

# МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 591.461.2:57.044

## ГИСТОМОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ДИСТАЛЬНЫХ ИЗВИТЫХ КАНАЛЬЦЕВ ПОЧЕК КРЫС РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП НА ФОНЕ ИНГАЛЯЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ТОЛУОЛА С ПРИМЕНЕНИЕМ КОРРЕКТОРОВ

## HISTOMORPHOMETRIC PARAMETERS OF RENAL DISTAL CONVOLUTED TUBULES IN RATS OF DIFFERENT AGE PERIODS ON THE BACKGROUND OF TOLUENE INHALATION WITH THE USE OF CORRECTORS

**В.И. Лузин<sup>1</sup>, О.Н. Фастова<sup>1</sup>, В.Н. Морозов<sup>2</sup>, Е.Н. Морозова<sup>2</sup>**  
**V.I. Luzin<sup>1</sup>, O.N. Fastova<sup>1</sup>, V.N. Morozov<sup>2</sup>, E.N. Morozova<sup>2</sup>**

<sup>1)</sup> Луганский государственный медицинский университет  
Луганская Народная Республика, 91045, г. Луганск, квартал 50 лет Оборона Луганска, 1 г  
<sup>2)</sup> Белгородский государственный национальный исследовательский университет  
Россия, 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85

<sup>1)</sup> Lugansk State Medical University  
Lugansk People's Republic, 91045, Lugansk, 50 years of Defence of Lugansk, 1 g  
<sup>2)</sup> Belgorod State National Research University  
Russia, 308015, Belgorod, Pobedy St., 85

E-mail: faster-and-faster@mail.ru, vitaliy-morozov@rambler.ru

**Ключевые слова:** дистальный извитой каналец, толуол, гистоморфометрические параметры, тиотриазолин, настойка эхинацеи пурпурной.

**Key words:** distal convoluted tubule, toluene, histomorphometric parameters, thiotriazoline, tincture of echinacea purpurea.

**Аннотация.** Проведено исследование изменений гистоморфометрических параметров дистальных извитых канальцев почек крыс различных возрастных периодов после 60-дневного ингаляционного воздействия толуола с единоразовой экспозицией 5 часов в концентрации 500 мг/кг (10 ПДК) и оценена роль тиотриазолина и эхинацеи пурпурной в качестве корректоров. В результате исследования наблюдалось увеличение диаметра дистальных извитых канальцев за счет отека эпителия и увеличения просвета канальца. Темпы восстановления зависели от возраста подошгтных животных. При этом использование тиотриазолина на фоне ингаляций толуола сопровождалось более выраженным сглаживанием выявленных изменений, чем применение эхинацеи.

**Resume.** The changes of histomorphometric parameters of renal distal convoluted tubules in rats of different age periods after 60-day exposure to toluene vapor with a one-time exposure of 5 hours in concentration of 500 mg/kg (10 MPC) were researched and the role of thiotriazoline and echinacea purpurea as correctors was estimated. 60-days of toluene inhalation caused the increase of distal convoluted tubules diameter due to swelling of epithelium and increasing of tubular lumen. The recovery pace of histomorphometric renal parameters depends on the age of experimental animals. The application of thiotriazoline on the background of toluene inhalation leads to more effective reduction of negative changes than the use of Echinacea.

### Введение

Загрязнение окружающей среды различными химическими соединениями обуславливает возрастание заболеваемости населения в связи с различными морфологическими изменениями в органах и тканях [Волошин, 2009; Волошина, 2011; Ковешников и др., 2013]. Среди таких загрязнителей окружающей среды значительное место отводится эпоксидным смолам, неблагоприятное влияние на организм которых подтверждено многочисленными исследованиями [Каликин и др., 2008; Liu et al.,



2007; Mattia et al., 2009]. Почки, как главный экскреторный орган, в большой степени подвержены негативному воздействию толуола, который является одним из основных компонентов эпоксидных смол. Несмотря на это, данные о морфогенезе почек после длительного ингаляционного воздействия толуола в доступной литературе практически отсутствуют.

Важной проблемой морфологии является поиск эффективных фармакологических препаратов, которые способны повышать антистрессовую устойчивость, усиливать иммунный ответ и активировать защитные силы организма. Одним из таких препаратов, получивших широкое применение, является эхинацея пурпурная, изготавливаемая из растительного сырья, которая оказывает антиоксидантное и антирадикальное действие, способна к иммуностимуляции [Dogan et al., 2014; Manay et al., 2015]. Также в последнее время широкое распространение благодаря своим антиоксидантным, мембраностабилизирующим и иммуномодулирующим свойствам получил и тиотриазолин [Шамало и др., 2010; Голованова, Колечкина, 2012; Опанасенко и др., 2013]. Изучение влияния эхинацеи пурпурной и тиотриазолина на морфофункциональные характеристики почек в эксперименте дает возможность сравнить эффективность их влияния и сделать вывод о том, применение какого из этих препаратов является более эффективным для коррекции возникших изменений.

### Цель

Цель исследования: установить динамику изменений гистоморфометрических параметров дистальных извитых канальцев почек крыс различных возрастов после воздействия паров толуола и оценить роль тиотриазолина и настойки эхинацеи пурпурной в качестве возможных корректоров.

### Объекты и методы исследования

Исследование проведено на 360 белых беспородных крысах-самцах трех возрастных периодов (неполовозрелые, половозрелые и старческого возраста). Крысы каждого возрастного периода были разделены на 4 группы по 24 животных в каждой: 1-ю группу составили контрольные животные, которым ежедневно в течение 60-ти дней при помощи желудочного зонда вводился 0.9% раствор натрия хлорида. 2-я группа – крысы-самцы, которые ежедневно в течение 60-ти дней получали ингаляции толуола с экспозицией 5 часов в концентрации 500 мг/кг (10 ПДК). 3-я группа – крысы-самцы, которым в течение 60-ти дней на фоне ингаляционного введения толуола вводили внутривентриально 2.5% раствор тиотриазолина в дозе 117.4 мг/кг. 4-я группа – крысы-самцы, которым в течение 60-ти дней на фоне ингаляционного введения толуола вводили настойку эхинацеи пурпурной при помощи желудочного зонда из расчета 0.1 мг сухого вещества на 100 г массы крысы.

Содержание и манипуляции над лабораторными крысами проводились в соответствии с правилами, установленными «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) [Западнюк и др., 1983; European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose, 1986].

Животных выводили из эксперимента на 1, 7, 15, 30, 60 сутки после завершения 60-ти дневного воздействия толуола методом декапитации под эфирным наркозом, выделяли почки, изготавливали поперечные срезы в области ворот толщиной 4–6 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Детали гистологического строения органа изучали при помощи цитоморфологического комплекса на базе микроскопа Olympus BX 41. Площади различных структурных компонентов почек определяли при помощи программы «Master of Morphology» [Овчаренко, Маврич, 2004], а полученные цифровые данные обрабатывали с использованием методов вариационной статистики с помощью компьютерной программы «Statistica 6.0» [Реброва, 2002]. Достоверными считали отличия с уровнем значимости  $p < 0.05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

При морфометрическом исследовании параметров дистальных извитых канальцев почек у неполовозрелых крыс 1-й группы наблюдалась положительная динамика изменений всех показателей. Так, с 1 по 60 сутки периода наблюдения диаметр канальца увеличивался с  $27.17 \pm 0.09$  мкм по  $30.16 \pm 0.13$  мкм, диаметр просвета канальца увеличивался с  $15.14 \pm 0.06$  мкм по  $16.28 \pm 0.09$  мкм, высота эпителия увеличивалась с  $6.01 \pm 0.05$  мкм по  $6.94 \pm 0.08$  мкм.

У неполовозрелых крыс 2-й группы наблюдалось увеличение морфометрических показателей, по сравнению с животными 1-й группы, с 1 по 30 сутки периода наблюдения. Так, после окончания воздействия условий 2-й группы диаметр канальца увеличивался на 10.29%, 9.54%, 6.90%, 5.12%, диаметр просвета канальца – на 8.24%, 8.05%, 7.40%, 3.92%, а высота эпителия – на 12.88%, 11.42%, 6.27%, 6.55% (рис. 1, 2).

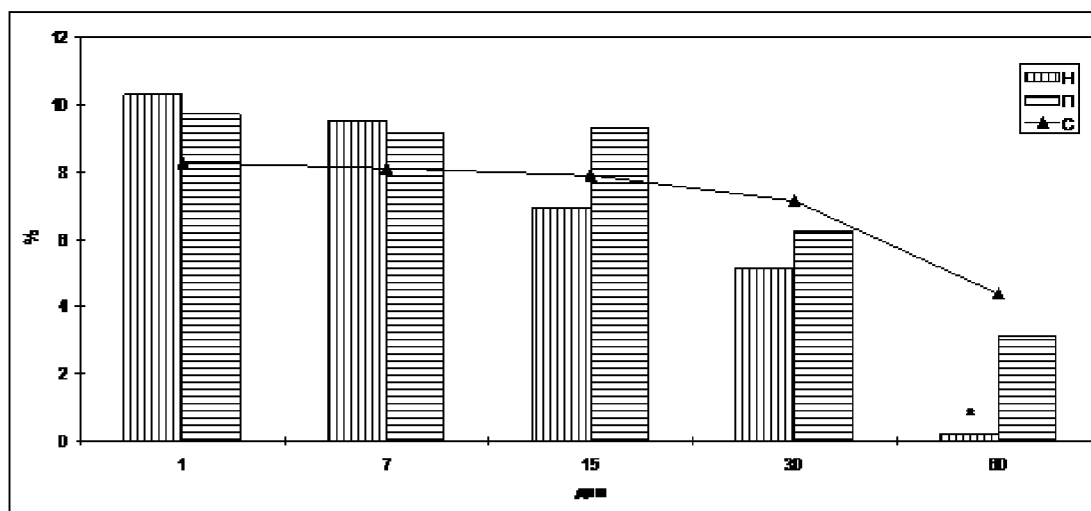


Рис. 1. Динамика изменения диаметров дистальных извитых канальцев у подопытных животных различного возраста после 60-дневного воздействия паров толуола (в % по отношению к группе контрольных животных)  
 Fig. 1. Dynamics of changes in the diameter of the distal convoluted tubules in experimental animals of different ages after the 60-day exposure to toluene vapor (in % in relation to the group of control animals)

Примечание. На этом и последующих рисунках:

\* – обозначает недостоверные отличия от контрольных показателей, все остальные приведенные данные достоверны ( $p < 0.05$ ); Н – неполовозрелые крысы; П – половозрелые крысы; С – сенильные крысы

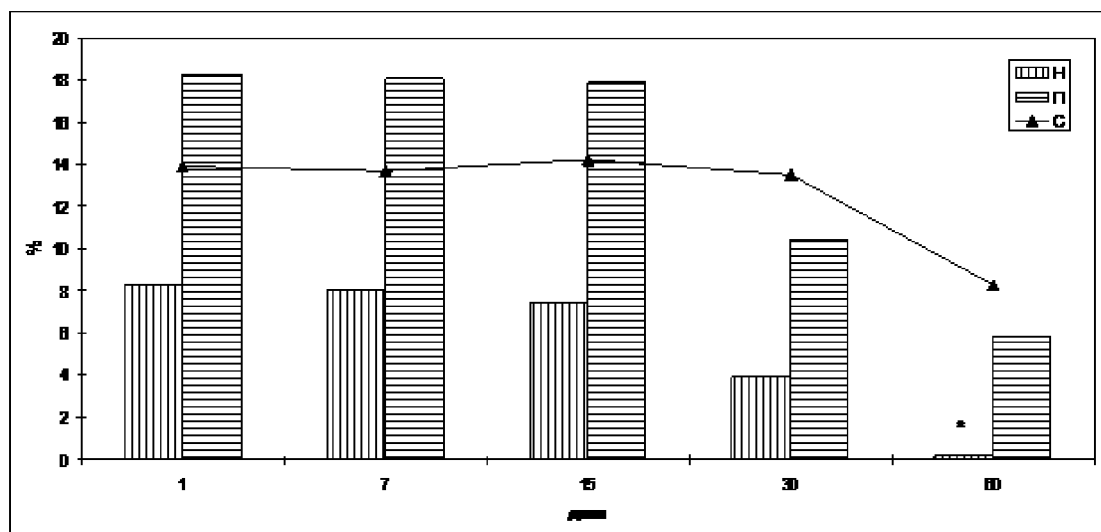


Рис. 2. Динамика изменения диаметров просвета дистальных извитых канальцев у подопытных животных различного возраста после 60-дневного воздействия паров толуола (в % по отношению к группе контрольных животных)  
 Fig. 2. Dynamics of changes in the diameter of the lumen distal convoluted tubules in experimental animals of different ages after the 60-day exposure to toluene vapor (in % in relation to the group of control animals)

При сравнении морфометрических показателей у неполовозрелых крыс 3-й группы с показателями 2-й группы было выявлено достоверное уменьшение диаметра канальца на 6.21%, 5.17%, 5.02%, 4.60%, диаметра просвета канальца – на 2.88%, 3.19%, 3.45%, 2.53%, а высоты эпителия – на 10.22%, 7.60%, 6.97% и 7.00% с 1 по 30 сутки периода наблюдения.

При сравнении морфометрических показателей у неполовозрелых крыс 4-й группы с показателями 2-й группы было выявлено достоверное уменьшение диаметра канальца на 5.00%, 3.05%, 4.38%, 4.33%, с 1 по 30 сутки периода наблюдения, диаметра просвета канальца – на 2.01%, 2.30%, на 7 и 15 сутки соответственно, а высоты эпителия – на 9.61%, 4.31%, 6.97% и 8.75% с 1 по 30 сутки периода реадaptации.

При морфометрическом исследовании параметров дистальных извитых канальцев почек у половозрелых крыс 1-й группы наблюдалась положительная динамика изменений всех показателей. Так, с 1 по 60 сутки периода наблюдения диаметр канальца увеличивался с  $29.78 \pm 0.13$  мкм по



31.35±0.15 мкм, диаметр просвета канальца увеличивался с 15.94±0.07 мкм по 16.75±0.08 мкм, высота эпителия увеличивалась с 6.91±0.07 мкм по 7.30±0.07 мкм.

У половозрелых крыс 2-й группы наблюдалось увеличение морфометрических показателей по сравнению с животными 1-й группы во все сроки периода наблюдения. Так, после окончания воздействия условий 2-й группы диаметр канальца увеличивался на 9.69%, 9.15%, 9.29%, 6.26%, 3.03%, диаметр просвета канальца – на 18.29%, 18.07%, 17.88%, 10.40%, 5.80% во все сроки периода наблюдения (см. рис. 1, 2).

При сравнении морфометрических показателей у половозрелых крыс 3-й группы с показателями 2-й группы было выявлено достоверное уменьшение диаметра канальца на 2.38%, 2.04%, 3.37%, 4.58%, 2.92%, диаметра просвета канальца – на 8.98%, 8.98%, 9.58%, 6.10%, 4.39% во все сроки периода наблюдения, а высоты почечного эпителия увеличивалась на 6.64%, 7.47%, 5.23% на 1, 7 и 15 сутки периода реадaptации соответственно.

При сравнении морфометрических показателей у половозрелых крыс 4-й группы с показателями 2-й группы было выявлено достоверное уменьшение диаметра канальца на 1.96%, 1.70%, 2.45%, 4.41%, 2.58%, диаметра просвета канальца на 7.51%, 7.81%, 9.14%, 4.88%, 4.08% во все сроки периода наблюдения, а высота эпителия увеличивалась на 5.63%, 6.67%, 6.84% на 1, 7 и 15 сутки периода наблюдения соответственно.

При морфометрическом исследовании параметров дистальных извитых канальцев почек у крыс старческого возраста 1-й группы наблюдалось увеличение диаметра канальца с 32.46±0.16 мкм по 33.24±0.16 мкм, увеличение диаметра просвета канальца с 17.87±0.07 мкм по 19.45±0.09 мкм, уменьшение высоты эпителия с 7.29±0.09 мкм по 6.89±0.08 мкм с 1 по 60 сутки периода наблюдения.

При сравнении морфометрических показателей крыс старческого возраста 2-й группы с животными 1-й группы наблюдалось увеличение диаметра канальца и просвета канальца во все сроки периода наблюдения (см. рис. 1, 2). Так, диаметр канальца увеличивался на 8.25%, 8.10%, 7.89%, 7.13%, 4.35%, а диаметр просвета канальца на 13.89%, 13.69%, 14.24%, 13.50%, 8.25% с 1 по 60 сутки.

При сравнении морфометрических показателей 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 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 [Шамало и др., 2010; Голованова, Колечкина, 2012; Опанасенко и др., 2013; Dogan et al., 2014; Manay et al., 2015]. При этом эхинацея пурпурная обладает менее выраженным мембраностабилизирующим и антиоксидантным действием по сравнению с тиотриазолином, чем объясняется ее менее высокая эффективность при использовании.

### Выводы

1. После 60-дневного ингаляционного воздействия толуола с единоразовой экспозицией 5 часов в концентрации 500 мг/кг (10 ПДК) наблюдается увеличение диаметров дистальных извитых канальцев и их просвета, что происходит за счет отека эпителия и, вероятно, за счет увеличения объема первичной мочи.

2. В период реадaptации после воздействия паров толуола темпы восстановления гистоморфометрических параметров дистальных извитых канальцев зависели от возраста подопытных животных. Быстрее всего эти показатели восстанавливались у неполовозрелых крыс. У крыс старческого возраста восстановление показателей было минимальным.

3. 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 дистальных извитых канальцев. Использование тиотриазолина было более эффективным, чем применение эхинацеи.

## Список литературы References

- Голованова Е.В., Колечкина И.А. 2012. Опыт применения тиотриазолина в лечении больных с алкогольной болезнью печени. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. (3): 96–99.
- Golovanova E.V., Kolechkina I.A. 2012. Opyt primeneniya tiotriazolina v lechenii bol'nykh s alkogol'noy boleznyu pecheni [Experience with thiotriazoline in the treatment of patients with alcoholic liver disease]. Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya. (3): 96–99. (in Russian)
- Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В. 1983. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. К.: «Вища інкола», 383.
- Zapadnyuk I.P., Zapadnyuk V.I., Zakhariya E.A., Zapadnyuk B.V. 1983. Laboratornye zhivotnye. Razvedenie, sodержanie, ispol'zovanie v eksperimente [Laboratory animals. Breeding, maintenance, use in the experiment]. K.: «Vishcha shkola», 383. (in Russian)
- Каликин К.Г., Высоцкий И.Ю., Гречишкина Т.Ф., Андросов Е.Д. 2008. Состояние перекисного окисления липидов в организме животных при воздействии летучих компонентов эпоксидных смол. Український медичний альманах. 11 (6): 136–138.
- Kalikin K.G., Vysotskiy I.Yu., Grechishkina T.F., Androsov E.D. 2008. Sostoyanie perekisnogo okisleniya lipidov v organizme zhivotnykh pri vozdeystvii letuchikh komponentov epoksidnykh smol [Condition of lipid peroxidation in organism of animals under the impact of volatile components of the epoxy resins]. Ukraïns'kiy medichniy al'manakh. 11 (6): 136–138. (in Russian)
- Ковешников В.Г., Фомина К.А., Лузин В.И., Лутовсков Д.А. 2013. Экологическая морфология органов эндокринной, иммунной и костной систем в условиях хронического ингаляционного влияния летучих компонентов эпоксидных смол. Астраханский медицинский журнал. 8 (1): 128–131.
- Koveshnikov V.G., Fomina K.A., Luzin V.I., Lugovskov D.A. 2013. Ekologicheskaya morfologiya organov endokrinnoy, immunnoy i kostnoy sistem v usloviyakh khronicheskogo ingalyatsionnogo vliyaniya letuchikh komponentov epoksidnykh smol [Ecological morphology of the endocrine, immune and skeletal systems under chronic inhalation influence of volatile components of epoxy resins]. Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal. 8 (1): 128–131. (in Russian)
- Овчаренко В.В., Маврич В.В. 2004. Комп'ютерна програма для морфометричних досліджень «Master of Morphology». Свід. про реєстрацію авт. права на винахід № 9604.
- Ovcharenko V.V., Mavrich V.V. 2004. Komp'yuterna programa dlya morfometrichnikh doslidzhen' «Master of Morphology» [Computer program for morphometric studies «Master of Morphology»]. Svid. pro reestratsiyu avt. prava na vinakhid № 9604. (in Ukrainian)
- Реброва О.Ю. 2002. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиа Сфера, 312.
- Rebrova O. Yu. 2002. Statisticheskiy analiz meditsinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA [Statistical analysis of medical data. The use of the application package STATISTICA]. M.: Media Sfera, 312. (in Russian)
- Волошин В.М. 2009. Ефекти інгаляційного впливу толуолу на масу селезінки статевозрілих щурів. Український медичний альманах. 12 (5): 65–68.
- Voloshyn V.M. 2009. Efekty ingal'jatsijnogo vplyvu toluolu na masu selezinky statevozriylyh shhuriv [The effects of toluene inhalation on weight of spleen in mature rats]. Ukraïns'kiy medychniy al'manah. 12 (5): 65–68. (in Ukrainian)
- Волошина І.С. 2011. Ефекти інгаляційного впливу епіхлоргідрину на сім'яники статево незрілих щурів. Український морфологічний альманах. 9 (3): 62–64.
- Voloshyna I.S. 2011. Efekty ingal'jatsijnogo vplyvu epikhlorgidrinu na sim'janyky statevonezriylyh shhuriv [The effects of epichlorohydrin inhalation on testicles in immature rats]. Ukraïns'kiy morfologichniy al'manah. 9 (3): 62–64 (in Ukrainian)
- Опанасенко Г.В., Братусь Л.В., Гавенаускас Б.Л., Гончар О.О., Маньковська І.М., Носар В.І., Французова С.Б. 2013. Стан і способи фармакологічної корекції кисне залежних процесів у тканинах пародонта при тривалому іммобілізаційному стресі. Фізіологічний журнал. 59 (1): 17–24.
- Oranasenko G.V., Bratus' L.V., Gavenauskas B.L., Gonchar O.O., Man'kov's'ka I.M., Nosar V.I., Francuzova S.B. 2013. Stan i sposoby farmakologichnoi' korekciï kysne zaleznyh procesiv u tkanynah parodonta pry tryvalomu immobilizacijnomu stresi [Condition and ways of pharmacological correction of oxygen-dependent processes in periodontal tissues during prolonged immobilization stress]. Fiziologichnij zhurnal. 59 (1): 17–24. (in Ukrainian)
- Шамало С.М., Чайковський Ю.Б., Корсак А.В. 2010. Вплив тиотриазолину на регенерацію периферійного нерва за умов довготривалого мікромеркуріалізму. Вісник морфології. 16 (1): 99.
- Shamalo S.M., Chajkovs'kiy Ju.B., Korsak A.V. 2010. Vplyv tiotriazolynu na regeneraciju peryferijnogo nerva za umov dovgotryvaloogo mikromerkuralizmu [The influence of thiotriazoline on regeneration of peripheral nerve in conditions of long-term micromercurialism]. Visnyk morfologii'. 16 (1): 99. (in Ukrainian)
- Dogan Z., Ergul B., Sarikaya M., Filik L., Gonultas M.A., Hucumenoglu S., Can M. 2014. 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. 27 (6): 1827–1835.
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986, 52
- Liu C., Lin Y., Chan M. [et al.]. 2007. Effects of toluene exposure during brain growth spurt on GABA receptor-mediated functions in juvenile rats. Toxicological Sciences. 95 (2): 443–451.
- Manayi A, Vazirian M, Saeidnia S. 2015. Echinacea purpurea: Pharmacology, phytochemistry and analysis methods. Pharmacognosy Reviews. 9 (17): 63–72.
- Mattia C.J., Ali S.F., Bondi S.C. 2009. Toluene-induced oxidative stress in several brain regions and other organs. Molecular and chemical neuropathology. № 18: 313–328.