

УДК 611.636; 611.637/613.632.4
DOI 10.23648/UMBJ.2017.28.8751

ОСОБЕННОСТИ КОРРЕКЦИИ ТИОТРИАЗОЛИНОМ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРОСТАТЫ И СЕМЕННЫХ ПУЗЫРЬКОВ КРЫС, ВЫЗВАННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПАРОВ ЭПИХЛОРИДРИНА

И.С. Волошина

ГУ Луганской Народной Республики «Луганский государственный медицинский университет
им. Святителя Луки», г. Луганск, Украина

e-mail: is_voloshina@mail.ru

Целью исследования было определение влияния тиотриазолина как корректора морфометрических показателей предстательной железы и семенных пузырьков у неполовозрелых крыс, которые в эксперименте подвергались ингаляционному воздействию эпихлоридрина.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование выполнено на 90 белых крысах-самцах, которые были введены в эксперимент в возрасте 4 нед. с начальной массой 40–50 г. Крысы были разделены на контрольную и экспериментальные серии. Контрольную серию составляли интактные крысы. Первая экспериментальная серия была представлена крысами, которые подвергались ингаляционному воздействию эпихлоридрина в концентрации 10 мг/м³ в течение 60 дней. Вторую серию составили животные, которые на фоне влияния эпихлоридрина получали в качестве корректора тиотриазолин в дозе 117 мг/кг внутривнутрибрюшинно. С помощью программы Master of Morphology были определены линейные размеры семенных пузырьков. Также определялась абсолютная и относительная масса простаты и семенных пузырьков. Окраска препаратов осуществлялась гематоксилином и эозином.

Результаты. 60-дневное ингаляционное воздействие эпихлоридрина у белых крыс неполовозрелого возраста приводит к снижению массы предстательной железы и семенных пузырьков, а также к уменьшению их линейных размеров и дестабилизации структурно-функционального состояния во все исследуемые сроки после прекращения действия ксенобиотика. Применение цитопротектора тиотриазолина в данных условиях приводит к скорейшему восстановлению структуры изучаемых органов в периоде реадaptации, что подтверждается на гистологическом уровне.

Заключение. Использование тиотриазолина в качестве корректора морфологических изменений предстательной железы и семенных пузырьков на фоне действия эпихлоридрина приводит к скорейшему восстановлению структур органов, что проявляется в виде уменьшения разницы между показателями интактных крыс и животных, подвергшихся воздействию токсина.

Ключевые слова: предстательная железа, семенные пузырьки, тиотриазолин, эпихлоридрин, крыса.

Введение. В последнее время особое внимание уделяется роли токсических агентов в развитии мужской субфертильности и бесплодия [1, 2]. Показатели репродуктивного здоровья населения все чаще рассматриваются в качестве чувствительного индикатора экологического неблагополучия. Сегодня в быту и промышленности интенсивно используется огромное количество синтетических органических веществ, в т.ч. полученных на основе эпоксидных смол. Они широко применяются в народном хозяйстве, авто- и судостроении, нефтяной промышленности;

используются для производства лакокрасочных покрытий, клеев, современных моющих средств, косметики и т.п. [3–6]. При использовании эпоксидных материалов в рабочую зону могут попадать их летучие компоненты [6], такие как эпихлоридрин (ЭХГ) и толуол, а также аэрозоли выходных и промежуточных продуктов синтеза.

Данные литературы о токсическом повреждении мужской половой системы после воздействия на организм ЭХГ достаточно противоречивы. В то же время сложные и неблагоприятные обстоятельства, а в ряде реги-

онов и катастрофическая экологическая ситуация требуют лечебных, профилактических мероприятий коррекции в области репродуктивной токсикологии, направленных на улучшение или сохранение здоровья населения [7]. Среди средств коррекции состояний, вызванных воздействием летучих компонентов эпоксидных смол, особое внимание уделяется как веществам природного происхождения, так и традиционной медикаментозной терапии. Одним из перспективных препаратов синтетического происхождения является тиотриазолин, обладающий мембранопротекторным, антиоксидантным, десенсебилизирующим и другими эффектами. Основным механизмом его действия является улучшение образования и расхода энергии через АТФ, а также восстановления баланса между свободнорадикальным окислением и антиоксидантной защитой [8, 9].

Цель исследования. Определение влияния тиотриазолина как препарата-корректора на морфометрические показатели предстательной железы и семенных пузырьков у неполовозрелых крыс, которые в эксперименте подвергались ингаляционному воздействию эпихлоргидрина.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование выполнено на 90 белых крысах-самцах, которые были введены в эксперимент в возрасте 4 нед. с начальной массой 40–50 г. Животные были получены из вивария ГУ «Луганский государственный медицинский университет». Содержание и манипуляции над животными выполнялись в соответствии с основными этическими принципами, изложенными в «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», ратифицированной в 1985 г. в Страсбурге [10]; стандартом идентичного международного документа OECD Test № 421 (Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test) [11]; рекомендациями «О правовых, законодательных и этических нормах и требованиях при выполнении научных морфологических исследований» [12].

Крысы были разделены на контрольную и экспериментальные серии. Контрольную серию (К) составляли интактные крысы. Пер-

вая экспериментальная серия (серия I) была представлена крысами, которые подвергались ингаляционному воздействию эпихлоргидрина в концентрации 10 мг/м³ в течение 60 дней, 5 дней в неделю, 5 ч в сутки. Вторую серию (серия I-ТЗ) составили животные, которые на фоне влияния эпихлоргидрина получали в качестве корректора тиотриазолин в дозе 117 мг/кг внутривентриально. Условия создавались с помощью специальной установки, которая состоит из затравочной камеры и камеры, в которой поддерживалась необходимая концентрация действующего вещества; датчика толуола и вспомогательного оборудования. Каждая серия была разделена на пять групп (по 6 крыс в каждой) в соответствии со сроками выведения животных из эксперимента на 1, 7, 15, 30 и 60-е сут.

После окончания эксперимента животных взвешивали на лабораторных весах и выводили путем декапитации под эфирным наркозом, соблюдая «Методические рекомендации по выводу лабораторных животных из эксперимента».

Внутренние органы половой системы крыс извлекали единым комплексом с окружающей жировой тканью и тщательно препарировали, взвешивали на аналитических весах ВЛА-200 с точностью до 1 мг. Полученные органы с помощью Video Presenter SVP-5500 фотографировали для создания обзорных фотографий, а также для дальнейшего макроморфометрического анализа, который осуществляли с помощью оригинальной компьютерной программы Master of Morphology, 2008. С помощью вышеупомянутой программы были определены линейные размеры семенных пузырьков. Кроме того, определялись такие показатели, как абсолютная и относительная масса органов.

Фиксацию органов проводили в 10 % растворе нейтрального формалина с последующей промывкой проточной водой и обезвоживанием в батарее спиртов возрастающей концентрации по общепринятой методике. Материал заливали в парафиновые блоки. На микротоме получали срезы толщиной 4–5 мкм. Окраску препаратов осуществляли гематоксилином и эозином. Детали гистологического строения срезов изучали с помощью

микроскопа Olympus BX-41 с использованием объективов Plan 4× ∞/-, Plan 10× ×/0,25, Plan 40× ×/0,65 ∞ / 0,17.

С помощью статистических методов исследования и программы Basic Statistic.6.0 определяли среднее (Mean), среднее квадратическое отклонение (SD) в каждой группе, критерий Стьюдента (t). Достоверной считали статистическую погрешность менее 5 % ($p < 0,05$). Коэффициент Стьюдента и уровень значимости обозначали как p_1 и t_1 соответственно при сравнении значений групп контрольной и экспериментальной серии I и p_2 , t_2 – при сравнении значений групп I и I-T3 серий.

Результаты и обсуждение. При проведении исследования мы установили, что абсолютная масса предстательной железы крыс, которые подвергались ингаляционному воздействию эпихлоргидрина, была значительно ниже контрольных значений – на 9,31–17,51 %, при-

чем максимальное снижение массы отмечалось в первые два срока реадaptации. Так, на 7-е сут после прекращения действия эпихлоргидрина абсолютная масса простаты была равна 561,17 мг, что составляло 85,7 % ($p=0,006$) от контрольных значений соответствующей группы. Применение тиотриазолина привело к сокращению разрыва между показателями. Статистически достоверная разница между показателями абсолютной массы предстательной железы крыс, которые в эксперименте на фоне эпихлоргидрина получали тиотриазолин, и контрольной серией определена на 7-е и 60-е сут периода реадaptации. Так, на 60-е сут абсолютная масса простаты крыс I-T3 серии составляла 860 мг, или 94,35 % ($p=0,033$) от показателя одноименной группы контрольной серии, и на 4,03 % ($p=0,348$) превышало показатель соответствующей группы I серии (рис. 1).

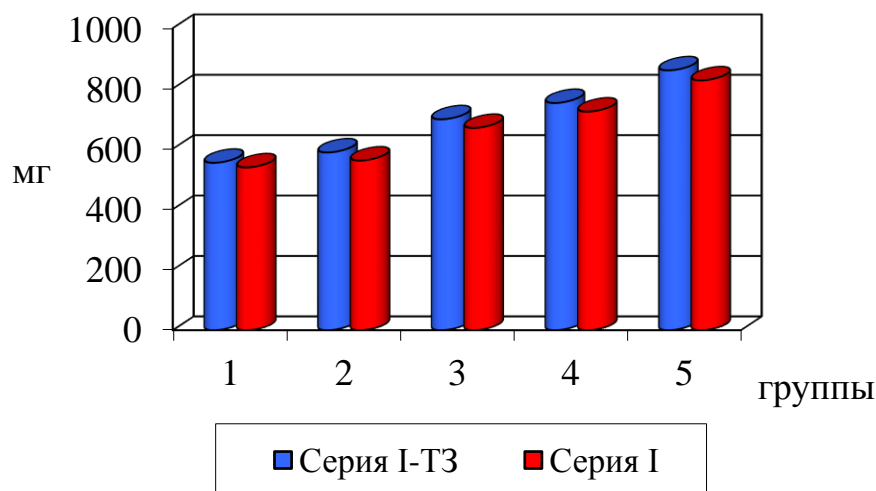


Рис. 1. Показатели абсолютной массы предстательной железы неполовозрелых животных, подвергавшихся воздействию ЭХГ, и крыс, которые на фоне действия ЭХГ получали тиотриазолин

Абсолютная масса семенных пузырьков крыс, которые подвергались влиянию ЭХГ, в разные сроки после окончания эксперимента была ниже контрольных значений. Так, абсолютная масса правого семенного пузырька на 1-е сут составляла 190,33 мг, что на 13,36 % ($p=0,022$) меньше показателей К. Средний показатель абсолютной массы левого семенного пузырька крыс, которые были выведены

из эксперимента на 1, 7, 15 и 30-е сут после прекращения действия ЭХГ, был статистически значимо ниже показателей соответствующих групп К. Так, на 1-е сут после окончания эксперимента он составлял 186,67 мг, или 85,83 % ($p=0,012$) от контроля. Семенные пузырьки крыс, которые получали тиотриазолин, по массе были больше, нежели у животных, которые корректор не получали. Так,

средний показатель относительной массы правого семенного пузырька через 15 и 30 дней после прекращения действия ЭХГ у животных серии I-T3 составил 91,48 ($p=0,003$) и 94,75 % ($p=0,043$) по отношению к контролю, что превышало показатели соответствующих групп серии I соответственно на 5,13 ($p=0,241$) и 4,36 % ($p=0,362$). Относительная масса левого семенного пузырька крыс 3-й группы серии I-T3 статистически достоверно отличалась от показателя контрольной серии – была меньше последнего на 8,31 % ($p=0,050$) – и не достоверно превышала показатели серии I на 3,59 % ($p=0,412$).

Линейные размеры семенных пузырьков крыс I серии так же, как и масса органов, были ниже показателей контрольной серии. А размеры крыс I-T3 серии превышали показатели I серии и приближались к контрольным значениям. Например, средний показатель длины правого семенного пузырька крыс I серии на 7-е сут после прекращения действия ЭХГ был на уровне 9,77 мм, что составляло 89,78 % ($p=0,079$) от показателей соответствующей группы K, а у животных I-T3 серии на 1-е сут был равен 10,34 мм, что составляло 95,04 % ($p=0,214$) от показателя соответствующей группы контроля и превышало показатель группы I серии на 5,83 % ($p=0,406$).

Длина левого семенного пузырька крыс, которые на фоне действия ЭХГ получали тиотриазолин, в 1-е сут равнялась 9,64 мм, что недостоверно превышало показатель соответствующей группы I серии на 5,82 % ($p=0,472$), а ширина, наоборот, оказалась достоверно большей показателя соответствующей группы животных, которые корректор не получали, – на 5,94 % ($p=0,027$).

Статистически значимая разница между показателем длины левого семенного пузырька контрольной и I серий установлена у крыс 1, 4 и 5-й групп. Так, этот показатель был меньше контроля в 1-е сут на 10,42 % ($p=0,002$), на 30-е сут – на 7,99 % ($p=0,004$), на 60-е сут – на 6,88 % ($p=0,016$). Ширина левого семенного пузырька у животных I серии была достоверно ниже показателей K серии: у крыс 1 и 3 групп I серии она составляла 5,22 и 5,41 мм соответственно, что на

10,62 ($p=0,038$) и 8,15 % ($p=0,011$) меньше показателя соответствующих групп серии K.

При гистологическом исследовании предстательной железы крыс 1, 2 и 3-й групп, которые подвергались воздействию эпихлоргидрина, особое внимание привлекает к себе интерстициальный отек, десквамация железистого эпителия, а также скопления клеток в просвете ацинусов и интерстиции простаты (рис. 2Б). Предстательная железа неполовозрелых крыс экспериментальной серии I-T3 представлена мышечно-эластичной стромой и трубчато-альвеолярными простатическими железами. Секреторные отделы небольшого размера с небольшим количеством простатического секрета. Кое-где в интерстиции наблюдалось скопление клеток (рис. 2А).

На 1, 7 и 15-е сут после прекращения действия ЭХГ у крыс I серии при гистологическом исследовании семенных пузырьков наблюдалось уменьшение количества складок слизистой оболочки и разрушение значительной части эпителия. Следует отметить, что некоторые секреторные отделы пузырьков были опустошены, а другие, наоборот, переполнены густым секретом. К тому же наблюдался процесс отшелушивания тубулоальвеолярных железистых эпителиальных клеток в просвет.

Секреторные отделы семенных пузырьков крыс I-T3 серии заполнены незначительным количеством секрета. Эпителий псевдомногослойный, интерстиций представлен рыхлой волокнистой тканью и значительным количеством гладкомышечных волокон. Только некоторые отделы были со слущенными клетками тубулоальвеолярного железистого эпителия.

Заключение. Таким образом, 60-дневное ингаляционное воздействие эпихлоргидрина с единоразовой экспозицией в течение 5 ч в концентрации 10 мг/кг у белых крыс неполовозрелого возраста обуславливает снижение массы предстательной железы и семенных пузырьков, а также уменьшение их линейных размеров и дестабилизацию структурно-функционального состояния во все исследуемые сроки после прекращения действия ксенобиотика. В то же время использование тиотриазолина в качестве корректора приво-

дит к скорейшему восстановлению структур органов, что подтверждается на гистологическом уровне и проявляется в виде уменьше-

ния разницы между показателями контрольной и серии крыс, подвергшихся воздействию ЭХГ.

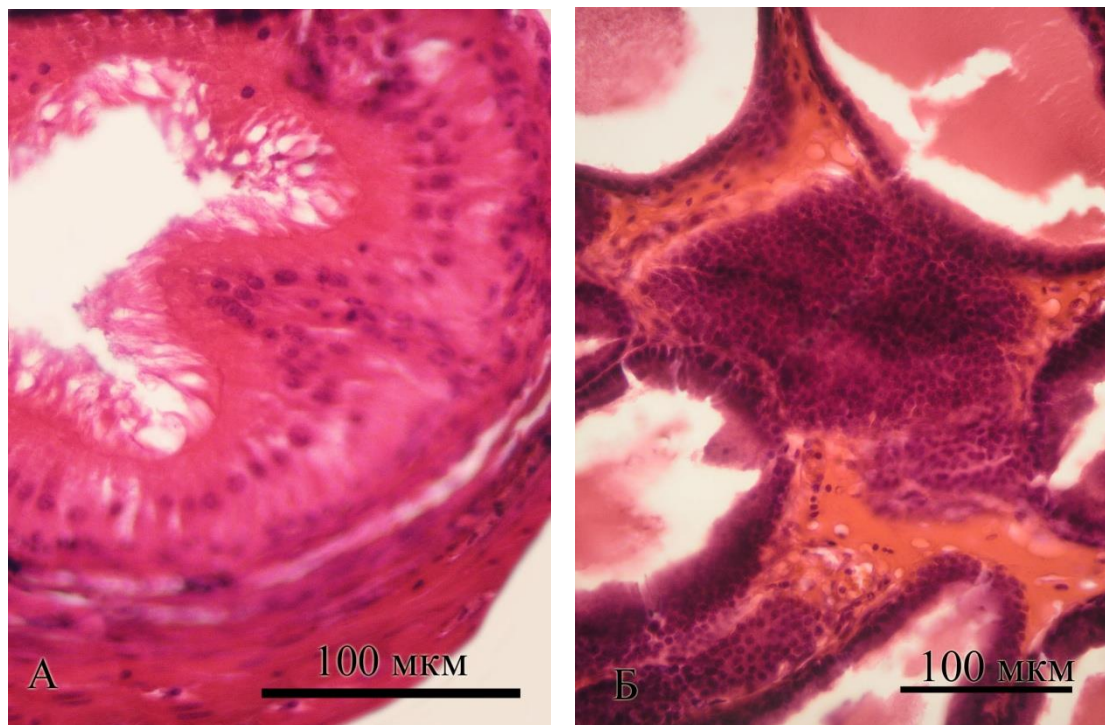


Рис. 2. Предстательная железа неполовозрелой крысы:
 А – фрагмент ацинуса крыс серии I-T3;
 Б – интерстициальный отек, скопление клеток в интерстиции крыс серии I.
 Окраска гематоксилином и эозином

Литература

1. Scialli A., Zinaman M. Reproductive toxicology and Infertility. McGraw-Hill, Inc.; 1993. 338.
2. Wyrobek A. Male biomarkers of abnormal reproductive outcome. Health Environ Digest. 1990; 4: 1–4.
3. Высоцкий И.Ю. Фармакологическая регуляция активности ферментов, принимающих участие в метаболизме эпоксидных соединений. Вестник СумДУ. 2002; 8 (41): 5–12.
4. Давыдова Н.С., Бодиенкова Г.М. Роль генетических маркеров крови АВО-НLA-систем в формировании повышенной чувствительности организма к производственному аллергену эпихлоргидрину. Медицина труда и промышленная экология. 2002; 11: 16–19.
5. Теплова Т.Е., Богатырева Е.В., Ли Я.Б., Василенко И.В., Мухин В.В. К вопросу о нормировании модифицированной эпоксидной смолы марки уп-666-4 в воздухе рабочей зоны. Актуальные проблемы транспортной медицины. 2005; 2: 84–88.
6. Каликин К.Г., Высоцкий И.Ю., Гречишкина Т.Ф., Сиротина М.О. Состояние перекисного окисления липидов в организме животных при воздействии летучих компонентов эпоксидных смол. Украинский медицинский альманах. 2008; 11 (6) (дополн.): 136.
7. Дейнека С.Е. Цитопротекторный эффект эхинацеи пурпурной относительно токсического воздействия свинца и кадмия. Современные проблемы токсикологии. 2000; 1: 47–48.
8. Каюмов У.К. Новые перспективы применения тиотриазолина в общей врачебной практике. Запорожский медицинский журнал. 2010; 12 (5): 34–36.
9. Козловский В.И., Коневалова Н.Ю., Козловская С.П. Новый цитопротектор тиотриазолин. Вестник фармации. 2007; 4 (38): 1–5.
10. European convention for the protection of vertebrate animals used for experim. And other scientific purposes. Coun. of Europe. Strasbourg; 1986. 53.

11. Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС). Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке репродуктивной/эмбриональной токсичности (скрининговый метод). М.: Стандартинформ; 2013: 18.
12. Мишалов В.Д., Чайковский И.В., Твердохлеб Ю.Б. О правовых, законодательных и этических нормах и условиях при выполнении научных морфологических исследований. Морфология. 2007; 1 (2): 108–115.

USE OF TIOTRIAZOLINE FOR CORRECTION OF MORPHOLOGICAL CHANGES IN RAT'S PROSTATE AND SEMINAL VESICLES CAUSED BY EXPOSURE TO EPICHLORHYDRIN VAPOR

I.S. Voloshina

Lugansk State Medical University named after St. Luke, Lugansk, Ukraine

e-mail: is_voloshina@mail.ru

The study aimed at determining the effect of tiotriazoline as a corrector of morphometric parameters of the prostate gland and seminal vesicles in immature rats. The experimental rats were exposed to epichlorohydrin inhalation.

Materials and Methods. An experimental study was performed on 90 white male rats, which were introduced into the experiment at the age of 4 weeks, initial mass 40–50 g. The rats were divided into control and experimental groups. The control group consisted of intact rats. In the experimental group, rats were exposed to epichlorohydrin inhalation (10 mg/m³ during 60 days). In the second group rats, along with epichlorohydrin vapor, received tiotriazoline (117 mg/kg in abdominally) as a corrector. Linear size of seminal vesicles was determined using computer program for Morphometric Research "Master of Morphology". The absolute and specific weights of the prostate and seminal vesicles were also determined. The author used hematoxylin and eosin for staining technique.

Results. The experiment showed that 60-day epichlorohydrin inhalation in white immature rats resulted in a decrease in prostate gland and seminal vesicles weights. The author also observed a decrease in their linear size and destabilization of their structural and functional state after xenobiotic determination. Under the abovementioned conditions the use of cytoprotector tiotriazoline results in early recovery of the organ structure during the reconditioning period. The data were confirmed at the histological level.

Conclusion. The use of tiotriazoline as a corrector of the morphological changes in the prostate gland and seminal vesicles along with epichlorohydrin leads to early recovery of the organ structures. It is proved by the decrease in the difference between the indices of intact rats and those exposed to toxin.

Keywords: prostate gland, seminal vesicles, thiotriazolol, epichlorohydrin, rat.

References

1. Scialli A., Zinaman M. *Reproductive toxicology and Infertility*. McGraw-Hill, Inc.; 1993. 338.
2. Wyrobek A. Male biomarkers of abnormal reproductive outcome. *Health. Environ. Digest*. 1990; 4: 1–4.
3. Vysotskiy I.Yu. Farmakologicheskaya regulyatsiya aktivnosti fermentov, prinimayushchikh uchastie v metabolizme epoksidnykh soedineniy [Pharmacological regulation of the enzyme activity involved in the metabolism of epoxy bonding]. *Vestnik Sum DU*. 2002; 8 (41): 5–12 (in Russian).
4. Davydova N.S., Bodienkova G.M. Rol' geneticheskikh markerov krovi AVO-NLA-sistem v formirovaniy povyshennoy chuvstvitel'nosti organizma k proizvodstvennomu allergenu epikhlorgidrinu. [Role of genetic blood markers of ABO-HLA systems in hypersensitivity to occupational allergen epichlorohydrin]. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2002; 11: 16–19 (in Russian).
5. Teplova T.E., Bogatyreva E.V., Li Ya.B., Vasilenko I.V., Mukhin V.V. K voprosu o normirovaniy modifitsirovannoy epoksidnoy smoly marki up-666-4 v vozdukhke rabochey zony [Rationing of the modified epoxy resin (up-666-4) in the air of the working zone]. *Aktual'nye problemy transportnoy meditsiny*. 2005; 2: 84–88 (in Russian).

6. Kalikin K.G., Vysotskiy I.Yu., Grechishkina T.F., Sirotina M.O. Sostoyanie perekisnogo okisleniya lipidov v organizme zhivotnykh pri vozdeystvii letuchikh komponentov epoksidnykh smol [State of lipid peroxidation in animals under the influence of epoxy resin volatile components]. *Ukrains'kiy medichniy al'manakh*. 2008; 11 (6): 136 (in Russian).
7. Deyneka S.E. Tsitoprotekornyy effekt ekhinatsei purpurnoy otnositel'no toksicheskogo vozdeystviya svintsa i kadmiya [Cytoprotective effect of echinacea purpurea with respect to lead and cadmium toxic effects]. *Sovremennye problemy toksikologii*. 2000; 1: 47–48 (in Russian).
8. Kayumov U.K. Novye perspektivy primeneniya tiotriazolina v obshchevrachebnoy praktike [New prospects for thiotriazoline in general medical practice]. *Zaporozhskiy meditsinskiy zhurnal*. 2010; 12 (5): 34–36 (in Russian).
9. Kozlovskiy V.I., Konevalova N.Yu., Kozlovskaya S.P. Novyy tsitoprotektor tiotriazolin [New cytoprotector tiotriazolin]. *Vestnik farmatsii*. 2007; 4 (38): 1–5 (in Russian).
10. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. Coun. Of Europe, Strasbourg, 1986. 53.
11. *Evraziyskiy sovet po standartizatsii, metrologii i sertifikatsii (EASS). Metody ispytaniya po vozdeystviyu khimicheskoy produktsii na organizm cheloveka. Ispytaniya po otsenke reproduktivnoy/embrional'noy toksichnosti (skrinigovyy metod)* [Euroasian Interstate council for standardization, metrology and certification (EASC). Methods for testing the effects of chemical products on the human body. Tests to assess reproductive/embryonal toxicity (screening method)]. Moscow: Standartinform; 2013: 18 (in Russian).
12. Mishalov V.D. Chaykovskiy I.V., Tverdokhlebyu.B. O pravovykh, zakonodatel'nykh i eticheskikh normakh i usloviyakh pri vypolnenii nauchnykh morfologicheskikh issledovaniy [On legal, legislative and ethical norms and requirements in conducting scientific morphological examination]. *Morfologiya*. 2007; 1 (2): 108–115 (in Russian).