

ВЛИЯНИЕ ПАРОВ ТОЛУОЛА НА НЕКОТОРЫЕ ГИСТОМОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ИНТРАКОРТИКАЛЬНЫХ НЕФРОНОВ ПОЧЕК КРЫС СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА

© Лузин В.И.¹, Фастова О.Н.¹, Морозов В.Н.², Морозова Е.Н.³

¹Кафедра анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии Луганского государственного медицинского университета, Луганск; ²кафедра анатомии человека, ³кафедра гистологии Белгородского государственного национального исследовательского университета,

Белгород

E-mail: morozov_v@bsu.edu.ru

Проведено исследование ингаляционного воздействия толуола на гистоморфометрические параметры различных отделов интракортикальных нефронов у белых крыс старческого возраста. После 60-дневного влияния паров толуола площадь сосудистого клубочка была меньше контрольных значений 1-й группы на 5,29%, а площадь просвета капсулы – больше на 22,84%. Диаметры проксимальных извитых канальцев и их просвета были больше контрольных показателей на 7,26% и 18,84%, а высота эпителия – меньше на 5,97%; диаметры дистальных извитых канальцев и их просвета были больше контрольных на 8,25% и 13,89% (для всех приведенных цифровых отличий $p < 0,05$), а высота эпителия достоверно не изменялась. В период реадaptации после воздействия паров толуола восстановление структурно-функционального состояния интракортикальных нефронов у сенильных животных было крайне медленным. Использование на фоне воздействия паров толуола в качестве возможного корректора тиотриазолина было более эффективным, чем применение эхинацеи.

Ключевые слова: крысы, старческий возраст, интракортикальные нефроны, толуол, тиотриазолин, настойка эхинацеи пурпурной.

THE INFLUENCE OF TOLUENE VAPOR ON SEVERAL HISTOMORPHOMETRIC PARAMETERS OF RENAL INTRACORTICAL NEPHRONS IN RATS OF SENILE AGE PERIOD

Luzin V.I.¹, Fastova O.N.¹, Morozov V.N.², Morozova E.N.³

¹Human Anatomy, Operative Surgery and Topographic Anatomy Department of Lugansk State Medical University, Lugansk; ²Human Anatomy Department, ³Histology Department of Belgorod State National Research University, Belgorod

The influence of toluene inhalation on histomorphometric parameters of renal nephrons in rats of senile age period was researched. After 60 days of impact to toluene vapor, the square of glomerulus was lower than the control data by 5.29%, and capsular lumen – higher by 22.84%. Diameters of proximal convoluted tubules and their lumen were higher than the control data by 7.26% and 18.84%, and the height of epithelium was lower by 5.97%, diameters of distal convoluted tubules and their lumen were higher than the control data by 8.25% and 13.89%, and the height of epithelium was not significantly changed. During the period of readaptation after toluene inhalation the recovery of structural-functional state of intracortical nephrons was very slow in senile rats. The usage of thiotriazoline as a possible corrector against the background of toluene inhalation was more effective than the usage of echinacea purpurea.

Keywords: rats, senile age, intracortical nephrons, toluene, thiotriazoline, tincture of echinacea purpurea.

Толуол – один из основных компонентов эпоксидных смол, который способен оказывать негативное воздействие на самые различные органы и системы организма [10, 13]. Так, известно, что повышенное содержание толуола в атмосфере сопровождается морфологическими изменениями со стороны органов дыхательной, репродуктивной, пищеварительной, костной, эндокринной и иммунной систем [3, 7].

Анализ данных современной литературы показал, что существует ряд исследований, посвященных влиянию толуола на морфогенез почки [2]. Однако этот вопрос по-прежнему остается малоизученным, так как не выявлены особенности возникновения этих изменений при различных сроках ингаляции, а также возможность коррекции выявленных изменений. Не освещен в доступной литературе и возрастной

аспект влияния паров толуола на морфогенез почек.

Таким образом, целью данного исследования явилось установить динамику изменений гистоморфометрических параметров интракортикальных нефронов почек у белых крыс старческого возраста после 60-дневного воздействия толуола, а также обосновать возможности профилактики и коррекции выявленных изменений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент был проведен на 120 белых беспородных крысах-самцах старческого возраста, полученных из вивария ГУ «Луганский государственный медицинский университет». На

протяжении эксперимента животные содержались согласно требованиям, установленным «Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986 год) [12].

Выделяли следующие группы животных: 1-я группа – контрольные крысы-самцы, 2-я группа – крысы-самцы, которые ежедневно на протяжении двух месяцев в установке для ингаляционного введения веществ [1] получали ингаляции толуола с единоразовой экспозицией 5 часов в концентрации 500 мг/кг (10 ПДК), 3-я группа – животные, которым на фоне воздействия паров толуола внутрибрюшинно вводили 2,5% раствор тиотриазолина в дозе 117,4 мг/кг, 4-я группа – крысы, которым на фоне воздействия паров толуола при помощи желудочного зонда вводили настойку эхинацеи пурпурной из расчета 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы крысы.

Крыс выводили из эксперимента на 1, 7, 15, 30, 60 сутки после завершения двухмесячного ингаляционного воздействия толуола. После эфирного наркоза крыс декапитировали, отпрепаровывали и забирали почки. Изготавливали поперечные срезы почек в области ворот органа толщиной 4 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологическое строение структурных отделов интракортикальных нефронов, а именно почечных телец, проксимальных и дистальных извитых канальцев, изучали при помощи цитоморфологического комплекса на базе

микроскопа Olympus BX41. Параметры различных структурных компонентов нефронов почек определяли при помощи программы «Master of Morphology» [8].

Все полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [9]. Достоверными считали отличия критерия t Фишера-Стьюдента с уровнем значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При морфометрическом исследовании параметров почечных телец у крыс старческого возраста 1-й группы с 1 по 60 сутки периода наблюдения площадь почечного тельца уменьшалась с 2963 ± 34 мкм² по 2670 ± 26 мкм², площадь сосудистого клубочка уменьшалась с 2616 ± 33 мкм² по 2373 ± 26 мкм², площадь просвета капсулы уменьшалась с 346 ± 8 мкм² по 297 ± 5 мкм². Диаметры проксимальных извитых канальцев увеличивались с $42,27 \pm 0,16$ мкм до $43,55 \pm 0,19$ мкм, а диаметры их просветов – с $22,53 \pm 0,11$ мкм до $24,41 \pm 0,09$ мкм, а высота эпителия уменьшалась с $9,87 \pm 0,10$ мкм до $9,57 \pm 0,11$ мкм. Диаметры дистальных извитых канальцев в ходе наблюдения увеличивались с $32,46 \pm 0,17$ мкм до $33,25 \pm 0,16$ мкм, а диаметры их просветов – с $17,88 \pm 0,07$ мкм до $19,45 \pm 0,10$ мкм; высота эпителия при этом уменьшалась с $7,29 \pm 0,09$ мкм до $6,90 \pm 0,08$ мкм.

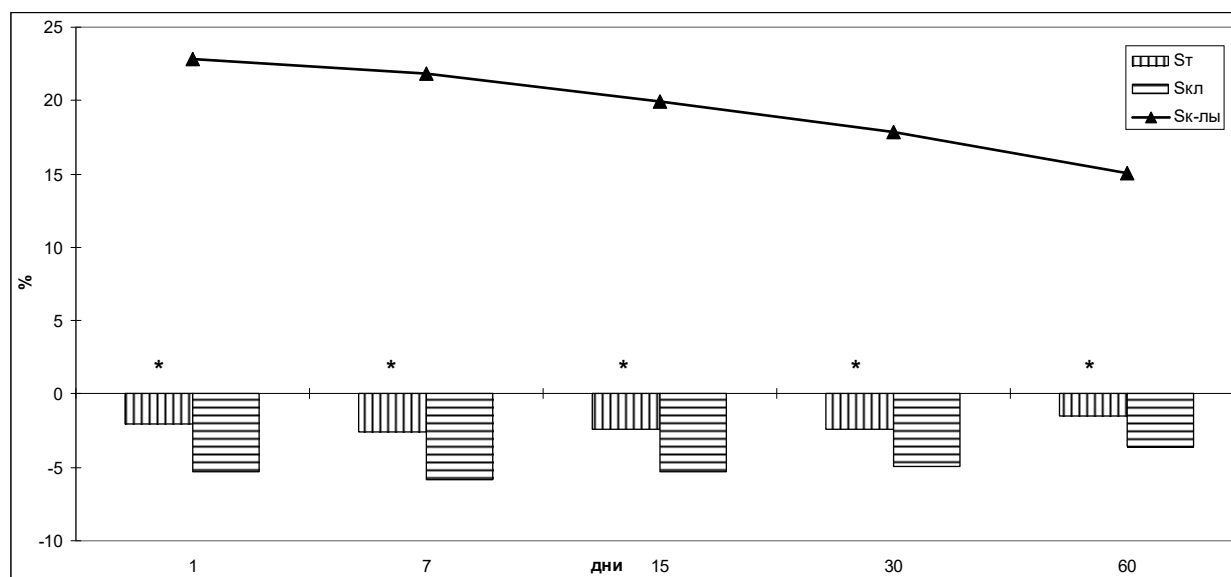


Рис. 1. Динамика показателей морфометрии почечных телец интракортикальных нефронов у белых крыс старческого возраста после 60-дневного воздействия паров толуола, в % по отношению к 1-й группе.

Примечание: Ст – площадь почечного тельца; Скл – площадь сосудистого клубочка; Ск-лы – площадь просвета капсулы сосудистого клубочка; * – здесь и далее обозначает недостоверное отличие от показателей 1-й группы ($p > 0,05$).

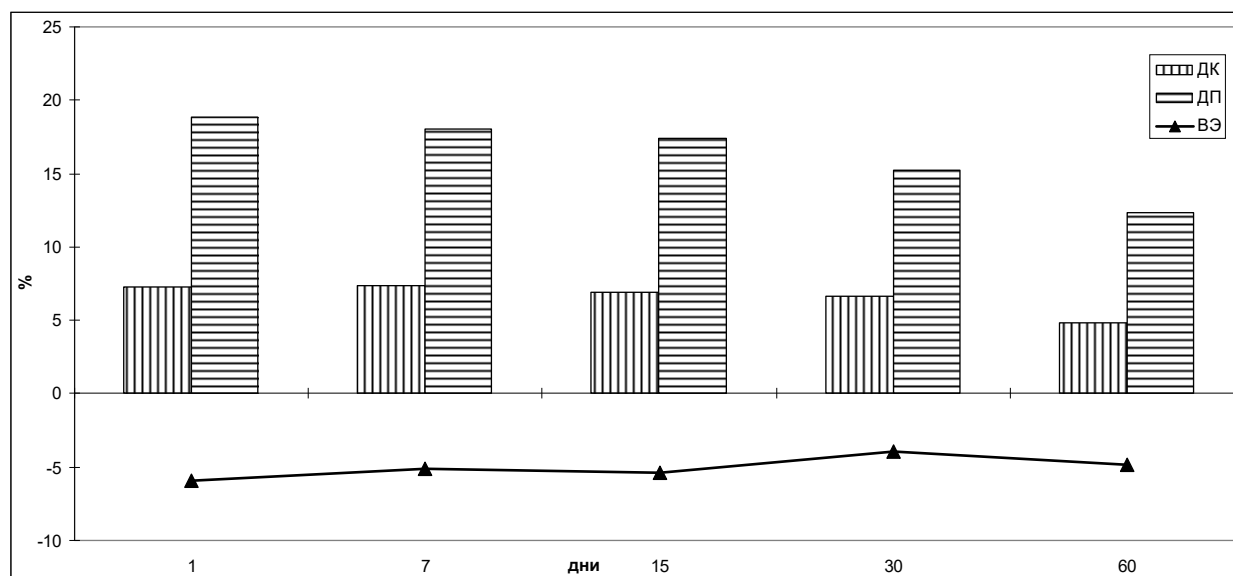


Рис. 2. Динамика показателей морфометрии проксимальных извитых канальцев интракортикальных нефронов у белых крыс старческого возраста после 60-дневного воздействия паров толуола, в % по отношению к 1-й группе.

Примечание: здесь и на последующем рисунке ДК – диаметр канальца, ДП – диаметр просвета канальца, ВЭ – высота эпителия.

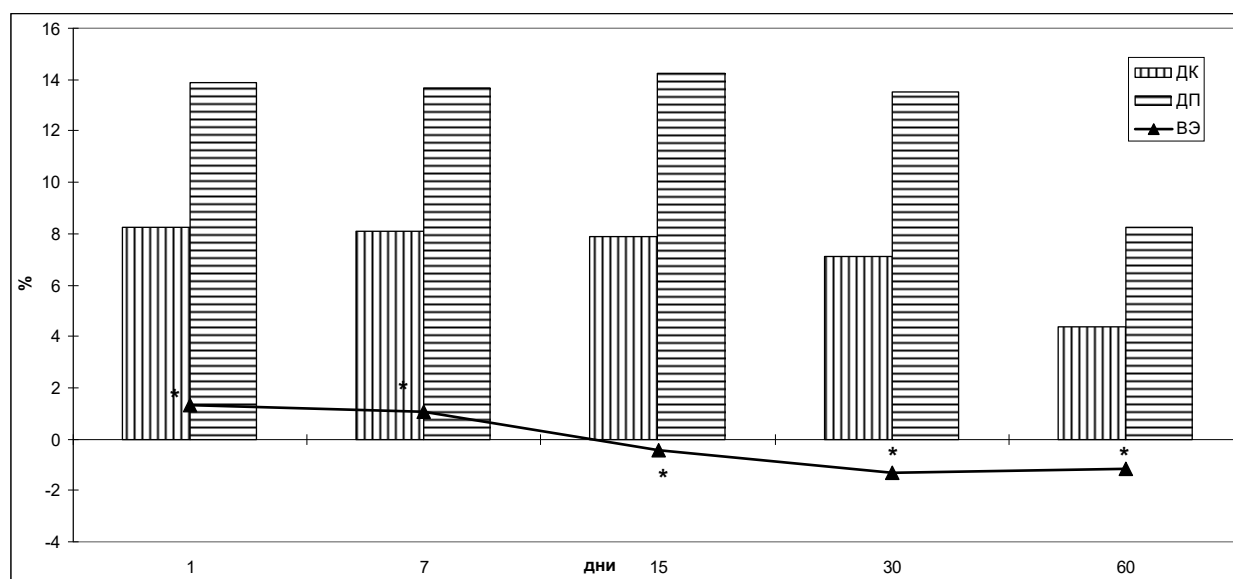


Рис. 3. Динамика показателей морфометрии дистальных извитых канальцев интракортикальных нефронов у белых крыс старческого возраста после 60-дневного воздействия паров толуола, в % по отношению к 1-й группе.

Выявленные изменения морфометрических параметров проксимальных извитых канальцев у контрольных животных старческого возраста совпадают с описанной в литературе возрастной динамикой данных показателей [5, 6].

При сравнении морфометрических показателей интракортикальных нефронов у крыс старческого возраста 2-й группы с контрольными животными было выявлено уменьшение площади сосудистого клубочка, в то время как площадь просвета капсулы увеличивалась во все сроки периода наблюдения. Так, сразу после окончания

воздействия условий 2-й группы площадь сосудистого клубочка была меньше значений 1-й группы на 5,29%, а площадь просвета капсулы – больше на 22,84% (все приводимые здесь и далее цифровые отличия являются достоверными относительно соответствующей группы сравнения, $p < 0,05$). С 7 по 60 сутки периода реадaptации площадь сосудистого клубочка была меньше на 5,81%, 5,31%, 4,94%, 3,56%, а площадь просвета капсулы была больше на 21,80%, 19,96%, 17,87%, 15,04% (рис. 1). При этом площадь почечного тельца во все сроки

наблюдения была недостоверно меньше контрольной.

При морфометрии проксимальных извитых канальцев было установлено, что диаметр канальца во все сроки периода реадaptации был больше контрольного на 7,26%, 7,34%, 6,87%, 6,64% и 4,79%, а диаметр просвета канальца – на 18,84%, 18,02%, 17,36%, 15,27% и 12,34%. При этом высота эпителия проксимальных извитых канальцев была меньше аналогичных контрольных значений соответственно на 5,97%, 5,09%, 5,41%, 3,90% и 4,83% (рис. 2).

Гистоморфометрическое исследование дистальных извитых канальцев показало, что и их диаметры и диаметры их просветов во все сроки периода реадaptации после воздействия паров толуола были больше контрольных (рис. 3). Так, диаметр канальца был больше аналогичных значений 1-й группы соответственно на 8,25%, 8,10%, 7,89%, 7,13% и 4,35%, а диаметр просвета канальца – на 13,89%, 13,69%, 14,24%, 13,50%, 8,25% с 1 по 60 сутки. При этом высота эпителия дистальных извитых канальцев от контрольных показателей достоверно не отличалась.

Выявленные негативные изменения структурно-функционального состояния интракорткальных нефронов у подопытных животных требуют поиска возможных путей их коррекции.

При сравнении морфометрических показателей почечных телец у крыс старческого возраста 3-й группы с показателями 2-й группы на 1 сутки после окончания воздействия условий было выявлено уменьшение площади просвета капсулы на 10,33%. С 7 по 60 сутки периода реадaptации площадь сосудистого клубочка была больше на 3,82%, 4,18%, 4,02%, 4,15% при уменьшении площади просвета капсулы на 9,25%, 11,65%, 12,05%, 11,40%.

У крыс старческого возраста 3-й группы диаметры проксимальных извитых канальцев и их просветов у подопытных животных 3-й группы были меньше значений 2-й группы с 1 по 60 сутки наблюдения соответственно на 2,57%, 2,99%, 3,97%, 4,15% и 3,55%, и на 5,39%, 5,79%, 6,70%, 6,78% и 6,99%.

При сравнении морфометрических показателей дистальных извитых канальцев у крыс старческого возраста 3-й группы с показателями 2-й группы было выявлено достоверное уменьшение диаметра канальца на 3,16%, 3,17%, 4,25%, 4,93%, 3,12%, диаметра просвета канальца – на 6,28%, 7,03%, 9,83%, 10,51%, 7,92% с 1 по 60 сутки, а высота эпителия была больше на 4,13%, 4,28% на 15 и 60 сутки соответственно.

При сравнении морфометрических показателей у крыс старческого возраста 4-й группы с показателями 2-й группы на 1 сутки

после окончания воздействия условий 4-й группы было выявлено уменьшение площади просвета капсулы на 5,63%. Площадь просвета капсулы была меньше на 7,06%, 9,37%, 8,77%, 6,73% с 7 по 60 сутки периода реадaptации. Также площадь сосудистого клубочка была больше аналогичного показателя 2-й группы на 30 день на 4,40%.

У крыс старческого возраста 4-й группы диаметры проксимальных извитых канальцев у подопытных животных 3-й группы были меньше значений 2-й группы с 15 по 60 сутки наблюдения соответственно на 2,26%, 3,49%, 3,37%, а их просветов – на 4,05%, 4,65%, 5,89%, 5,97% и 6,28% с 1 по 60 сутки соответственно.

При сравнении морфометрических показателей у крыс старческого возраста 4-й группы с показателями 2-й группы было выявлено достоверное уменьшение диаметра канальца на 2,61%, 2,38%, 3,07%, 3,91%, 3,36%, диаметра просвета канальца на 4,50%, 5,41%, 8,13%, 9,73%, 6,73% с 1 по 60 сутки, а высота эпителия была больше на 4,52%, 4,93% на 15 и 30 сутки периода реадaptации соответственно.

Эффект тиотриазолина и настойки эхинацеи пурпурной в качестве корректоров можно объяснить тем, что данные препараты снижают продукцию свободных радикалов кислорода, которые оказывают повреждающее действие на биологические мембраны клеток, белки, хроматин ядра, а также нарушают стабильность ионных каналов и рецепторов [4, 11]. При этом, эхинацея пурпурная обладает менее выраженным мембраностабилизирующим и антиоксидантным действием по сравнению с тиотриазолином, чем объясняется ее менее высокая эффективность при использовании.

Полученные в ходе исследования результаты позволяют сделать следующие выводы.

После 60-дневного ингаляционного воздействия толуола с единоразовой экспозицией 5 часов в концентрации 500 мг/кг (10 ПДК) у белых крыс старческого возраста наблюдается дестабилизация структурно-функционального состояния интракорткальных нефронов. Это проявлялось в увеличении площади просвета капсулы почечного тельца и диаметров проксимальных и дистальных извитых канальцев, а также их просвета, и в уменьшении площади сосудистого клубочка и высоты эпителия проксимальных извитых канальцев.

В период реадaptации после воздействия паров толуола гистоморфометрические параметры интракорткальных нефронов у белых крыс старческого возраста восстанавливались крайне незначительно.

Применение на фоне ингаляций толуола тиотриазолина в дозе 117,4 мг/кг либо настойки

эхинацеи пурпурной из расчета 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы сопровождалось сглаживанием негативного влияния толуола на строение интракортикальных нефронов у белых крыс старческого возраста. Использование тиотриазолина было более эффективным, чем применение эхинацеи.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бслік І.А.* Установа для інгаляційного введення речовин дрібним лабораторним тваринам // Збірник винаходів, корисних моделей та раціоналізаторських пропозицій співробітників Державного закладу «Луганський державний медичний університет» за період 2009-2010 р.» – 2011. – Вип. 1. – С. 83.
2. *Бибик Е.Ю., Алиева А.А., Ткаченко Е.В.* Обзор наиболее часто встречающихся экзогенных и эндогенных факторов, вызывающих повреждение почек // Украинський морфологічний альманах. – 2014. – Т. 12, № 2. – С. 130-134.
3. *Волошина І.С., Лузін В.І., Волошин В.М.* Застосування настоянки ехінацеї пурпурової для корекції змін, що викликані дією толуолу на репродуктивну систему статевозрілих щурів // Украинський морфологічний альманах. – 2013. – Т. 11, № 1. – С. 51-53.
4. *Голованова Е.В., Колечкина И.А.* Опыт применения тиотриазолина в лечении больных с алкогольной болезнью печени // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2012. – № 3. – С. 96-99.
5. *Жамбулов М.М., Матвеев О.А.* Гистологическое строение почек крупного рогатого скота казахской белоголовой породы в постнатальный период онтогенеза // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2014. – № 2. – С. 91-93.
6. *Ковешников В.Г., Кузьменко Ю.Ю.* Морфологічні особливості будови нирки ювенільних щурів у нормі // Украинський морфологічний альманах. – 2012. – Т. 10, № 4. – С. 125-127.
7. *Ковешников В.Г., Фомина К.А., Лузін В.І., Волошин В.Н., Волошина І.С., Шутков Е.Ю., Луговсков Д.А., Скоробогатов А.Н.* Экологическая морфология органов эндокринной, иммунной и костной систем в условиях хронического ингаляционного влияния летучих компонентов эпоксидных смол // Астраханский медицинский журнал. – 2013. – Т. 8, № 1. – С. 128-131.
8. *Овчаренко В.В., Маврич В.В.* Комп'ютерна програма для морфометричних досліджень «Master of Morphology» // Свідотство про реєстрацію авторського права на винахід № 9604, дата реєстрації 19.03.2004.
9. *Реброва О.Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М. : Медиа Сфера, 2002. – 312 с.
10. *Рыкова Ю.А.* Влияние эпихлоргидрина и толуола на организм // Украинський морфологічний альманах. – 2013. – Т. 11, № 4. – С. 109-111.
11. *Dogan Z., Ergul B., Sarikaya M., Filik L., Gonultas M.A., Hucumenoglu S., Can M.* The protective effect of Echinacea spp. (Echinacea angustifolia and Echinacea purpurea) in a rat colitis model induced by acetic acid // Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2014. – Vol. 27, N 6. – P. 1827-1835.
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. *Moro A.M., Brucker N., Charao M., Bulcao R., Freitas F., Baierle M., Nascimento S., Valentini J., Cassini C., Salvador M., Linden R., Thiesen F., Buffon A., Moresco R., Garcia S.C.* Evaluation of genotoxicity and oxidative damage in painters exposed to low levels of toluene // Mutation Research. – 2012. – Vol. 746, N 1. – P. 42-48.