости на 30-й и 60-й день была меньше контрольной на 4,04 и 5,99 %.

Введение настойки эхинацеи пурпурной одновременно с ингаляцией толуола у инволютивных крыс практически не сопровождалось сглаживанием негативного влияния паров толуола на гистологическое строение диафиза большеберцовой кости. Лишь на 30-й день наблюдения общая ширина диафиза была больше значений 2-й группы на 2,62 %.

#### **Выводы**

1. После 60-дневного воздействия паров толуола наблюдалось нарушение гистологического строения середины диафиза большеберцовой кости белых крыс, выраженность изменений зависела от возраста подопытных животных.

2. В период реадaptации после воздействия паров толуола темпы восстановления гистологического строения середины большеберцовой кости также зависели от возраста подопытных животных. Быстрее всего структура диафиза восстанавливалась у неполовозрелых крыс, в период инволютивных изменений эти явления были минимальными.

3. Применение на фоне ингаляций толуолом тиотриазолина либо настойки эхинацеи пурпурной сопровождалось сглаживанием негативного влияния толуола на исследуемые показатели. Использование тиотриазолина было более эффективным, чем применение эхинацеи.

**Перспективы дальнейших исследований.** Для выяснения механизма изменения гистологического строения середины диафиза большеберцовых костей у животных разного возраста после воздействия паров толуола будет проведено биохимическое исследование костного биоминерала.

## Литература

1. *Высоцкий И.Ю.* Токсичность и метаболизм эпоксидных соединений / И.Ю. Высоцкий // Украинский медицинский альманах. – 2000. – Т. 3, № 2. – С. 43–46.
2. *Шевченко А.М.* Профилактика профинтоксикаций при производстве и применении эпоксидных смол / А.М. Шевченко, А.П. Яворовский // К.: Здоров'я, 1985. – 96 с.
3. 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.
4. *Волошин В.М.* Ефекти інгаляційного впливу толуолу на масу селезінки статевозрілих щурів / В.М. Волошин // Український медичний альманах. – 2009. – Т. 12, № 5 (додаток). – С. 65–68.
5. *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.
6. *Лузин В.И.* Морфофункциональное состояние мышечкового 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.
7. *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.
8. *Скоробогатов А.Н.* Прочностные характеристики плечевых костей у белых крыс различного возраста после длительного влияния паров толуола / А.Н. Скоробогатов // Український медичний альманах. – 2013. – Т. 16, № 3. – С. 135–139.
9. 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.
10. *Автандилов Г.Г.* Медицинская морфометрия : Руководство / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
11. *Лапач С.Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320 с.

### *А.М. Скоробогатов*

#### **ГІСТОЛОГІЧНА БУДОВА ДІАФІЗА ВЕЛИКОГОМІЛКОВОЇ КІСТКИ ПІСЛЯ 60-ДЕННОГО ВПЛИВУ ПАРІВ ТОЛУОЛУ У ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ**

Після 60-денного впливу парів толуолу спостерігалось порушення гістологічної будови середини діафіза великогомілкової кістки білих щурів; виразність змін залежала від віку піддослідних тварин. Застосування на тлі інгаляцій толуолом тіотриазоліну або настоянки ехінацеї пурпурової супроводжувалося згладжуванням негативного впливу толуолу на досліджувані показники. Використання тіотриазоліну було ефективнішим, ніж застосування ехінацеї.

**Ключові слова:** кістки, толуол, діафіз, гістологічна будова.

### *A.N. Skorobogatov*

#### **HISTOLOGICAL STRUCTURE OF THE TIBIAL DIAPHYSIS AFTER 60 DAYS OF EXPOSURE TO VAPORS OF TOLUENE IN RATS OF DIFFERENT AGES**

After 60 days of exposure to vapors of toluene observed violation of the histological structure of the tibial diaphysis in white rats; the severity of the changes depended on the age of the experimental animals. Application on the background inhalations with toluene Thiotriazoline or tincture of Echinacea purpurea accompanied by smoothing the negative influence of toluene on the studied parameters. Using Thiotriazoline was more effective than echinacea.

**Key words:** bone, toluene, diaphysis, histological structure.

Поступила 28.04.14