

Гаврилов В.А.

Возрастные особенности химического состава дентина нижнего резца у белых крыс после 60-дневного воздействия паров эпихлоргидрина

ГУ Луганский государственный медицинский университет, кафедра стоматологии

Gavrilov V.A.

Age-related features of chemical composition of dentin of the lower incisor in rats after 60-day intake of epichlorohydrin vapors

State Establishment Lugansk State Medical University, Department of Dentistry

Резюме

В эксперименте на 420 белых крысах различного возраста – неполовозрелых, половозрелых и сенильных, установили, что воздействие паров эпихлоргидрина в течение 60 дней, с экспозицией 5 часов в 10 ПДК, сопровождается дестабилизацией химического состава дентина нижнего резца. По окончании воздействия паров эпихлоргидрина у неполовозрелых крыс содержание минеральных веществ, кальция, фтора и соотношение кальций/фосфор было меньше контрольных показателей на 9,94, 11,67, 9,90 и 20,09%, у половозрелых – на 8,90, 7,59, 9,44 и 10,48%, а у сенильных – на 6,45, 8,87, 8,79 и 10,24%. В период реадaptации у неполовозрелых достоверные отличия некоторых показателей от контроля регистрировались и на 60 день наблюдения, у половозрелых выявленные изменения медленно сглаживались, а на 60 день наблюдения сохранялись достоверные отличия большинства показателей от контрольных значений. В период старческих изменений явлений восстановления практически не наблюдали, а в некоторых случаях отклонения даже нарастали. Применение, на фоне ингаляций эпихлоргидрина, тиотриазолина внутривентриально в дозе 117,4 мг/кг массы тела, либо настойки эхинацеи пурпурной из расчёта 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы тела сопровождалось сглаживанием негативного влияния паров эпихлоргидрина на химический состав дентина нижнего резца. Использование тиотриазолина было более эффективным, чем применение эхинацеи.

Ключевые слова: дентин, химический состав, эпихлоргидрин, тиотриазолин, настойка эхинацеи пурпурной

Abstract

The study involved 420 male rats of three ages (young, adult and senile). The animals were split into the groups: 1st group comprised control animals, the 2nd group comprised the animals that received inhalations of epichlorohydrin (Ep) vapors in dosage of 10 MPC as a single 5-hour exposure per day, 2nd group - inhalations of Ep and intraperitoneal thiotriazoline (Th) in dosage of 117.4 mg per kg, 4th group - inhalations of Ep and intragastric Echinaceae tinctura (ET) in dosage of 0.1 mg of active substance per 100 grams of body weight. By the 1st day after Ep discontinue, shares of mineral content, calcium, fluorine and Ca/P ratio were lower than those of the control group by 9.94, 11.67, 9.90 and 20.09%; in adult – by 8.90, 7.59, 9.44 and 10.48%; in senile – by 6.45, 8.87, 8.79 and 10.24% respectively. In readaptation period, in young and adult animals alterations persisted up to the 30th day and then started reducing slowly, and in old animals did not exhibit restoration signs. After administration of Th together with Ep restoration of chemical composition of dentin in young animals was observed from the 1st up to the 60th day, and in adult and old animals – from the 7th up to the 60th day. After administration of ET together with Ep restoration of chemical composition of dentin in young animals was observed from the 1st up to the 60th day, and in adult and senile – from the 30th to the 60th day. The thus appeared to be more effective than ET.

Keywords: dentin, chemical composition, epichlorohydrin, Thiotriazoline, Echinaceae tinctura

Введение

В настоящее время масштабы производства и использования эпоксидных смол постоянно возрастают, а их летучие компоненты обладают высокой токсичностью, что позволяет отнести эпоксидные смолы к загрязнителям окружающей среды [1]. Главным сырьевым продуктом в производстве эпоксидных смол является эпихлоргидрин, обладающий раздражающими и сенсibiliзирующими свойствами [2].

Доказано, что длительное воздействие паров эпихлоргидрина сопровождается негативным влиянием на морфогенез органов иммунной, половой и костной систем [3]. Однако, сведения о том, как длительное воздействие эпихлоргидрина влияет химический состав дентина нижнего резца у биологических объектов различного возраста, в доступной литературе отсутствуют.

Целью данного исследования явилось изучение химического состава дентина нижнего резца у белых крыс различного возраста после 60-дневного ингаляционного воздействия паров эпихлоргидрина и применении в качестве корректоров тиотриазолина и настойки эхинацеи пурпурной.

Материал и методы

Экспериментальное исследование было проведено на 420 белых беспородных половозрелых крысах-самцах трех возрастных групп – неполовозрелых, половозрелых и периода инволютивных изменений, полученных из вивария ГУ «Луганский государственный медицинский университет» и содержащихся согласно требованиям и положениям, установленным Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986) [4].

1-ю группу составили крысы (контрольная группа), которым внутривентриально вводили эквивалентное, по объему вводимого в других группах препарата, количество изотонического раствора хлорида натрия в течение 2-х месяцев. 2-я группа – крысы, которые ежедневно, на протяжении двух месяцев, в установке для ингаляционного введения веществ, получали ингаляции эпихлоргидрина с однократной экспозицией 5 часов в 10 ПДК. 3-я группа – животные, которые ежедневно, на протяжении двух месяцев, на фоне ингаляций эпихлоргидрина, получали внутривентриально 2,5% раствор тиотриазолина в дозе 117,4 мг/кг массы тела (производство АТ «Галичфарм», г. Львов). 4-я группа – крысы, которые на протяжении двух месяцев, ежедневно, на фоне ингаляций эпихлоргидрина, получали внутривентриально настойку эхинацеи пурпурной, из расчета 0,1 мг сухого вещества на 100 г массы тела (производство «ЗАТ» Фармацевтическая фабрика «Виола», г. Запорожье). Расчет дозировки вводимых препаратов производили с учетом рекомендаций Ю.Р. и Р.С. Рыболовлевых [5].

Крыс выводили из эксперимента на 1, 7, 15, 30 и 60 сутки после завершения двухмесячного воздействия эпихлоргидрина, посредством декапитации под эфирным наркозом, выделяли нижний резец и сепарировали дентин. Химическое исследование дентина состояло в определении содержания воды, органических и минеральных веществ, которые рассчитывали весовым методом, последовательно, после высушивания костей до постоянного веса при температуре 105°C в сушильном шкафу и озоления в муфельной печи при температуре 450-500°C в течение 12 часов [6]. Для дальнейшего исследования 10 мг золы растворяли в 2 мл 0,1 N химически чистой соляной кислоты, доводили до 25 мл бидистиллированной водой. В полученном растворе определяли содержание натрия, калия, меди, фтора и кальция на атомно-абсорбционном фотометре типа «Сатурн-2» в режиме эмиссии в воздушно-пропановом пламени [7], а также содержание фосфора колориметрически по Бригсу на электрофотокolorиметре КФК-3 [8].

Все полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [9] и оценивали при обязательном сопоставлении с аналогичными показателями животных одновозрастной контрольной группы.

Результаты

Возрастные минерального и макроэлементного состава дентина нижнего резца у контрольных неполовозрелых и половозрелых животных свидетельствуют о равновесии между процессами кристаллизации и резорбции, а в период старческих изменений – о преобладании в данный возрастной период процессов резорбции над процессами кристаллизации, что является отражением развития сенильного остеопороза и генерализованного остеопороза. Полученные данные также соответствуют, описанной в литературе и наших предшествующих исследованиях, возрастной динамике химического состава дентина нижнего резца [10].

Воздействие паров эпихлоргидрина в течение 60 дней, с однократной экспозицией 5 часов в 10 ПДК, сопровождалось дестабилизацией химического состава дентина нижнего резца у подопытных животных всех возрастных групп.

На 1 день после окончания воздействия паров эпихлоргидрина содержание воды в дентине резца у неполовозрелых крыс было больше значений 1-й группы на 55,24%, а содержание органических и минеральных веществ – меньше на 6,68 и 9,94%. При этом содержание в золе дентина кальция и фтора, а также соотношение кальций/фосфор были меньше контрольных значений соответственно на 11,67, 9,90 и 20,09%, а содержание фосфора – больше на 10,45%. Наконец, содержание в золе дентина гидрофильных макроэлементов – натрия и калия было больше значений 1-й группы на 9,90 и 7,76%.

У половозрелых белых крыс на 1 день после окончания воздействия содержание воды в дентине нижнего резца, а также содержание натрия и калия были больше значений 1-й группы соответственно на 93,23, 10,08 и 13,47%, а содержание органических и минеральных веществ – меньше на 9,62 и 8,90%. Наконец, содержание кальция и фтора, а также соотношение кальций/фосфор были меньше значений 1-й группы соответственно на 7,59, 9,44 и 10,48%.

Наконец, в инволютивный возрастной период на 1 день после окончания воздействия содержание воды в дентине резца было больше значений 1-й группы на 66,78%, а содержание натрия и калия – на 10,00 и 11,31%. При этом содержание органических и минеральных веществ было меньше значений 1-й группы на 5,29 и 6,45%, а содержание кальция в костной золе и соотношение кальций/фосфор – на 8,87 и 10,24%.

Темпы восстановления химического состава дентина, после прекращения воздействия паров эпихлоргидрина, также зависели от возраста подопытных животных.

У неполовозрелых крыс содержание воды в дентине резца оставалось больше значений 1-й группы во все установленные сроки на 62,59, 62,03, 42,89 и 33,03%, а содержание натрия и калия в период с 7 по 30 день – соответственно на 10,04, 10,22 и 7,56 и на 9,40, 8,55 и 8,54%. Также, на 7 день наблюдения больше значений 1-й группы оставалось еще и содержание фосфора – на 8,22%. При этом содержание в дентине минеральных веществ оставалось меньше значений 1-й группы во все сроки наблюдения на 11,69, 7,74, 6,16 и 5,12%, а содержание органических веществ с 7 по 30 день – на 3,37, 13,12 и 5,13%. Наконец, во все сроки наблюдения содержание кальция было меньше значений 1-й группы соответственно на 9,67, 10,30, 9,27 и 4,67%, содержание фтора – на 9,56, 7,47, 6,77 и 6,74%, а соотношение кальций/фосфор – на 16,50, 14,38, 12,14 и 6,24%.

В репродуктивный возрастной период содержание воды в дентине резца оставалось больше значений 1-й группы во все сроки наблюдения на 84,07, 68,88, 62,92 и 43,41%, а доля минеральных веществ – меньше соответственно на 8,70, 7,49, 7,16 и 5,58%. Также, содержание органических веществ в дентине оставалось меньше значений 1-й группы с 7 по 30 день наблюдения – на 8,60, 7,67 и 7,15. При этом содержание кальция и соотношение кальций/фосфор во все установленные сроки наблюдения оставались меньше значений 1-й группы соответственно на 8,73, 7,91, 7,04 и 4,61% и на 11,95, 11,90, 12,31 и 6,84%, а содержание фтора с 7 по 30 день – на 8,39, 8,18 и 7,25%. Наконец, содержание натрия и калия в дентине оставалось больше значений 1-й группы во все сроки наблюдения соответственно на 9,55, 10,54, 9,02 и 8,82% и на 12,76, 14,17, 10,98 и 8,97%, а содержание фосфора с 7 по 30 день – на 3,83, 4,51 и 6,05%.

Содержание воды в дентине нижнего резца инволютивных животных 2-й группы оставалось больше значений 1-й группы во все сроки наблюдения на 100,28, 63,74, 58,97 и 48,86%, а содержание органических и минеральных веществ – меньше соответственно на 7,33, 6,75, 9,64 и 4,96% и на 6,95, 7,34, 8,07 и 8,85%. Также, содержание кальция и фтора в золе дентина было меньше значений 1-й группы во все сроки наблюдения соответственно на 7,43, 6,56, 7,7 и 8,03 и на 9,85, 8,93, 8,29 и 8,81%, а

соотношение кальций/фосфор – на 10,10, 9,20, 12,78 и 11,03%. Наконец, содержание во все сроки наблюдения было больше значений 1-й группы на 10,25, 11,28, 7,61 и 8,17% и на 9,77, 10,41, 11,53 и 12,18%, а содержание фосфора на 30 день – на 5,74%.

Таким образом, 60-дневное воздействие на организм подопытных животных паров эпихлоргидрина сопровождается дестабилизацией химического состава дентина нижнего резца, выраженность и темпы восстановления которых зависят от возраста. У неполовозрелых крыс достоверные отличия исследуемых показателей от контроля регистрировали и на 60 день наблюдения, у половозрелых выявленные изменения медленно сглаживались, а на 60 день наблюдения сохранялись достоверные отличия большинства показателей от значений 1-й группы. В инволютивный возрастной период явлений восстановления практически не наблюдали, а в некоторых случаях отклонения даже нарастали.

В том случае, когда на протяжении двух месяцев на фоне ингаляций эпихлоргидрина применяли 2,5% раствор тиотриазолина в дозе 117,4 мг/кг массы тела, изменения химического состава дентина нижнего резца у животных всех возрастных групп сглаживались.

У неполовозрелых животных 3-й группы эксперимента на 1 день наблюдения содержание воды в дентине было меньше значений 2-й группы на 20,92%, а содержание минеральных веществ, кальция и фтора и соотношение кальций/фосфор – больше на 7,66, 10,04, 7,45 и 17,42%.

В период реадaptации после воздействия на организм неполовозрелых крыс условий 3-й группы содержание воды в дентине резца оставалось меньше значений 2-й группы во все сроки наблюдения соответственно на 19,71, 31,43, 23,25 и 21,19%, а содержание натрия на 15 день – на 7,14%. При этом содержание минеральных веществ в дентине было больше значений 2-й группы с 7 по 60 день наблюдения на 7,09, 7,18, 5,48 и 5,16%, а содержание органических веществ на 15 день – на 11,48%. Также, содержание кальция в золе дентина с 7 по 30 день было больше значений 2-й группы на 7,26, 7,73 и 8,34%, содержание фтора с 15 по 60 день – на 6,11, 5,34 и 7,15%, а соотношение кальций/фосфор – во все сроки наблюдения на 13,36, 12,46, 9,19 и 5,94%.

Сравнение результатов химического анализа дентина нижнего резца у половозрелых животных 3-й группы эксперимента с аналогичными значениями 2-й группы показало, что содержание воды во все сроки наблюдения было меньше значений 2-й группы соответственно на 18,56, 26,62, 30,73 и 26,67%, а содержание минеральных веществ – больше на 3,65, 5,77, 6,36 и 5,34%. В этих условиях соотношение кальций/фосфор было больше значений 2-й группы с 15 по 60 день наблюдения на 7,75, 10,13 и 6,29%, а содержание кальция на 15 и 30 день – на 6,34 и 4,65%. Наконец, содержание фосфора на 30 день было меньше значений 2-й группы на 4,82%, а содержание калия на 60 день – на 7,32%.

У сенильных крыс 3-й группы эксперимента содержание воды в дентине было меньше значений 2-й группы с 7 по 60 день наблюдения на 17,88, 23,30, 20,96 и 31,44%, а содержание минеральных веществ с 15 по 60 день – больше на 5,05, 5,44 и 9,51%. Также, содержание кальция и соотношение кальций/фосфор были больше значений 2-й группы на 30 и 60 день соответственно на 4,28 и 8,11 и на 8,11% и 8,97%, а содержание фтора на 60 день – на 8,78%. Наконец, содержание калия на 7, 30 и 60 день наблюдения было меньше значений 2-й группы на 6,53, 8,65 и 10,67%.

Обсуждение

Таким образом, применение тиотриазолина на фоне воздействия паров толуола у белых крыс различного возраста сопровождается сглаживанием негативного влияния условий эксперимента на химический состав дентина нижнего резца. У неполовозрелых крыс эти явления наблюдали с 1 по 60 день периода реадaptации, у половозрелых и инволютивных – с 7 по 60 день наблюдения.

В том случае, когда подопытные животные на фоне ингаляций эпихлоргидрина получали настойку эхинацеи пурпурной, изменения химического состава дентина нижнего резца также сглаживались, но в меньшей степени, чем при использовании тиотриазолина.

У неполовозрелых крыс 4-й группы на 1 день наблюдения содержание воды и калия в дентине резца было меньше значений 2-й группы на 14,01 и 4,04%, а содержание органических веществ и соотношение кальций/фосфор – больше на 5,33 и 7,21%.

В период реадaptации, после воздействия условий 4-й группы на неполовозрелых крыс, содержание воды в дентине было меньше значений 2-й группы с 7 по 60 день наблюдения на 10,67, 25,48, 22,76 и 17,92%, содержание калия на 30 день – на 7,70%, а содержание натрия на 60 день – на 6,11%. При этом содержание минеральных веществ в дентине резца было больше значений 2-й группы с 7 по 30 день наблюдения на 3,97, 6,29 и 5,30%, а содержание органических веществ на 15 день – на 7,89%. Также, на 30 день содержание кальция и фтора в золе дентина и соотношение кальций/фосфор были больше значений 2-й группы соответственно на 7,91, 6,75 и 9,70%.

У половозрелых животных 4-й группы эксперимента содержание воды в дентине на 30 и 60 день наблюдения было меньше значений 2-й группы на 23,59 и 29,64%, а содержание фосфора на 30 день и содержание калия на 60 день – на 4,59 и 7,62%. Также, содержание минеральных веществ в дентине и соотношение кальций/фосфор были больше значений 2-й группы на 30 и 60 день на 4,62 и 5,93% и на 16,86 и 6,19%, а содержание органических веществ на 30 день – на 5,03%.

Наконец, у сенильных крыс 4-й группы эксперимента содержание воды в дентине резца на 30 и 60 день наблюдения было меньше значений 2-й группы на 15,42 и 21,95%, а доля минерального компонента, содержание кальция и соотношение кальций/фосфор на 60 день – больше соответственно на 6,53, 4,94 и 7,49%.

Таким образом, применение настойки эхинацеи пурпурной на фоне воздействия паров эпихлоргидрина сопровождается сглаживанием негативного влияния условий эксперимента на химический состав дентина нижнего резца. У неполовозрелых крыс эти явления были выражены в ходе всего периода наблюдения, а у половозрелых и инволютивных – на 30 и 60 день. Эффективность применения настойки эхинацеи пурпурной в целом была ниже, чем применение тиотриазолина.

Заключение

Полученные результаты позволяют утверждать, что 60-дневное воздействия паров эпихлоргидрина на организм белых крыс различного возраста сопровождается дестабилизацией химического состава дентина нижнего резца, что выражается в уменьшении содержания минеральных и органических веществ, кальция и фтора, а также соотношения кальций/фосфор. В период реадaptации, после воздействия паров эпихлоргидрина темпы восстановления химического состава дентина нижнего резца

зависели от возраста подопытных животных. В большей степени химический состав дентина восстанавливался у неполовозрелых крыс, в период инволютивных изменений эти явления практически не наблюдались. Применение на фоне ингаляций паров эпихлоргидрина тиотриазолина либо настойки эхинацеи пурпурной сопровождалось сглаживанием негативного влияния условий эксперимента на химический состав дентина нижнего резца. Использование тиотриазолина было более эффективным, чем применение эхинацеи.

Конфликт интересов. Работа является составной частью НИР кафедры анатомии человека ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» «Морфогенез органов эндокринной, иммунной и костной систем под хроническим влиянием летучих компонентов эпоксидных смол» (гос. регистр. № 0109U00461).

Литература

1. Майданюк О.О. Вплив побутової хімії та шкідливих речовин на організм людини // Український науково-медичний молодіжний журнал. 2011. № 1. С. 166–167.
2. Epichlorohydrin in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. World Health Organization, 2004. 15 p.
3. Волошин В.М. Морфологічні зміни тимусу статево незрілих білих щурів після інгаляційного впливу епіхлоргідрину та можливість їх корекції тиотриазоліном // Український морфологічний альманах. 2012. 10. № 1. С. 118–121.
4. 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.
5. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности // Доклады АН СССР. 1979. Т. 247, № 6. С. 1513–1516.
6. Полуэктов Н.С. Методы анализа по фотометрии пламени. М.: Химия, 1967. 307 с.
7. Брицке Э.М. Атомно-абсорбционный спектральный анализ. М.: Химия. 1982. 244 с.
8. Новиков Ю.В., Аксюк А.В., Ленточников А.М. Применение спектрографии для определения минерального состава костной ткани при гигиенических исследованиях // Гигиена и санитария. 1969. № 6. С. 72–76.
9. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев: Морион. 2000. 320 с.
10. Левченко Н.В., Лузин В.И. Возрастные особенности химического состава нижней челюсти белых крыс после введения им циклоферона // Загальна патологія та патологічна фізіологія. 2012. Т. 7. № 2. С. 70–74.