

## ВЛИЯНИЕ ТОЛУОЛА НА УЛЬТРАМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ХРОМАФФИННЫХ КЛЕТОК МОЗГОВОГО ВЕЩЕСТВА НАДПОЧЕЧНЫХ ЖЕЛЕЗ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС

УО «Белорусский государственный медицинский университет»<sup>1</sup>,  
ГУ «Луганский государственный медицинский университет», г. Луганск, Украина<sup>2</sup>

Актуальным вопросом современной медицины является исследование влияния на организм ароматических углеводородов, которые являются антропогенными загрязнителями окружающей среды. К таким ароматическим углеводородам принадлежит толуол. Была изучена динамика изменений ультрамикроскопических показателей хромаффинных клеток мозгового вещества надпочечных желез половозрелых крыс-самцов после завершения шестидесятидневной затравки толуолом. Установлено, что ингаляционная затравка толуолом приводит к заметным изменениям ультрамикроскопических показателей надпочечных желез крыс-самцов на первые сутки после завершения ингаляций толуола. Было отмечено возрастание площади темных гранул эпинефроцитов на 16,2% ( $p < 0,05$ ) и темных гранул норэпинефроцитов на 15,3% в сравнении с соответствующими показателями у интактных крыс контрольной группы. Площадь светлых гранул эпинефроцитов и норэпинефроцитов на первые сутки не изменялась. На шестидесятые сутки после завершения процесса ингаляции толуола изменений показателей не было выявлено.

**Ключевые слова:** надпочечные железы, ультрамикроскопическое строение, мозговое вещество, толуол.

S. N. Smirnov, I. A. Belik

## INHALATION EXPOSURE OF TOLUENE ON THE FEATURES OF PECULIARITIES ULTRAMICROSCOPIC PARAMETERS OF THE CHROMAFFIN CELLS OF MEDULLA OF THE ADRENAL GLANDS IN RATS – MALES

Actual problems of modern medicine is to study the health effects of aromatic hydrocarbons, which are man-made environmental pollutants. Toluene is one of these pollutants. Ultramicroscopic parameters of the chromaffin cells of medulla of the adrenal glands in rats – males after inhalation exposure of toluene was studied. It revealed, that inhalation exposure of toluene leads to marked changes ultramicroscopic parameters of adrenal glands in rats on the first day after inhalation exposure. It was noted an increase in the area of dark granules epinefrocytes of 16,2% and dark granules norepinefrocytes of 15,3% in comparison with the corresponding figures in intact rats in the control group. Area light granules epinefrocytes and norepinefrocytes on the first day did not change. On the sixtieth day after the completion of the inhalation of toluene changes in indicators have been identified.

**Key words:** adrenal glands, ultramicroscopic structure, medulla, toluene.

В современном быстроразвивающемся мире как никогда актуальным вопросом, требующим серьезного изучения, является исследование влияния на организм ароматических углеводородов, которые являются компонентами средств, применяемых в быту, в медицине, в промышленности, или возникающих в процессе производственных циклов. К таким ароматическим углеводородам принадлежит толуол [4; 5; 9].

Надпочечные железы служат основным эффекторным звеном гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и по состоянию этих желез можно судить об адекватности реагиро-

вания адаптивной системы на стрессорные воздействия [6; 7; 8]. В литературных источниках имеется информация о наличии влияния толуола на надпочечные железы крыс, приводящего к глубокими структурными и метаболическим сдвигам в условиях острого эксперимента. Реакция на сильные стрессорные воздействия характеризуется практически одновременным, но различным по степени вовлечением всех морфофункциональных зон надпочечной железы в единую адаптивную реакцию организма. Однако вопрос об особенностях изменений хромаффинных клеток мозгового вещества надпочечных желез при хроническом действии толуола остается открытым.

**Цель исследования** – изучение изменений ультрамикроскопических показателей хромаффинных клеток мозгового вещества надпочечных желез половозрелых крыс-самцов в условиях, возникших после двухмесячного ингаляционного поступления в организм толуола.

**Материал и методы.** Исследование проведено на 60 белых беспородных половозрелых лабораторных крысах – самцах с массой 200–230 г. Животные были получены из вивария ГУ «Луганский государственный медицинский университет» и на протяжении эксперимента содержались согласно требованиям и положениям, установленных «Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986 год). Эксперименты проводились в соответствии с нормативами «Конвенции по биоэтике Рады Европы» (1997 г.), Хельсинской декларации Международной Медицинской Ассоциации «О гуманном отношении к животным» (1996–2000), «Общим этическим принципам экспериментов на животных», утвержденных I Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001) [10].

Животные были разделены на две группы: первая группа – половозрелые интактные крысы-самцы (контрольная группа), вторая группа (исследуемая) – крысы-самцы, которые ежедневно на протяжении двух месяцев в установке для ингаляционного введения веществ получали ингаляции толуола с единоразовой экспозицией 4 часа в 10 ПДК. Для электронномикроскопического исследования фрагменты надпочечных желез размером 1мм<sup>3</sup> фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере рН 7,2 в течение 24 часов, а затем – в 1% осмиевом фиксаторе по Палладе на

протяжении 1 часа. После дегидратации в растворах этанола нарастающей концентрации и в абсолютном ацетоне материал заливали смесью эпоксидных смол эпон-аралдит. На ультрамикротоме УМТП-4 Сумского ПО «Электрон» (Украина) изготавливали полутонкие срезы толщиной 1–2 мкм и окрашивали метиленовым синим. После изучения среза на светооптическом уровне, и прицельной заточки блока получали ультратонкие срезы, которые контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу. Препараты просматривали под электронным микроскопом ЭМ-125 при ускоряющем напряжении 75кВ. Изученный материал документировали в виде негативных и позитивных фотоотпечатков. Анализ цифровых данных проводили с помощью компьютерной программы «Morpholog» («Свідощво про реєстрацію авторського права № 9604», авторы: В. В. Овчаренко, В. В. Маврич, 2004). Полученные с помощью программы данные исследования экспортировали в программу Excel для дальнейшей оценки достоверности отличия, вычисляя доверительный коэффициент Стьюдента (t). Достоверной считали вероятность ошибок менее 5% (p ≤ 0,05). При изучении микрофотографий измеряли и анализировали площадь разных типов секреторных гранул в 100 мкм<sup>2</sup> цитоплазмы хромаффинных клетках мозгового вещества надпочечных желез [1, 2, 3].

**Результаты и обсуждение.** При изучении динамики изменения площади разных типов секреторных гранул цитоплазмы хромаффинных клеток мозгового вещества надпочечных желез в течение периода времени с первых по шестидесятые сутки после завершения ингаляции толуола было обнаружено убывание количества темных гранул эпинефроцитов на 15,2% (p < 0,01) (таблица).

**Площадь разных типов секреторных гранул цитоплазмы хромаффинных клеток мозгового вещества надпочечных желез на 100 мкм<sup>2</sup> цитоплазмы после завершения ингаляций толуола**

Тип гранул	Сутки	Тип клеток	Площадь гранул (мкм <sup>2</sup> )	
			Контрольная группа (n = 6)	После завершения ингаляций толуола (n = 6)
Светлые гранулы	1 сутки	эпинефроциты	17,63±1,03	15,36±1,57
		норэпинефроциты	13,07±0,97	10,76±1,15
Темные гранулы	1 сутки	эпинефроциты	19,23±1,11	22,35±0,79*
		норэпинефроциты	15,49±0,97	17,86±0,41*
Светлые гранулы	60 суток	эпинефроциты	17,53±1,04	16,16±1,57
		норэпинефроциты	14,19±0,97	13,78±1,15
Темные гранулы	60 суток	эпинефроциты	20,65±2,01	18,95±0,79
		норэпинефроциты	16,87±1,17	17,16±0,86

\* – p < 0,05 в сравнении с контролем (интактные крысы).

На первые сутки после завершения процесса ингаляции толуола было отмечено статистически достоверное возрастание площади темных гранул эпинефроцитов на 16,2% (p < 0,05) и темных гранул норэпинефроцитов на 15,3% (p < 0,05) в сравнении с соответствующими показателями у интактных крыс контрольной группы. Площадь светлых гранул эпинефроцитов и норэпинефроцитов на первые сутки изменялась статистически недостоверно. На шестидесятые сутки после завершения процесса ингаляции толуола статистически достоверных изменений этих показателей не было выявлено (таблица).

Таким образом, ингаляции толуола приводят к возрастанию площади темных гранул эпинефроцитов и норэпинефроцитов. Это возрастание наблюдается на первые сутки, но отсутствует на шестидесятые сутки после завершения ингаляций.

#### Литература

1. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Автандилов, Г. Г., Суханов С. Г. Методика расчета сложности морфологических систем при морфометрических исследованиях // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1982. – № 8. – С. 77–80.

3. Автандилов, Г. Г. Перспективы применения вероятностных принципов изучения проблем нормальной и патологической морфологии // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1977. – № 5. – С. 5–13.
4. Высоцкий, И. Ю. Взаимосвязь метаболизма эпоксидных соединений с их гепатоповреждающим действием и предполагаемые механизмы протекторной активности изучаемых лекарственных средств // Вісник СумДУ. – 2001. – № 1. – С. 30–40.
5. Висоцкий, І.Ю. Зміна рівня аденілових нуклеотидів в печінці шурів під впливом легких компонентів епоксидних смол // Актуальні питання експериментальної та клінічної медицини. – 2007. – Ч. 2. – С. 7–8.
6. Герашенко, Г. В., Сергієнко Л. Ю., Малова Н. Г. Гістоструктурні характеристики функціонального стану та реакції на стрес надниркових залоз нащадків стресованих матерів // Пробл. ендокринної патології. – 2004. – № 2 – С. 69–75.
7. Кириллов, О. И., Хасина Э. И., Дуркина В. Б. Влияние стресса на постнатальный рост массы тела и надпочечников крыс // Онтогенез. – 2003. – Т. 34, № 5. – С. 372–377.
8. Berry, M. E. Adrenal gland disorders // Radiol. Technol. – 2009. – Vol. 81 (1). – P. 57–73.
9. Hoffmann, H. D., Leibold E., Ehnes C. Dermal uptake and excretion of 14C-toluene diisocyanate (TDI) and 14C-methylene diphenyl diisocyanate (MDI) in male rats. Clinical signs and histopathology following dermal exposure of male rats to TDI // Toxicol Lett. – 2010. – Vol. 199 (3). – P. 364–371.
10. 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.

Поступила 1.09.2014 г.