

УДК 612.017.4

ИССЛЕДОВАНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО КОМБИНИРОВАННОГО ВЛИЯНИЯ БЕНЗОЛА И ХРОМА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НЕЙРОЭНДОКРИННОЙ И ИММУННОЙ СИСТЕМ КРЫС ВИСТАР

© 2012 Е.В. Ермолина, А.А. Стадников, И.В. Михайлова, А.И. Смолягин

Оренбургская государственная медицинская академия

Поступила в редакцию 02.10.2012

На 20 крысах линии Вистар изучены морфологические особенности гипоталамуса, гипофиза, надпочечников, тимуса, селезенки, лимфатических узлов через 45 и 90 дней перорального комбинированного воздействия бензола и хрома. Установлено явление разбалансирования нейросекреторного процесса гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы, угнетения клеточного звена на фоне активизации В-системы иммунитета.

Ключевые слова: *морфология, гипоталамус, гипофиз, надпочечники, тимус, селезенка, лимфатические узлы, бензол, хром*

Воздействие комплекса химических веществ в концентрациях, наиболее часто встречающихся в реальных условиях, в большинстве случаев вызывает неспецифические реакции организма разной степени выраженности, которые зависят от морфофункционального состояния тканевых и клеточных структур [5]. В последние годы все большее значение приобретают исследования комплексного влияния органических и неорганических соединений как в эксперименте, так и в клинике. К одним из наиболее распространенных загрязнителей окружающей среды можно отнести хром и бензол, широко используемые в различных видах промышленного производства [1, 2]. Вместе с тем до настоящего времени в литературе имеется крайне ограниченное число исследований, посвященных комплексному влиянию хрома и бензола на параметры нейроэндокринной и иммунной систем организма [6-8].

Цель работы: оценка динамики морфофункционального состояния нейроэндокринной и иммунной систем в экспериментальных условиях длительного комбинированного воздействия хрома и бензола.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования проведены на 20 здоровых, половозрелых крысах-самцах Вистар массой 250-300г. Все животные были разделены на 2 группы по 10 животных в каждой и содержались на стандартном пищевом рационе. Первая группа – контроль – получала воду. На протяжении 90 суток животные 2-ой группы вместе с питьевой водой получали смесь бихромата калия (20 мг/кг) и бензола (0,6 мл/кг). Выбор доз, способа введения и длительности эксперимента обоснован выполненными ранее исследованиями [4]. На 45-ый и 90-й дни у крыс обеих групп проводилось гистологическое исследование гипоталамуса, гипофиза, надпочечников, тимуса, селезенки, лимфатических узлов на светооптическом и электронно-микроскопическом уровне. Количественная информация о размерах ядер, ядрышек, цитоплазмы, ядерно-цитоплазматических (ЯЦО) и ядрышко-ядерных (ЯдрЯО) отношениях была получена путем морфометрических исследований гистологических препаратов с использованием винтового окуляр-микрометра МОВ-1. Ультратонкие срезы, изготовленные на ультратоме LKB-5 (Sweden-Bromma), после двойного контрастирования в цитрате свинца и растворе уранилацетата исследованы с помощью электронного микроскопа ЭВМ-100 АК. Результаты обрабатывались статистически методами

Ермолина Евгения Вячеславовна, младший научный сотрудник проблемной лаборатории по изучению механизмов естественного иммунитета

Стадников Александр Абрамович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии. E-mail: Alexander.stadnikov@yandex.ru

Михайлова Ирина Валерьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник проблемной лаборатории по изучению механизмов естественного иммунитета

Смолягин Александр Иванович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий проблемной лабораторией по изучению механизмов естественного иммунитета. E-mail: probllab.orenburg@mail.ru

вариационной статистики с использованием пакета программ для ПК «Microsoft Excel 7.0», «STATISTICA 5.0».

Результаты и их обсуждение. Результаты светооптических и электронно-микроскопических исследований крупноклеточных (супраоптических и паравентрикулярных) ядер гипоталамуса крыс показали значительную цитофизиологическую активизацию нейросекреторных клеток (табл. 1). Это выразалось в увеличении объемов цитоплазмы, ядер и ядрышек «светлых», функционально активных

нонапептидсекретирующих нейронов. Следует отметить, что при комбинированном действии бензола и хрома потенцируется эффект активизации процессов нейросекреции в наонапептидергических нейросекреторных центрах гипоталамуса, которое имеет место и через 90 суток наблюдений. С другой стороны, было установлено существенное изменение соотношения между наонапептидергическими терминалями аксонов нейросекреторных клеток и моноаминергическими нервными волокнами (табл. 2).

Таблица 1. Морфометрические показатели нейросекреторных клеток супраоптических (СО) и паравентрикулярных (ПВ) ядер гипоталамуса крыс Вистар (мкм)

Показатели	Срок воздействия, дни	СО		ПВ	
		контроль	2 группа	контроль	2 группа
ядро	45	14,9±0,8	19,5±0,6*	16,3±0,5	22,6±0,7*
	90		18,7±0,4*		20,9±0,5*
цитоплазма	45	22,7±0,4	29,9±0,7*	27,9±1,1	28,5±0,4
	90		28,5±0,8*		28,0±0,9
ядрышко	45	6,9±0,1	7,9±0,1*	7,7±0,2	8,1±0,3
	90		7,8±0,2*		8,0±0,7

Примечание: здесь и далее * - достоверные отличия ($p < 0,05$) по отношению к контролю

Морфометрический анализ состояния аксонов НСК, расположенных на уровне аксовазальных контактов нейрогипофиза, показал, что у животных 2-ой группы происходит значительное накопление секреторных гранул в

аксонах НСК, что не сопровождается адекватной экстррузией секретируемых продуктов и указывает на снижение поступления гипоталамических наонапептидных гормонов в общий кровоток.

Таблица 2. Соотношение наонапептид- и моноаминергических структур в срединном возвышении гипоталамуса крыс Вистар при комбинированном воздействии бензола и хрома (%)

Параметры	Контроль	45 сут	90 сут
дегранулированные наонапептидергические терминали	47,6±2,4	49,5±2,1	44,2±1,7
нонапептидергические терминали, заполненные секреторными гранулами	21,2±1,1	43,7±1,6*	49,8±2,3*
моноаминергические нервные волокна	19,8±0,9	8,1 ±0,7*	7,1±0,3*

Усиление секреторной деятельности кортикотропцитов (табл. 3) не только не сопровождалось адекватной реакцией коры надпочечников, но, напротив, отмечалось уменьшение протяженности пучковой зоны органа. Иными словами, будучи эффекторным звеном ГГКС, надпочечники не проявили структурных особенностей, свидетельствующих об их усилении функционирования. Определенный вклад в формирование подобных расстройств регуляторной системы вносит описанный нами феномен блокировки высвобождения адаптивных гипоталамических наонапептидов на уровне нейрогипофиза и срединного возвышения

гипоталамуса, что лимитирует реализацию параденогипофизарного пути нейроэндокринной регуляции выработки кортикостероидов [3].

Тимус. В экспериментальных условиях в корковом веществе долей тимуса происходило уменьшение плотности тимоцитов на фоне хорошо определяемой ретикулоэпителиальной стромы органа. В мозговом веществе в 2-3 раза возрастало число тимоцитов. В ретикулоэпителиоцитах и тимоцитах (как в корковом, так и мозговом веществе долек) появлялись крупные липосомы. В них отмечалось набухание митохондрий, просветление матрикса и деструкция крист. В большинстве ретикулоэпителиоцитов

регистировались миелоноподобные структуры. При этом нарушались эпителиолимфоцитарные контакты. Среди ретикулоэпителиальных клеток отмечались явления кариопикноза и кариорексиса, а тельца Гассалья идентифицировались не только в мозговом, но и корковом веществе долек тимуса. Ретикулоэпителиоциты

в субкапсулярной зоне имели глубокие инвагинации, в которых локализовывались лимфоциты. Таким образом, у экспериментальных животных развивался комплекс структурно-функциональных изменений тимуса, свидетельствующий об акцидентальной инволюции органа.

Таблица 3. Протяженность зон коры надпочечников крыс Вистар при комбинированном действии бензола и хрома (мкм)

Наименование зоны	Контроль	45 дней	90 дней
клубочковая	45,8±1,5	39,7±2,1*	42,8±1,9
пучковая	146,9±5,7	122,4±3,8*	127,7±2,2*
сетчатая	36,7±3,7	41,5±6,8	44,9±5,7

Селезенка. Гистологическое изучение серийных срезов селезенки экспериментальных животных показало выраженное полнокровие трабекулярных и пульпарных сосудов. Гиперпластическая реакция герминативных зон сочеталась с накоплением в них плазмоцитов и макрофагов. Морфометрический анализ показал увеличение массы белой пульпы селезенки за счет возрастания территории В-зон. На фоне активации плазмоцитарно-макрофагальных элементов в реактивных зонах регистрировались клетки с признаками кариопикноза и кариорексиса. Значимого возрастания Т-зависимых (периартериальных) зон не происходило (табл. 4). При этом в селезенке обнаруживались многочисленные сидерофаги в красной пульпе органа. Появление подобных клеток и нарастание их

числа свидетельствует о высокой загруженности межклеточных структур селезенки гемосидерином, не успевавшим элиминироваться. В некоторых участках селезенки вокруг резко расширенных пульпарных сосудов отмечены мелкие очаги некроза и диапедезные кровоизлияния. С другой стороны, отмечено формирование вторичных лимфатических узелков с герминативными центрами, содержащими макрофагальные клетки. Здесь же регистрировались плазматические клетки, которые зачастую имели контакты с лимфоцитами. Данное обстоятельство, возможно, связано с выраженной дилатацией кровеносных сосудов и явлениями экстравазации плазмы крови, которые сохранялись у экспериментальных животных и на стадии 90 дней наблюдений.

Таблица 4. Морфометрические показатели белой пульпы селезенки крыс при комбинированном действии бензола и хрома (мкм)

Показатели	контроль	45 дней	90 дней
герминативный центр (В-зона)	810,8±10,6	967,6±6,7*	998,7±5,1*
периартериальные влагаллища (Т-зона)	196,7±4,6	197,9±5,1	199,6±4,1
маргинальная зона	82,6±2,6	88,6±1,7*	110,6±4,1*

Лимфатические узлы. Установлено, что при комбинированном воздействии бензола и хрома происходило увеличение размеров лимфатических узлов и резкое их полнокровие, приводящее к дисконформации клеточных элементов. Размеры лимфоидных фолликулов увеличивались (за счет центров размножения, в которых появляется большое количество плазмобластов и плазмоцитов). Ретикулоэндотелиальные клетки краевых, промежуточных и воротных синусов резко гипертрофировались и многие из них реорганизовывались в макрофаги. Ультраструктурный анализ паракортикальной зоны, расположенной между вторичными узелками и мозговым

веществом лимфоузлов, выявил нарушения внутриклеточных компартментов ретикулярных клеток и лимфоцитов. В цитоплазме регистрировались мелкие митохондрии с признаками разрушения крист, а также появлялись липосомы. Ядра интердигидрирующих клеток, а также контактирующих с ними лимфоцитов, характеризуются конденсацией хроматина (маргинация гетерохроматина), инвагинациями кариолемм.

Выводы: полученные данные позволяют сделать заключение о том, что при комплексном влиянии бензола и хрома в ГГКС крыс Вистар возникает разбалансировка (диспропорция) между уровнем продукции нонапептидов и уровнем

их высвобождения из терминалей аксонов нейросекреторных клеток, что является признаками «изнашивания» ГГКС и ограничения ее адаптивных возможностей. При морфологическом исследовании органов иммунной системы животных установлено развитие комплекса структурно-функциональных изменений тимуса, свидетельствующего об акцидентальной инволюции органа. Напротив, выявлена активизация реактивных центров лимфоидных фолликулов (В-зон) в селезенке и лимфатических узлах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Курляндский, Б.А. Стратегические подходы к обеспечению безопасности производства и использования химических веществ для здоровья человека // Российский химический журнал. 2004. №2. С. 8-15.
2. Куценко, С.А. Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита. Научно-методическое издание // С.А. Куценко. – СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2004. 720 с.
3. Стадников, А.А. Гипоталамическая нейросекреция и структурно-функциональный гомеостаз про-и эукариот (Морфологические основы реактивности, пластичности и регенерации) / А.А. Стадников, О.В. Бухарин. – Оренбург: ОрГМА, 2012. 296 с.
4. Утенин, В.В. Гигиеническая характеристика хрома и бензола и морфофункциональные аспекты их взаимодействия на организм в условиях эксперимента: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Оренбург, 2002. 24 с.
5. Ходжаян, А.Б. К вопросу об иммуноксичности солей тяжелых металлов / А.Б. Ходжаян, Г.Л. Радцева // Естествознание и гуманизм: сб. научн. трудов. – Томск, 2007. Т. 4, №3. С. 104-105.
6. Johnson, W.D. Subchronic oral toxicity and metabolite profiling of the p53 stabilizing agent, CP-31398, in rats and dogs / W.D. Johnson, M. Muzzio, C.J. Detrisac et al. // Toxicology. 2011. Nov. 18. Vol. 289 (2-3). P. 141-50.
7. Shrivastava, R. Effects of chromium on the immune system / R. Shrivastava, R.K. Upreti, P.K. Seth, U.C. Chaturvedi // FEMS Immunology And Medical Microbiology. 2002. Sep 6. Vol. 34 (1). P. 1-7.
8. Varona, A. Effects of acute benzene exposure on brain enkephalin immunostaining and degradation / A. Varona, E. Echevarria, J. Irazusta et al. // Neurotoxicology And Teratology. 1998. Nov-Dec. Vol. 20 (6). P. 611-616.

RESEARCH OF THE LONG COMBINED INFLUENCE OF BENZENE AND CHROME ON MORPHOFUNCTIONAL STATE OF NEUROENDOCRINE AND IMMUNE SYSTEMS OF VISTAR RATS

© 2012 E.V. Ermolina, A.A. Stadnikov, I.V. Mikhaylova, A.I. Smolyagin

Orenburg State Medical Academy

On 20 rats of Vistar line the morphological features of hypothalamus, hypophysis, adrenal glands, thymus, spleens, lymph nodes in 45 and 90 days of the peroral combined influence of benzene and chrome are studied. The phenomenon of disbalance of neurosecretory process in hypothalamus-hypophysis-adrenocortical systems, oppressions of cellular link against activation of B-system of immunity is established.

Key words: *morphology, hypothalamus, hypophysis, adrenal glands, thymus, spleen, lymph nodes, benzene, chrome*

Evgeniya Ermolina, Minor Research Fellow at the Problem Laboratory for Studying the Mechanisms of Natural Immunity

Alexander Stadnikov, Doctor of Biology, Professor, Head of the Hystology, Cytology and Embryology Department. E-mail:

Alexander.stadnikov@yandex.ru

Irina Mikhaylova, Candidate of Biology, Senior Research Fellow at the Problem Laboratory for Studying the Mechanisms of Natural Immunity

Alexander Smolyagin, Doctor of Medicine, Professor, Chief of the Problem Laboratory for Studying the Mechanisms of Natural Immunity. E-mail:

probllab.orenburg@mail.ru