

УДК 575.224.23:599.323.4

Суворова М.А. Шалахметова Т.М.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПАРЕНХИМЫ ПЕЧЕНИ КРЫС

ПРИ ИНГАЛЯЦИИ ПАРАМИ ТОПЛИВА КЕРОСИН Т-1

(Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

Результаты гистологического и морфометрического исследования печени крыс показали, что длительная ингаляция крыс парами ракетного топлива керосин Т-1 приводит к развитию в паренхиме органа дистрофических изменений, мелкоочаговых некрозов и воспалительной реакции.

Реактивное топливо Т-1 представляет собой сложную смесь ароматических (19,5%), алифатических (35,5%) и циклановых (45,0% группового состава) углеводородов. Высокоочищенные керосиновые фракции повсеместно применяются как топливо для военной и гражданской авиации и в паре с кислородом в ракетносителях типа «Союз» и «Молния». Западным подобием керосина Т-1 является топливо JP-8, широко применяемое ВВС США и НАТО. По некоторым подсчетам, мировое ежегодное потребление топлива только гражданской авиацией составляет около 240 миллиардов литров /1/. При исследовании примесей в воздухе аэродромов и вокруг них обнаружены алифатические и ароматические углеводороды (п-гептен, п-нонан, бензен, о-ксилен, нафтаген), альдегиды (формальдегид, ацетальдегид), полициклические ароматические углеводороды (фенантрен, пирен, бензопирен) /2/. Эффекты топлив на млекопитающих изучаются в связи с оценкой профессионального риска для здоровья персонала, обслуживающего аэродромы, и военных. Экспериментально доказано нейротоксическое, пневмотоксическое и иммунотоксическое действие топлив на основе керосина при дермальном контакте и ингаляции паров и аэрозолей /3/. Однако практически не изучено гепатотоксическое воздействие керосиновых топлив на млекопитающих, в частности, на печень. От характера протекания и надежности осуществляемых в печени процессов в значительной мере зависят полноценная работа других органов и систем и адаптационные свойства организма в целом. Для выяснения гепатотоксических эффектов топлива керосин Т-1 было проведено морфологическое и морфометрическое исследование гистоструктуры печени крыс на различных сроках ингаляционного воздействия данным видом топлива.

Материалы и методы

В эксперименте были использованы нелинейные белые половозрелые крысы весом 175 – 200 грамм. Животные были разделены на следующие группы: I группа – контрольные животные; II – VI группы – животные, подвергавшиеся ингаляционному воздействию паров керосина Т-1 в дозе 6 мг/л в течение 1, 4, 8, 16 и 30 дней соответственно, VII – XI группы – контрольные животные для каждой точки эксперимента. Ингаляцию проводили, помещая крыс в специальную камеру на 3 часа. Под эфирным наркозом животным вскрывали брюшную полость, печень немедленно извлекали и для проведения гистологического анализа фиксировали в 10% забуференном формалине. Гистологические препараты изготавливали по общепринятой методике, окрашивали гематоксилином и эозином /4/. Морфометрическое исследование клеток печени проводили, используя стереологический метод точечного счета с использованием морфометрической сетки /5/. Измерения проводили в 100 случайных полях зрения. Метод точечного счета основан на утверждении, что, при наложении на плоскость наблюдения, содержащую несколько объектов, системы точек, отношение количества точек, попавших на объекты, к общему числу точек будет равно удельной площади объектов. При этом удельная площадь сечений объектов на площади среза будет соответствовать удельному объему объекта в образце. Формула:

$$V_V = S_A = P_P,$$

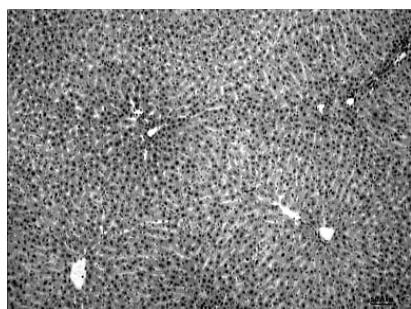
где P – общее количество точек; p – количество точек, попавших на объекты; S_A – удельная площадь; V_V – удельный объем.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

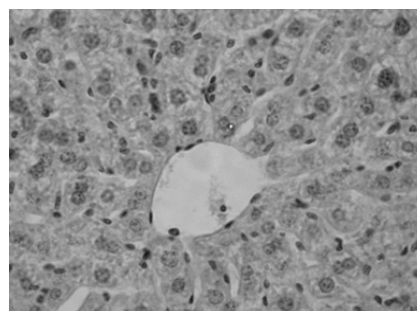
Результаты и их обсуждение

Микроскопическая картина строения печени контрольных крыс соответствует норме – гепатоциты организованы в печеночные балки, исходящие радиально от центральной вены, границы клеток четкие, цитоплазма клеток гомогенная, ядра расположены централь. В просвете синусоидов видны резидентные макрофаги с компактным треугольным ядром, единичные лимфоциты. На 1 и 4 сутки эксперимента не выявлено каких-либо заметных изменений паренхимы печени, за исключением активации элементов ретикулоэндотелиальной системы и незначительного неравномерного полнокровия синусоидов (рис. – А.). Гепатоциты были округлой формы, содержали слабо базофильную цитоплазму и ядра с четкими правильными контурами. С 8 суток ингаляции керосином Т-1 в паренхиме печени проявляются патологические изменения – вакуолизация цитоплазмы и гипохромия ядер гепатоцитов, полиморфизм клеток, нарушения микроциркуляции, активация клеток Купфера (рис. – Б). Эти изменения нарастают по продолжительности воздействия и приводят к развитию гидропической дистрофии и некрозу гепатоцитов. На 16 суток воздействия топливом в паренхиме печени выявляются гепатоциты в состоянии гидропической дистрофии, явления кариолизиса, кариорексиса,

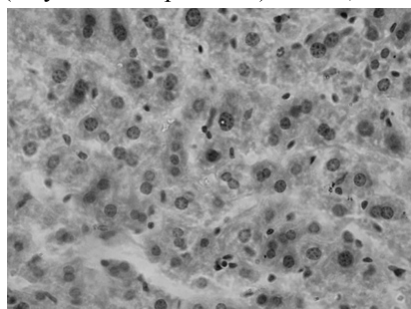
диффузные очажки некроза гепатоцитов, лимфогистиоцитарная инфильтрация (рис. – В). На 30 сутки отмечаются участки баллонной дистрофии гепатоцитов (клетки становятся похожи на растительные с прозрачной цитоплазмой и четкой клеточной стенкой, ядра деформированы, смещены к периферии), появление отдельных воспалительных инфильтратов с преимущественным содержанием лимфоцитов (рис. – Г).



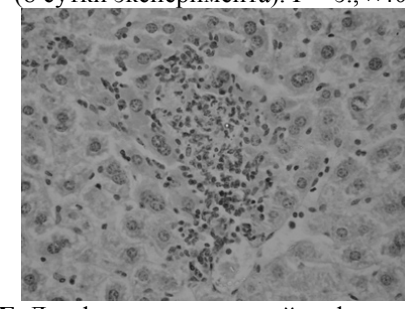
А. Сохранение балочной структуры, незначительное расширение синусоидов (4 сутки эксперимента). Г – э., $\times 100$



Б. Полиморфизм гепатоцитов, вакуолизация цитоплазмы клеток, активация элементов РЭС (8 сутки эксперимента). Г – э., $\times 400$



В. Мелкоочаговые некрозы, расширение синусоидов, дистрофия и некроз клеток (16 сутки эксперимента). Г – э., $\times 400$



Г. Лимфогистиоцитарный инфильтрат в интермедиарной зоне дольки (30 сутки эксперимента). Г – э., $\times 400$

Рисунок Гистоструктура печени крыс на разных сроках воздействия реактивным топливом «керосин Т-1»

Патологические изменения паренхимы наблюдались во всех зонах печеночных долек, хотя на 30 сутки эксперимента инфильтраты и очажки некрозов были локализованы преимущественно в центрлобулярных зонах.

Для количественной оценки наблюдавшихся повреждений ткани печени был проведён морфометрический анализ срезов органа (удельный объём некрозов в паренхиме, удельное количество клеток Купфера и двуядерных гепатоцитов, ядерно–цитоплазматическое соотношение гепатоцитов). Результаты данного анализа представлены в таблице.

Таблица Результаты морфометрического анализа долек печени экспериментальных животных, $M \pm m$

Продолжительность воздействия, сут	Показатели			
	Объём некротизированной ткани, % от площади среза	Количество клеток Купфера (N)	Количество двуядерных гепатоцитов, (N)	Ядерно-цитоплазматическое соотношение гепатоцитов
0 (контроль)	$0,98 \pm 0,38$	$15 \pm 0,89$	$17,5 \pm 0,50$	$0,12 \pm 0,004$
1	$3,5 \pm 0,56^{**}$	$27 \pm 0,47$	$18,6 \pm 0,12$	$0,14 \pm 0,005^{*}$
4	$7,62 \pm 0,45^{***}$	$33 \pm 0,65^{***}$	$24 \pm 0,24^{**}$	$0,10 \pm 0,002^{**}$
8	$16,5 \pm 0,29^{***}$	$44 \pm 0,33^{***}$	$26,8 \pm 0,41^{***}$	$0,13 \pm 0,007$
16	$14,8 \pm 0,44^{***}$	$58 \pm 0,58^{***}$	$28,7 \pm 0,37^{***}$	$0,16 \pm 0,003^{***}$
30	$23,1 \pm 0,61^{***}$	$74 \pm 0,97^{***}$	$29,3 \pm 0,29^{***}$	$0,18 \pm 0,005^{***}$

*Примечание: N – количество клеток на единицу площади; различия с контролем достоверны: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$.*

Морфометрически установлено увеличение ядерно-цитоплазматического соотношения и двуядерных гепатоцитов по сравнению с контролем, что свидетельствует об усилении функциональной активности и интенсивности восстановительных процессов паренхиматозных клеток печени. В печени интоксигированных

крыс возрастает в Из таблицы видно, что на первые сутки после воздействия керосином Т-1 объем некротизированной ткани возрастает в 3,5 раза по сравнению с контролем. Удельный объем некрозов на 8 и 16 сутки увеличивается в 4 раза, а к 30 суткам эксперимента показатель возрастает в 6 раз. Как уже отмечалось выше, объем некрозов в паренхиме печени составляется мелкими очагами некрозов в различных отделах долек. Соответственно усилению патологических изменений в паренхиме печени увеличивается количество клеток Купфера - к 30 суткам в 3 раза. Увеличение макрофагов в паренхиме печени происходит за счет притока моноцитов, привлечённых веществами, появляющимися в интерстициальном пространстве после гибели гепатоцитов. Макрофаги резорбируют остатки гепатоцитов и выделяют большое количество цитокинов и аттрактантов, способствуя постоянному притоку в печень моноцитов и лимфоцитов и поддерживая тем самым процесс воспалительной инфильтрации. С другой стороны, мононуклеары являются источником активных форм кислорода и оксида азота, которые способствуют нарастанию окислительного стресса при повреждении индуцированном токсикантами. Одновременно с развитием патологических изменений в паренхиме печени крыс при длительной ингаляции парами керосина Т-1 увеличивается доля двуядерных гепатоцитов – к 16 и 30 суткам эксперимента процент двуядерных клеток в паренхиме увеличивается в 1,5 раза. Существует мнение, что возрастание доли двуядерных клеток свидетельствует об активации восстановительных процессов паренхимы печени в ответ на гибель части гепатоцитов /6/. Состояние органа, при котором в равной степени отражены реакции повреждения и адаптационные процессы, обеспечиваемые рядом сложных механизмов в сохранных структурах, можно расценивать как адаптацию.

Таким образом, результаты гистологического и морфометрического исследований свидетельствуют о том, что при длительном ингаляционном воздействии на крыс ракетного топлива керосин Т-1 в печени крыс развиваются патологические и компенсаторно-приспособительные реакции, прогрессирующие по мере увеличения продолжительности воздействия. Вероятно, что цитотоксическое действие топлива керосин Т-1 может быть обусловлено в первую очередь действием летучих ароматических углеводородов, входящих в состав топлива. Маркер поступления керосинов в организм – нафтален – метаболизируется микросомальной гидроксимирующей системой до цитотоксичных эпоксидов и дигидродиолов /7/. Образование реактивных метаболитов показано также для ксиленов, бензпирена, триметилбенzenов, некоторых алифатических углеводородов /8/. Развитие белковой дистрофии и некроза позволяет предположить, что действие керосина связано не только с усилением процессов ПОЛ и деструкцией биомембран, но также с извращением синтеза и секреции белка в гепатоцитах в результате ковалентного связывания метаболитов с белками.

Литература

1. Stoica B. A., Boulares H., Rosenthal D.S. et al. *Mechanisms of JP-8 toxicity. I. Induction of Apoptosis in rat lung epithelial cells // Toxicology and applied pharmacology. - 2001. - №171. – P. 94 – 106*
2. Tesseroux I. *Risk factors of jet fuel combustion products // Toxicology letters. – 2004. - №149. – P. 295 - 300*
3. *Kerosene/Jet Fuel. Robust summary of information by American Petroleum Institute, 2003, 96 P.,*
4. Роскин В.А. *Микроскопическая техника. М., 1967. – 560 с.*
5. Автандилов Г.Г. *Медицинская морфометрия. М., 1990. – 384 с.*
6. Романова Л.К. *Регуляция восстановительных процессов. М. - 1984. -209 с.*
7. Wilson A.S., Davis C.D. *Characterization of the toxic metabolite(s) of naphthalene // Toxicology – 1997. - № 120(1). – pp. 75*
8. Anand S.S., Campbell J.L., Fisher J.W. *In Vitro Rat Hepatic Metabolism of n-Alkanes: Nonane, Decane, and Tetradecane // Int J Toxicol. – 2007. - № 26(4). – pp. 325-329*

Тұжырым

Егеу құйрықтың бауырын гистологиялық және морфометрикалық зерттеу нәтижелері, ракета керосин Т – 1 жанармай буымен ұзақ мерзімді ингаляция жасау, бауыр паринхимасында дистрофты өзгерістердің дамуына, бастапқы некроз сонымен қатар қабынуға әкеледі.

Summary

The results of histological and morphometric study of rat' liver has shown that prolonged inhalation by jet fuel kerosene T-1 vapors led to cell dystrophy, necrosis and inflammation processes in parenchyma.

ӘОЖ: 611.311.018:546.48:616.311.2-08:615.246.2

Тұңғышбаева З.Б.

АУЫР МЕТАЛЛ ТҰЗДАРЫНЫҢ ҚЫЗЫЛ ИЕК ҰЛПАЛАРЫНЫҢ ҚҰРЫЛЫМЫНА ӘСЕРІ

(Қазақ ұлттық медицина университеті)

Хлорлы кадмиймен қызыл иек ұлпаларына тұрақты түрде әсер көрсету, оның құрылымында морфологиялық өзгерістер тудыратыны зерттелген. Сонымен қатар, хлорлы кадмиймен әсер ету тоқтатылып, бірнеше апта өтсе де, сол өзгерістер толық қалпына келмейтіні көрсетілген.

Өнеркәсіптің дамуы мағаналы түрде қоршаған ортаның ластануына алып келеді және де бірінші кезекте ластанатын ауа мен су ресурстары. Сондықтан атмосфера мен су ресурстарының ластануы - адамзат тіршілігіне кері әсерін тигізуі мүмкін. Қоршаған ортадан ағзаға түсетін барлық зиянды заттар үшке бөлінеді: химиялық, радиоактивтік және биоксенобиотиктерге. Химиялық заттарға ауыр металдар қорғасын, сынап, сонымен қатар кадмий тұздары да жатады. Олар қоректік заттармен ағзаға түсіп, мөлшері көбейгенде, ағзаға токсинді әсер көрсетеді /1/. Қорғасын мен сынап тұздарының ағзаға әсер көрсетуіне байланысты көптеген зерттеулер жүргізілген және одан алынған қорытындылар туралы біраз мәліметтер әдебиеттерде жарияланған /2,3,4/. Кадмий тұздарының ағзаға әсер көрсетуі өте аз зерттелген /5/, ал ауыз қуысындағы мүше - қызыл иекке әсері, тіпті зерттелмеген. Соған байланысты біз, қызыл иек құрылымына кадмий тұздарының тұрақты әсер көрсетуін зерттеуді мақсат етіп, алдымызға қойдық.

Жұмыстың мақсаты: тұрақты түрде хлорлы кадмиймен уландыру жағдайында, қызыл иектегі ұлпалардың құрылым ерекшеліктерін зерттеу.

Зерттеу және әдістері

зерттеу материалы ретінде Вистар саласына жататын ақ егеуқұйрықтың қызыл иек ұлпалары алынды. Егеуқұйрықтардың салмағы 200-220 гр, жас мөлшері 5-6 айлық. Экспериментальді моделді жасау үшін, егеуқұйрықтар тұрақты түрде хлорлы кадмиймен 2,5 ай барысында уландырылды. Тәулік сайын таңғы сағаттарда (8-9 сағатта) қалыпты вивариялық рационға жануарлардың әр килограмм салмағын есептей отырып, 1,5 мг хлорлы кадмий қосып берілді. Жануарлар 2 топқа бөлінді: бірінші – бақылау; екінші – экзотоксикозбен. Барлық топтағы жануарларды зерттеу, хлорлы кадмиймен тұрақты түрде 2,5 ай уландырғаннан кейін 1, 7, 21 тәулік өткен соң жүргізілді.

Жануарларға декапитация жасағаннан кейін, қызыл иектің ұлпаларын электрондық микроскоппен зерттеу мақсатында, алынған ұлпа фосфаттық буфердегі (рН=7,4) OsO₄ 1% ерітіндісінде фиксацияланды /6/, дегидраттау процесі этил спиртінің ұлғайтылған концентрацияларында жүргізілді және эпонмен қапталды. Микротомның көмегімен қалыңдығы 1 мкм парафинді кесінділер дайындалып, көкшіл метиленмен боялды. Электрондық микроскоппен зерттеу үшін, алдын-ала жәй микроскоптармен алынған материалдарды зерттеп, ұлпалардың қажетті бөліктері анықталды. Іріктеп алған материалдардан қалыңдығы 35-45 нм ультراجіңішке кесінділер LKB-8800 ультратомында дайындалды, цитратты қорғасынмен және урацилацетаттың судағы қаныққан ерітіндісімен контрасттылығы келтіріліп, JEV 1010 электрондық микроскопта зерттелді /7 /.

Нәтижелері және оларды талдау

Морфологиялық зерттеу барысында бақылау тобындағы жануарлардың қызыл иегінің шырышты қабығындағы эпителий жабындысының бұдырлы қабатының тығыздық көлемі 94,2% құрады. Хлорлы кадмийді

1 кесте - Хлорлы кадмийді бергеннен кейінгі 1 тәуліктен соң, егеуқұйрықтардың қызыл иегінің шырышты қабығындағы эпителий жабындыларының жасушасын зерттеудегі морфометриялық нәтижелер (M±m)

Зерттеу параметрлері	Бақылау	Кадмиймен әсер еткеннен кейінгі 1- тәулік
ТЭТ (Vv)	8,03±0,42	4,6±1,15*
Митохондрия (Vv)	5,8±0,16	4,2±0,12*
Тіркелген рибосомалар (Nv)	32,3±4,80	18,5±4,17*
Полисомды бос рибосомалар (Nv)	38,2±5,40	23,5±4,12*
Лизосомалар (Vv)	0,44±0,09	1,24±0,25*
Тонофибрилдер (Vv)	10,8±2,41	5,7±1,12*
Ядрошық пен ядроның арақатысы (Vv)	0,08±0,001	0,04±0,001
Десмосомалар (Nv)	5,6±0,24	4,8±1,52*
Десмосомалар (Vv)	6,4±0,24	4,6±0,62*
Жасуша аралық кеңістік (Vv)	5,8±1,44	7,73±1,56*
Ескерту: Vv – құрылымның тығыздық көлемі (тестік ауданның көлемдік %); Nv - құрылымның сандық тығыздығы (цитоплазманың 1 мкм ³ көлеміндегі саны) *- берілген сандардың, бақылау тобындағылардан нақты айырмашылықтары бар		

біткеннен кейінгі 1 тәуліктен соң, жануарлардың қызыл иегінің шырышты қабығындағы эпителий жабындыларының құрылысын зерттеу барысында, оның әртүрлі бөліктерінде көлемі бойынша айырмашылықтары бар жасуша аралық кеңейген кеңістіктер байқалды. Қызыл иектің шырышты қабығындағы эпителий жабындысының бұдырлы (тікенекті) қабатындағы жасушалардың тығыздық көлемі 64,2% құрады. Бақылау тобындағы жануарларда 30% бұл көрсеткіш артық.

Эпителий жабындысының бұдырлы қабатындағы жасушалар цитоплазмаларының тығыздықтары төмендеп, түйіршікті эндоплазмалық тордың мембраналары әлсіз дамыған, бос полисомалардың сандық мағанасының тығыздығы 40% кеміген, митохондрияның көлемдік тығыздығы 28% төмендеген. Ядроның