

КЛЕТОЧНЫЕ ОСНОВЫ ВЛИЯНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ОРГАНИЗМ**Очилов Комил Рахимович DSc***Бухарский государственный медицинский институт имени Абу Али ибн Сино. Бухара. Узбекистан.***Резюме**

В свете вышеизложенного приобретает изучение механизма токсического действия того или иного ксенобиотика, а также их сочетания, что предусматривает исследование их эффектов на структурное состояние клеток различных тканей и их мембранных компонентов.

В некоторых случаях на основе морфологических изменений внутренних органов разработаны методы дифференциальной диагностики непосредственной причины смерти при одновременном влиянии на организм нескольких воздействий, каждое из которых могло явиться летальным. Постановка таких экспериментов немыслима без детального знания био-логии лабораторных животных, которая, являясь важнейшей частью модельного эксперимента, до настоящего времени остается малоизученной. Мы поставили задачу изучить возрастные гистологические особенности печени беспородных лабораторных крыс.

Ключевые слова: *фосфорорганических и хлорорганических пестицидов, морфометрических и ультраструктурных параметров печени и гепатоцитов, бутилкаптакс, дронпа и соли свинца.*

Актуальность

Тяжёлые металлы играют двойственную роль в процессах жизнедеятельности микроорганизмов. Некоторые из них – Mo, Cu, Mn, Zn, Ni являются жизненно необходимыми в небольших количествах и ионы металлов входят в состав многих биологически макромолекул (ферментов, гормонов, витаминов, дыхательных пигментов, липидов и т.д.) и являются их необходимой частью, без которой не реализуется их физиологическая функция. Другие – Cd, Pb, Sn, Hg, Ag, Co – не выполняют биологических функций, однако, при высоких концентрациях все эти элементы, за счёт хорошей способности к комплексообразованию, являются чрезвычайно токсичными. Металлы могут влиять на процессы, протекающие в клетке, только проникая внутрь её и фиксируясь на субклеточных мембранах [1,6].

Среди многих экотоксикантов соли тяжелых металлов широко распространены в окружающей среде и являются агрессивными поллютантами [5,7,10.]. Среди населения, живущего в условиях влияния тяжелых металлов повышается распространенность и интенсивность заболеваний пародонта, зубочелюстных аномалий [8,11.]. Тяжелые металлы вызывают деструкцию кости путем непосредственного воздействия на кость, опосредованное действие осуществляется через инициацию окислительного стресса.

К чрезвычайно опасным для здоровья химическим веществам относятся: свинец, ртуть, кадмий, кобальт. Их высокая токсичность определяется тем, что они обладают способностью накапливаться в организме, не подвергаться химическому разложению, вмешиваться в метаболические циклы, быстро изменять свое химическое состояние при переходе из одной среды в другую, могут приводить к дефициту эссенциальных элементов, замещая их в металлосодержащих белках [9,12.].

При остром отравлении соли металлов больше всего накапливались в печени в кишечнике, далее в легких, почках, мозге, лимфатических узлах, сердце. При хроническом отравлении соли металлов больше накапливались в печени, почках, кишечнике, далее в сердце, мозге, лимфатических узлах, легких [2,4,6].

Показаны высокие уровни накопления солей тяжелых металлов (цинк, медь, железо, кобальт) в органах у лабораторных животных при отравлении острыми и хроническими дозами этих металлов. Негативное влияние солей тяжелых металлов на функциональные системы организма по результатам гематологических и биохимических показателей крови, транскапиллярный обмен белков, резистентность мембран эритроцитов, генотоксический эффект в сравнительном аспекте [3,7,11.].

При острой интоксикации солями кобальта обнаружено: лейкоцитоз, эритроцитоз, повышение концентрации гемоглобина в крови; при хронической: лейкопения, эритроцитоз, повышение концентрации гемоглобина. При интоксикации солями металлов выявлено разрушение мембран эритроцитов крыс. Установлено понижение двигательной и эмоциональной активности лабораторных животных на действие солей металлов в сравнении. При отравлении солями цинка, меди и железа содержание белка в плазме крови и лимфе понизилось, в моче повысилось, объем плазмы крови увеличился. При отравлении солями кобальта содержание белка в плазме крови понизилось, концентрация белка в лимфе и моче увеличилась, объем плазмы по гематокриту.

По мнению селеноорганические соединения низкой токсичностью и при предварительном введении peros крысам снижают интоксикацию солями

тяжелых металлов, о чем свидетельствуют биохимические, гематологические показатели крови крыс и лейкоцитарные индексы интоксикации.

Сократительная активность лимфатических узлов при интоксикации металлами угнеталась, о чем свидетельствуют изменения в частотно-амплитудной характеристике спонтанных ритмических сокращений лимфатических узлов. нарушения были наиболее значительными на соли меди, далее в порядке убывания соли кобальта, цинка, железа.

Присутствие повышенной концентрации тяжелых металлов в волосах, говорит о возможности организма к самоочищению от ксенобиотиков, через кумулирование их в эпидермальной ткани.

Взаимодействие ксенобиотиков с живыми организмами начинается с процессов адсорбции, контакта с клеточными мембранами и переноса через мембраны; в последующем происходят метаболизм, биоаккумуляция или экскреция токсикантов и продуктов их метаболизма. Следует изучить такое опасное явление, как биоконцентрирование – повышение концентрации токсиканта при прохождении через пищевую цепь. Рассмотреть явление синергизма - взаимного усиления действия двух и более токсикантов. Среди тяжелых металлов особенно опасны для живых организмов кадмий и ртуть. Ежегодный выброс кадмия в атмосферу во всем мире составляет около 8000 тонн, ртути составили примерно 40-50 тыс.

Прогрессирующие изменения в белковых структурах под воздействием ксенобиотика, позволяют реализовать дизрегуляторную роль ртути в различных биохимических реакциях, но такие изменения носят обратное действие, такой путь происходит при поступлении высоких доз ксенобиотика преимущественно в условиях промышленных катастроф и носит острый характер.

Цель исследования. Изучение морфометрических и ультраструктурных параметров печени и гепатоцитов при действии солей тяжелых металлов и некоторых дефолиантов при раздельном и совместном применении.

Материалы и методы исследования

Для выявления действия ряда токсикантов на морфометрические параметры клеток печени и на ультраструктуру структурных компонентов гепатоцитов были проведены эксперименты на 144 белых крыс-самцов линии Вистар, массой не менее 120 г. В зависимости от используемых токсических веществ, все животные были разделены на шесть основных групп (табл. 2.1).

При проведении экспериментов основывались на положениях Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации от 1964 г., дополненной в 1975, 1983, 1989, 1996, 2000, 2002, 2004, 2008, 2013 гг.

Забои животных осуществлялись методом мгновенной декапитации в сроки от 3 до 24 часов после введения препаратов или их смеси.

Группа I – контрольная. Крысам контрольной группы металлическим зондом внутрижелудочно вводили дистиллированную воду в объеме 0,5 мл.

Группа II (действие солей тяжелых металлов):

1) раствор $CdSO_4$ в концентрации 5 мг/мл и дозе 0,4 мл/100 г массы животного, однократно, внутрижелудочно;

2) раствор $Pb(CH_3COO)_2$ в концентрации 10 мг/мл и дозе 0,6 мл/100 г массы животного, однократно, внутрижелудочно.

Группа III. (действие пестицидов):

1) бутилкаптакс в дозе 0,13 г/100 г массы животного, однократно, внутрижелудочно;

2) дропш в дозе 0,4 г/100 г массы животного, однократно, внутрижелудочно.

Группа IV. Сочетанное введение солей свинца и кадмия - растворы солей в концентрации по 2 мг/мл и дозе смеси 0,5 мл/100 г массы животного, однократно, внутрижелудочно;

Группа V. Сочетанное введение дропша и соли свинца;

Группа VI. Сочетанное введение бутилкаптакса и соли свинца.

Перед забоем измеряли массу крыс, затем, после вскрытия брюшной полости, извлекали печень и измеряли массу органа.

Для оптической микроскопии кусочки ткани печени, взятые из правой доли, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. После промывки и дегидратации в спиртах возрастающей концентрации, кусочки заливались парафином и готовились срезы толщиной 5-7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Срезы исследовали морфометрически, с помощью окуляр-микрометра DN-107T/ Модель NLCD-307B (Novel, Китай) измеряли размеры гепатоцитов, объем ядер гепатоцитов, диаметр центральных вен, диаметр артериолы, венулы и желчного протока в области триады. Также измеряли размеры эпителиальных клеток желчных протоков. Изучали соотношение гепатоцитов с двумя ядрами по отношению к гепатоцитам с одним ядром.

Результаты и их обсуждение

Значительное количество соединений из группы тиазолов широко используется в качестве дефолиантов хлопчатника и других сельскохозяйственных культур. Наиболее активным и широко используемым среди них является бутилкаптакс – 2-бутилтиобенотиазол. Бутилкаптакс не оказывает негативного действия на урожайность хлопчатника, качество волокна и семян. Бутилкаптакс является дефолиантом мягкого действия в хлопководстве, особенно для тонковолокнистых, с широким диапазоном эффективных доз (5-15 кг\га).

Он может быть использован и при дефолиации плодовых деревьев и саженцев. Бутилкаптакс относится к малотоксичным пестицидам – ЛА50 для крыс составляет 1300 мг/кг. Обнаружено, что при интоксикации бутилкаптаксом нарушаются функции печени.

Однократное введение крысам бутилкаптакса внутрижелудочно, через 3 часа приводит к определенным патологическим изменениям в структуре печени.

Масса крыс варьировалась от 120г до 141,0г, в среднем $-128,7 \pm 3,72$ г.

Масса печени у лабораторных животных этой группы колеблется от 7,4г до 10 г., в среднем $-9,2 \pm 0,46$ г. Массовый коэффициент в среднем составляет $-7,15 \pm 0,27\%$ (таб. №3.1).

Поперечный размер гепатоцитов варьирует от 22,0 до 29,0 мкм, в среднем $-26,1 \pm 0,43$ мкм. Гепатоциты имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. Цитоплазма амфотильная, гранулярная. В перинуклеарной зоне и со стороны синусоидального полюса на фоне сравнительно бледно окрашенной цитоплазмы имеются скопления мелкозернистого базофильного материала, соответствующего зернистой эндоплазматической сети. В основном встречаются одноядерные гепатоциты, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 10-24, в среднем $17,4 \pm 0,87$.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблются от 440,0мкм² до 800,0мкм², в среднем $-636,0 \pm 22,32$ мкм².

Ядра гепатоцитов расположены обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию. Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от 100,0 мкм² до 152,0мкм², в среднем $-126,2 \pm 3,22$ мкм².

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от 46,0 до 88,0 мкм, в среднем $-66,2 \pm 2,6$ мкм. По периферии печеночных долек располагается портальная триада, в состав которой входит артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от 24,0 до 36,0 мкм, в среднем $-29,4 \pm 0,74$ мкм Эти вены делятся на множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходят на синусоидные капилляры. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от 10,0 до 20,0 мкм, в среднем $14,6 \pm 0,62$ мкм. Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров.

Желчные протоки триады, как у печени интактных крыс, покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм, в среднем $4,67 \pm 0,15$ мкм. Размер желчных протоков колеблется от 16,0 до 36 мкм, в среднем $24,1 \pm 1,24$ мкм.

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия. Диаметр этих гемокапилляров в поперечном сечении имеет размер от 8,0 до 20,0 мкм, в среднем – $14,2 \pm 0,74$ мкм.

При однократного введения крысам бутилкаптакса внутрижелудочно, через 24 часа наблюдались следующие морфометрические изменения:

Масса крыс варьировалась от 120г до 141,0г, в среднем $128,6 \pm 3,72$ г.

Масса печени у лабораторных животных этой группы колебалась от 7,4г до 10,1 г., в среднем – $9,4 \pm 0,46$ г. Массовый коэффициент в среднем составлял – $7,3 \pm 0,35\%$.

Поперечный размер гепатоцитов (расстояние от центра одного ядра гепатоцитов до центра ядра близлежащего ядра другого гепатоцита) варьирует от 22,0 до 29,0 мкм, в среднем – $26,6 \pm 0,43$ мкм. Гепатоциты имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. Цитоплазма амфотильная, гранулярная. В перинуклеарной зоне и со стороны синусоидального полюса на фоне сравнительно бледно окрашенной цитоплазмы имеются скопления мелкозернистого базофильного материала, соответствующего зернистой эндоплазматической сети. В основном встречаются одноядерные гепатоциты, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 10-24, в среднем $15,1 \pm 0,87$.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблются от $440,0 \text{ мкм}^2$ до $800,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $640,0 \pm 22,32 \text{ мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию. Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от $100,0 \text{ мкм}^2$ до $156,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $127,2 \pm 3,47 \text{ мкм}^2$ (таб. №3.1).

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от 48,0 до 88,0 мкм, в среднем – $67,3 \pm 2,48$ мкм. По периферии печеночных долек располагается портальная триада, в состав которой входит артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от 24,0 до 38,0 мкм, в среднем – $31,4 \pm 0,87$ мкм (таб. №3.2). Эти вены делятся на множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходят на синусоидные капилляры. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от 10,0 до 20,0 мкм, в среднем $15,1 \pm 0,62$ мкм (таб. №3.2). Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных капилляров.

Желчные протоки триады, как у печени интактных крыс, покрыты однослойным кубическим эпителием, высотой от 4 до 6 мкм, в среднем $4,69 \pm 0,15$ мкм. Размер желчных протоков колеблется от 16,0 до 36 мкм, в среднем – $24,6 \pm 1,24$ мкм.

Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия. Диаметр этих гемокапилляров в поперечном сечении имеет размер от 8,0 до 20,0 мкм, в среднем – $14,8 \pm 0,74$ мкм.

Через 24 часа после введения бутылкаптакса светооптически отмечаются заметные изменения морфометрических параметров гепатоцитов, которые можно квалифицировать как реакция гепатоцитов на химический агент. Увеличивается уровень полнокровия синусоидных капилляров, центральных вен и сосудов портальных трактов. В цитоплазме гепатоцитов количественно меньше мелких вакуолей, ядра мономорфны, при этом следует отметить некоторое увеличение их хроматинности. Нередко наблюдаются двуядерные гепатоциты, число которых меньше по сравнению с гепатоцитами крыс через 3 часа после введения бутылкаптакса.

Исследованием установлено, что при введении животным бутылкаптакса, печень отвечает более выраженными морфометрическими изменениями, чем при воздействии на нее солями тяжелых металлов. Изменяются морфометрические параметры гепатоцитов, их ядер а также размеров диаметра внутрипеченочных сосудов, особенно синусоидных гемокапилляров. В ранние сроки эксперимента (через 3 часа), реакция морфометрических параметров структурных элементов печени менее выражена, по сравнению (через 24 часа после введения бутылкаптакса) с поздними сроками эксперимента.

ВЫВОДЫ

Массовый коэффициент печени при отдельном введении химических веществ увеличивается в следующем порядке: соли кадмия > соли

свинца>дефолиант бутилкаптокс > дефолиант дропп. Сочетанное применение соли кадмия и соли свинца отражает картину свинцового отравления. А сочетанное введение соли свинца с дроппом или бутилкаптоксом приводит к увеличению этого коэффициента. Это свидетельствует о более выраженной гепатотоксичности при сочетанном введении дефолиантов с солями тяжелых металлов, чем при введении в отдельности, каждого из этих химических веществ.

При отравлении солями тяжёлых металлов, реакция гепатоцитов и внутрипечёночных сосудов более выражена в ранние сроки после отравления (через 3 часа), а при отравлении дефолиантами в поздние сроки (через 24 часа).

ЛИТЕРАТУРА

1. Абакумова О.Ю., Куценко Н.Г., Троеккина Л.Б., Мазаев В.Т., Гуляев В.А., Бродский Р.А., Хутиев Ц.С., Каримова М.К. Влияние хронической интоксикации бутилфосом на синтез белка и нуклеиновых кислот в различных органах крыс и активность холинэстеразы крови // Вопросы мед.химии.- 1990. - Т.36. - № 4. - С.41-45.
2. Акиншина Н.Г. Биоэнергетические нарушения в митохондриях печени при интоксикации и возможные способы коррекции. Автореферат дисс.на соис.уч.ст.канд.биол.наук. - Ташкент. - 2001. - 24 с.
3. Арефьева А. С. Современные представления о влиянии соединений ртути на клеточном и системном уровне (обзор // Экология человека. - 2010. - № 8. – С.35.
4. Белан С. Р., Грапов А. Ф., Мельникова Г. М. Новые пестициды: Справочник. Издательский дом «Грааль». - М. - 2001 г. - 196 с.
5. Бусверов А.О. Оксидативный стресс и его роль в повреждении печени //Росс. журн гастроэнтерологии, колопроктологии. - 2002. - №4. - С.21-25.
6. Губина О.А. Биологические эффекты кадмия при хроническом поступлении в организм крыс с питьевой водой // Токсикологический вестник. - 2007. - №4. - С.23-26.
7. Джаббарова Г.Т. Первичная токсикологическая характеристика и кумулятивные свойства геметрела// Мед.журнал Узб. -1991.-№2. - С.48-50.
8. Жапаркулова Н.И. Содержание гормонов в крови лактирующих крыс при интоксикации солями тяжелых металлов и их коррекция // Естественные и математические науки в современном мире. - 2015. - №35. С. 77-84.
9. Застенская И.А. Изучение влияния полихлорированных бифенилов и тяжелых металлов на показатели иммунной системы в эксперименте // Токсикологический вестник. - 2014. - № 2. - С.28-31.

- 10.Иваченко Л.Е. Изучение устойчивости растений сои к гербицидам на основе использования современных физиологических и биохимических методов // Журнал Дальневосточный аграрный вестник. -2012. - №3. - С.15-17
- 11.Очилов К.Р. Структурное строение клеток тканипечени при воздействии кадмия//Международный научный журнал часть1 «Новости образования: исследованияв XXI веке» No7 часть1, февраль, 2023, С.372-377
- 12.Ochilov K.R. Characteristics of morphometric and ultrastructural structure of liver hepatocytes// t a d q i q o t l a r , jahon ilmiy – metodik jurnali, 11-son_2-to'plam_Aprel-2023

