

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БИОАМИНСОДЕРЖАЩИХ СТРУКТУР ТИМУСА КРЫС В НОРМЕ И ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРИРОДНЫМ ГАЗОМ

Богатых С. П., Любовцева Л. А.

Автономное учреждение Чувашской Республики "Институт усовершенствования врачей" Министерства здравоохранения и социального развития Чувашской Республики, Чебоксары, Россия (428003, Чебоксары, Красная площадь, д. 3), e-mail: sttour@yandex.ru

В условиях эксперимента проведено исследование биоаминсодержащих структур тимуса. Опытная группа лабораторных животных была подвергнута затравке природным газом с разной концентрацией: 0,1 от предельно-допустимой концентрации (ПДК), концентрацией равной ПДК и 10 ПДК. Используя люминесцентно-гистохимические методы, определяли содержание нейромедиаторов в структурах тимуса. В тимусе наблюдали изменение содержания биогенных аминов в зависимости от дозы природного газа и нарушение корреляционных связей. Повреждающее действие природного газа выражалось в увеличении количества дегранулировавших люминесцентно-гранулярных клеток (ГЛК), появлении бластных форм Т-лимфоцитов, разрушении тимоцитов с высвобождением большого количества биоаминов в паренхиму тимуса. С нарастанием концентрации природного газа уменьшалось число клеток тимуса, содержащих сукцинатдегидрогеназу, лактатдегидрогеназу и моноаминоксидазу. Характер изменений, затрагивающий центральный орган иммунитета, говорил о иммунодепрессивном влиянии природного газа.

Ключевые слова: тимус, природный газ, Т-лимфоциты, гранулярные люминесцирующие клетки, тучные клетки.

COMPARATIVE DESCRIPTION OF THE BIOAMIN STRUCTURES OF THE THYMUS OF RATS IN NORMAL AND AFTER EXPERIMENTAL EXPOSURE OF NATURAL GAS

Bogatykh S. P., Lubovtzeva L. A.

The State Educational Institution "The Postgraduating Doctors' Training Institute" of the HealthCare and Social Development Ministry of the Chuvash Republic Cheboksary, Russia (428003, Cheboksary, Krasnaya sq. 3), e-mail:sttour@yandex.ru

Bio amino structures of the thymus have been investigated under the experimental conditions. Experimental group of laboratory animals was poisoned with natural gas at different concentration: 0.1 on maximum permissible concentration (MPC), a concentration equal to the MPC and the MPC 10. The content of neurotransmitters in the structures of the thymus was determined using luminescent-histochemical methods. Depending on the dose of natural gas there was observed the change in the content of biogenic amines and a violation of the correlations in the thymus. The damaging effect of natural gas reflected in the increase of luminescence-degranulated granular cells (HCA), the appearance of blast forms of T-lymphocytes, the destruction of thymocytes with the release of a large number of bioaminos into the parenchyma of the thymus. The increasing concentration of natural gas cause the decrease of the number of thymus cells containing succinate dehydrogenase, lactate dehydrogenase, and monoamine oxidase. The nature of the changes affecting the central organ of immunity indicates immunosuppressive effects of natural gas influence.

Key words: thymus, natural gas, T-cells, granular, luminescent cells, mast cells.

Введение

Большинство опасных загрязняющих веществ поступает в природную среду через атмосферу, которая становится важным входным компонентом геосистемы с точки зрения оценки техногенного воздействия. Техногенные атмосферные примеси, обладая токсическими, аллергическими, канцерогенными, мутагенными свойствами, при повышенной концентрации сказываются на здоровье людей. В зонах влияния промышленных выбросов и сбросов объектов нефтегазового комплекса отмечена повышенная заболеваемость населения.

Имеются данные о влиянии сероводородсодержащего компонента природного газа на различные органы и системы человека, в том числе иммунную систему [6, 7].

В то же время известно, что биогенные амины влияют на гомеостаз и микроокружение лимфоцитов и способствуют тому или иному направлению цитодифференцировок Т-лимфоцитов [1, 2, 5].

Целью данного исследования является изучение биоаминсодержащих структур тимуса в норме и после экспериментального воздействия природным газом.

Материалы и методы исследования

Работа представляет собой экспериментальное комплексное исследование, выполненное на 100 беспородных крысах, самцах массой 120 – 15 г., прошедших карантин в течение месяца в специальном помещении вивария и в дальнейшем находящихся на стандартном лабораторном содержании. Протокол экспериментов в разделах выбора, содержания животных, моделирования патологических процессов и выведения их из опыта был составлен в соответствии с принципами биоэтики, правилами лабораторной практики (GLP); он соответствует этическим нормам, изложенным в Женевской конвенции (1971), «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и в соответствии с приказом МЗ РФ № 267 от 19.06.2003, «Об утверждении правил лабораторной практики» (Минздрав ССР № 755 от 12.08. 1977), а также положениями «Хельсинской Декларации по вопросам медицинской этики» и «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1989). Тимус брали в одно и то же время суток с 15 до 18 часов под глубоким эфирным наркозом. При оценке результатов экспериментов всегда учитывали время года.

Первую группу составили интактные животные (n=25), вторая подвергалась затравке природным газом в концентрации, равной 0,1 ПДК (30 мг/м³) (n=25), третья – в ПДК (300 мг/м³) (n=25), четвертая – в 10 ПДК (3000 мг/м³) (n=25).

Согласно ГОСТ 5542-87 предельно допустимая концентрация (ПДК) углеводородов природного газа в воздухе рабочей зоны равна 300 мг/м³ в пересчете на углерод (ГОСТ 12.1.005). Предельно допустимая концентрация сероводорода в воздухе рабочей зоны 10 мг/м³, сероводорода в смеси с углеводородами C₁-C₅-3 мг/м³.

Газом воздействовали в течение 30 суток ежедневно в течение 8 часов. Лабораторные животные содержались в модифицированных нами камерах Курляндского. Подача газа дозировалась при помощи шахтного интерферометра ШИ-11 и U-образной градуированной трубки, заполненной дистиллированной водой.

Для выявления и количественного подсчета концентрации катехоламинов (КА), серотонина (С) и гистамина (Г) использовали люминесцентно-гистохимические методы и метод

цитоспектрофлуориметрии [8, 9].

Полученные цифровые данные обрабатывались статистически.

Окраска полихромным толуидиновым синим по Унна применялась для контроля состояния тканевых мукополисахаридов и гепарина в тучных клетках тимуса [4].

Исследование сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) проводили по Хейхоу Ф. Г.

Учитывая, что ферментативное ингибирование биоаминов осуществляется моноаминоксидазой, нами проводилась окраска на моноаминоксидазу (МАО) по Гленнеру.

Результаты исследования и обсуждение

При затравке природным газом дозой в 0,1 ПДК в тимусе наблюдается тенденция к повышению содержания этого вещества во всех изучаемых структурах, за исключением тимоцитов мозгового вещества, где имеется тенденция к уменьшению КА. Уменьшается число субкапсулярных гранулярных люминесцирующих клеток (ГЛК). Клетки визуально уменьшаются в объеме и выглядят раздробленными. Содержание С увеличивается абсолютно во всех изучаемых структурах. С увеличением содержания изучаемых моноаминов увеличивается число тучных клеток в септах и появление малосульфатированных тучных клеток [3, 4] в субкапсулярной зоне. Установлено, что в данном эксперименте в субкапсулярных клетках тимуса имеется стойкое повышение уровня гистамина, в то время как в остальных изучаемых структурах его содержание падает. Число СДГ содержащих клеток незначительно уменьшается. Появляются тучные клетки, содержащие этот фермент по субкапсулярной зоне тимусной дольки. При затравке крыс 0,1 ПДК число ЛДГ содержащих клеток увеличивается в основном в субкапсулярной зоне. При затравке крыс 0,1 ПДК число МАО-положительных клеток увеличивается как в премедулярной, так и в субкапсулярной зонах, но больше в субкапсулярной. В них определяются гранулы, у которых окраска варьирует от +3 до +5. Тимоциты, как коркового, так и мозгового вещества слабо окрашены. Единичные тучные клетки окрашиваются в основном в субкапсулярной зоне на +3.

При затравке природным газом в 1 ПДК наблюдается выход КА из тимоцитарной паренхимы как в мозговом, так и в корковом веществе, в результате содержание этих веществ снижается по сравнению с животными интактной группы. В субкапсулярной зоне число ГЛК резко снижается. На стенках сосудов выявляется диффузное свечение нервных волокон с едва заметными варикозными расширениями. Содержание С в тимоцитах мозгового вещества снижается, но повышается в ГЛК премедулярной и субкапсулярной зон. Наблюдается появление тучных клеток с высоким содержанием КА в мозговом и толще коркового вещества. Во всех структурах тимуса концентрация гистамина снижена по сравнению с интактной группой. Снижение нейроаминов, как показали работы [5], приводит к нарушению не

только синтетических процессов в лимфоцитах, но и синтеза нуклеиновых кислот. Впервые ГЛК появляются в толще мозгового вещества, что также говорит о нарушении, в данном случае, очевидно, о правильной специализации клеток [3]. При затравке крыс 1 ПДК число СДГ содержащих клеток резко уменьшается как в премедуллярной, так и в субкапсулярной зонах тимуса. Появляются тучные клетки в мозговом веществе тимуса и среднесульфатированные тучные клетки в септах. В субкапсулярной зоне тимусной долики их число уменьшается. Часть этих клеток дегранулирует. В мозговом веществе определяются ортохромные мелкие молодые малосульфатированные гепариновые тучные клетки. Уменьшается число лимфоцитов, содержащих СДГ. При затравке крыс 1 ПДК число ЛДГ содержащих клеток резко возрастает как в премедуллярной, так и в субкапсулярной зонах тимуса. Появляются тучные клетки в субкапсулярной зоне тимусной долики, где их число с ЛДГ увеличивается. Резко увеличивается число лимфоцитов, содержащих ЛДГ. При затравке крыс 1 ПДК число MAO-положительных клеток резко увеличивается как в премедуллярной, так и в субкапсулярной зонах тимуса, но больше их определяется в премедуллярной зоне. В них увеличивается число гранул с окраской на +5. Резко увеличивается число лимфоцитов, содержащих MAO.

При воздействии природным газом с концентрацией равной 10 ПДК в паренхиме мозгового вещества КА содержат только часть лимфоцитов. Из части нервных волокон наблюдается выход КА. С трудом определяются варикозные расширения. В премедуллярной зоне в 3–4 раза увеличивается число ГЛК, часть из них образует конгломераты. В толще коркового вещества появляются образования, где ГЛК располагаются в виде круговых цепочек, внутри которых находятся тимоциты. Тимоциты люминесцируют внутри таких групп по-разному. В одних они имеют повышенное содержание гистамина, а в других – пониженное. Мы можем предположить, что это колониеобразующие единицы с размножающимися бластными формами клеток. В толще коркового вещества в большом числе определяются тучные клетки, часть которых дегранулирует. Число выявляемых ГЛК и среднесульфатированных тучных клеток резко возрастает. В септах их число увеличивается в 1,8 раза. Тучные клетки в субкапсулярной зоне тимуса образуют группы из 3–5. Они мелкие и частично дегранулированы. Причем часть клеток дегранулирует с тотальным распадом. В субкапсулярной зоне и в мозговом веществе дегранулируют мелкие, малосульфатированные тучные клетки. Соединительная ткань септ очень сильно люминесцирует. При затравке крыс в 10 ПДК гранулярные клетки остаются единичными, а большинство лимфоцитов не содержат СДГ. Резко сокращается число тучных клеток, содержащих СДГ. Выявляется одна клетка на несколько полей зрения. При затравке крыс в 10 ПДК число гранулярных клеток содержащих ЛДГ увеличивается, также как и тимоцитов. При затравке крыс в 10 ПДК число грану-

лярных клеток, содержащих МАО, уменьшается, но увеличивается окрашиваемость тимоцитов. Большинство из них окрашивается на + 5. В корковом веществе тимусной дольки появляются группы лимфоцитов со слабой и сильной окраской. В субкапсулярной зоне и по септам выявляются единичные тучные клетки, дающие положительную реакцию на фосфолипиды.

Заключение

Иммунодепрессивный эффект длительного воздействия сероводородсодержащего газоконденсата в отношении гуморального и клеточного иммунитета обусловлен структурно-функциональными нарушениями в органах иммуногенеза, проявляющимися снижением массы тимуса, уменьшением протяженности его коркового вещества, редукцией размеров телец Гассала, уменьшением количеством митозов в Т-зависимой зоне селезенки, а также снижением пролиферативной активности Т-лимфоцитов тимуса и селезенки в ответ на стимуляцию неспецифическими поликлональными митогенами. Поскольку пролиферация лимфоцитов наряду с их антигензависимой дифференцировкой является важнейшим механизмом развития иммунного ответа, можно полагать, что угнетение этой активности в условиях однократного воздействия сероводородсодержащего газоконденсата выступает одним из значимых механизмов, обуславливающих его иммунодепрессивный ответ, что соответствует данным литературы [6].

Таким образом, при затравке природным газом, по мере нарастания его концентрации, в клеточных структурах тимуса происходит изменение обмена биогенных аминов, которые влияют на пролиферацию Т-лимфоцитов и их созревание вначале внутри органа [1, 3, 4], а далее эти изменения предположительно могут затрагивать другие системы органов, в которых имеются Т-зависимые зоны, что в итоге обуславливает сильную иммуносупрессию организма в целом.

Список литературы

1. Авакян О. М. Современные данные о механизме высвобождения и захвате катехоламинов, возможности и перспективы их фармакологической регуляции / О. М. Авакян // Журн. все-союзн. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева. – 1986. – Т. 21. – С. 85-90.
2. Акмаев И. Г. Нейроиммуноэндокринные механизмы в регуляции гомеостатических функций / И. Г. Акмаев // Механизмы функционирования висцеральных систем: Тез. междунар. конф., посвящ. 150-летию акад. И. П. Павлова. – СПб., 1999. – С. 237-239.
3. Бережная Н. М. Тучные клетки и гистамин: физиологическая роль / Н. М. Бережная, Р. И. Сепиашвили // Аллергология и иммунология. – 2003. – Т. 4, № 3. – С. 29-38.

4. Бочкарев В. А. Возрастной спектр тучных клеток / В. А. Бочкарев, Д. С. Гордон, С. Н. Андреев // Морфология и гистохимия тканей в норме, патологии и эксперименте. – Чебоксары, 1992. – С. 98-103.
5. Любовецва Л. А. Люминесцентно-гистохимическое исследование структур костного мозга. – Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 1998. – 96 с.
6. Попков К. В. Влияние сероводородсодержащего газоконденсата на функциональную активность иммунной системы: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Оренбург, 1994. – 23 с.
7. Шевченко И. И. Состояние сердечно-сосудистой системы у работающих на предприятии по переработке природного газа с высоким содержанием сероводорода: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Астрахань, 1997. – 20 с.
8. A study of the methods available for the cytochemical localization of histamine byfluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetaldehyde / Cross S.A., Ewen S.W., Rost F.W. // Hystochem. J. – 1971. – № 6. – P. 471-476.
9. Falk B. Fluorescence of catecholamine and related compounds condensed with formaldehyde // J. Histochem. Cytochem. – 1962. – № 10. – P. 348-354.

Рецензенты:

Денисова Тамара Геннадьевна, доктор медицинских наук, профессор, проректор по научной работе и международным связям АУ Чувашии "Институт усовершенствования врачей" Минздравсоцразвития Чувашской Республики, г. Чебоксары.

Гурьянова Евгения Аркадьевна, доктор медицинских наук, доцент, заведующая сектором КУ "Центр ресурсного обеспечения" Министерства здравоохранения и социального развития, г. Чебоксары.
