



УДК: 616. 33-002.44

## ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ АЦЕТАТНОЙ ЯЗВЫ ЖЕЛУДКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ПЕСТИЦИДА ХЛОРОФОСА

© 2011 Расулов М.Т., Шахназаров А.М., Шахназаров М.А., Магомедгаджиев Б.Г.  
Дагестанская государственная медицинская академия

С применением морфологических, гистохимических, гистоэнзиматических методов изучены особенности морфогенеза ацетатной язвы желудка у 40 крыс в условиях хронического энтерального введения фосфорорганического пестицида (ФОС) – хлорофоса. Впервые установлены структурно-метаболические основы извращения регенерации слизистой оболочки в области язвы в условиях постоянного энтерального воздействия токсического фактора и дозовая зависимость хронизации острой язвы желудка.

By means of use of morphological, histochemical, histoenzymatic methods there has been studied features of acetate gastric ulcer morphogenesis of 40 rats under chronic enteral organophosphorus pesticide (FOC) – chlorophos injection. For the first time structural and metabolic basics of distortion of mucous membrane regeneration in ulcer area in continuous enteral toxic factor exposure and dose dependence of acute gastric ulcer chronicity are identified.

**Ключевые слова:** пестициды, хлорофос, здоровье человека, желудок, язва желудка.

**Keywords:** pesticides, metrifonate, human health, stomach, stomach ulcer.

Мировой список значимых антропогенных загрязнителей окружающей среды возглавляют именно пестициды, используемые для борьбы с различными видами вредных организмов. Однако ожидаемая и несомненная полезность пестицидов сочетается с вероятностью нанесения ущерба здоровью людей и объектам биосферы. В сельских условиях пестициды имеют существенно более высокий индекс загрязнения окружающей среды, чем в городах [5]. Фосфорорганические пестициды (ФОП) широко применяются в сельском хозяйстве для борьбы с эктопаразитами домашних животных и птиц и в качестве родентицидов, десикантов, акарицидов, фунгицидов.

Клиническая и патологоанатомическая картина интоксикации ФОС объясняется их патогенетическими механизмами, заключающимися в угнетении ферментов, относящихся к эстеразам, в частности холинэстеразы (ХЭ), играющей важную физиологическую роль – разрушение ацетилхолина. Не исключено также и прямое воздействие ФОП на холинореактивные системы, на которые действует ацетилхолин. Освобождаясь в синапсах, он оказывает влияние на нервное возбуждение и передачу его другой структурной единице нервной системы или клеткам рабочего органа. В результате угнетения активности ХЭ в крови и в тканях накапливается ацетилхолин, способствующий дисфункции органов и развитию интоксикации [1-4, 6-8].

Хроническая интоксикация протекает с развитием астено-вегетативного синдрома. Наблюдаются изменения со стороны ЖКТ – понижение аппетита, изменения со стороны желудочного сока, увеличение печени и нарушение её белково-образовательной, углеводной, антитоксической функций [1, 3].

**Цель исследования** – изучение морфогенетических особенностей reparативных процессов при ацетатной язве желудка в условиях хронического воздействия хлорофоса.

**Материал и методы исследования.** В качестве материала исследования мы использовали 40 самцов белых беспородных крыс с воспроизведенной по методу Okabe-Pfeiffer ацетатной язвой. Затравку животных начинали спустя 3 дня, к моменту формирования острой язвы. Животные, разделённые на 4 группы, получали препарат в концентрациях 100, 50, 10, 1 ПДК, что составляет 5 мг/л, 2,5 мг/л, 0,5 мг/л и 0,05 мг/л соответственно. Контроль обеспечивали 3 группы животных: контроль I – животные после воспроизведения модели ацетатной язвы находились на обычном рационе (10 крыс всего); контроль II – животные без воспроизведения язвы, получавшие хлорофос с питьевой водой (5 крыс); контроль III – интактные (5 крыс).

Для изучения брали кусочки тканей желудка из области язвы и отдаленного участка. У контрольных животных кусочки ткани вырезали из адекватных отделов желудка. Срезы тканей изучали гистоморфологически посредством окраски гематоксилином-эозином (Г.Э.) и пикрофукси-

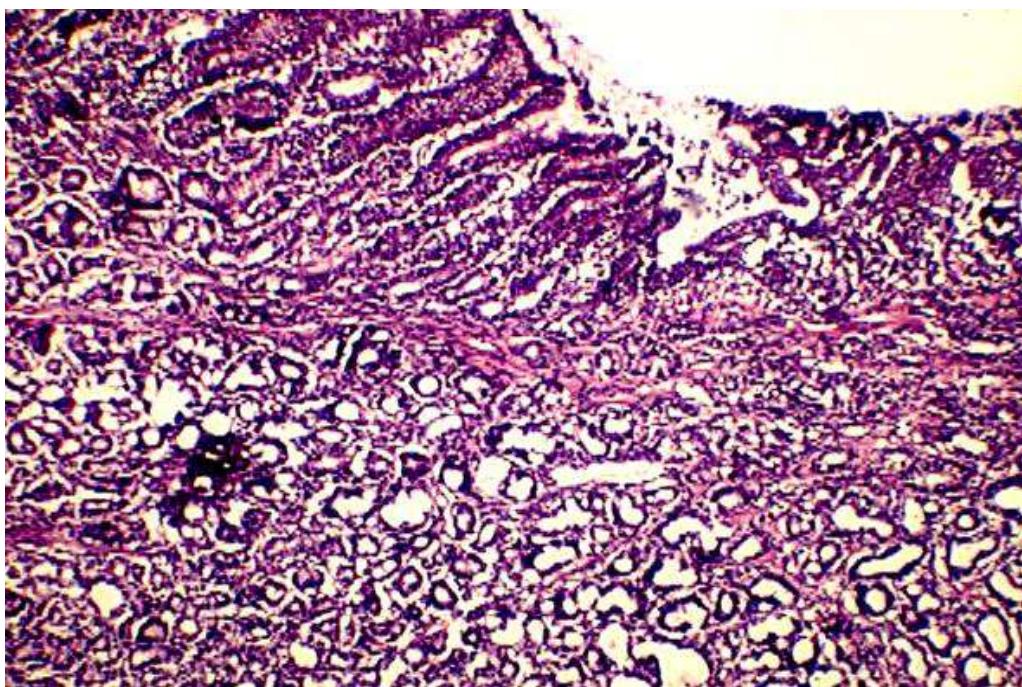


ном по ван Гизону. Определяли активность дегидрогеназ (ДГ):  $\alpha$ -глицерофосфата, сукцината, лактата и НАД-диафоразы по Нахласу с использованием в качестве акцептора водорода нитросинего тетразолия, щелочной и кислой фосфатаз (ЩФ, КФ) – методом азосочетания по Берстону. Выявляли также содержание нейтральных и кислых гликозамингликанов ШИК-реакцией по Мак-Манусу (НГАГ) и окраской альциановым синим (КГАГ). Для суждения об интенсивности процессов регенерации изучали содержание РНК и ДНК (метод Браше). О состоянии медиаторов симпатической и парасимпатической иннервации судили по активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ, метод Келле-Жеребцова).

Все гистохимические и гистоэнзиматические данные подвергались денситофотометрии продукта реакции с помощью комплекса аппаратно-програмного определения фотометрических параметров биоматериалов «Мекос – Ц1» производства ЗАО «Медицинские компьютерные системы» (г. Москва).

**Результаты.** Все животные с язвой желудка, получавшие раствор хлорофоса в дозе 1 ПДК, к окончанию сроков затравки остались живыми. Визуально в области аппликации уксусной кислоты серозная оболочка желудка была слабо спаяна с печенью или спайки отсутствовали. Стенка желудка на разрезе здесь белесоватая, слизистая буровато-розовая, складки сглажены, в пилоро-антральной части желудка в 4 случаях представлена в виде очагового утолщения, в остальных – углублениями округлой формы, диаметром 0,4-0,6 см, глубиной 0,2-0,3 см, без четких контуров.

Гистологически у всех животных было обнаружено заживление язвенных дефектов, которое происходило по типу гипо- и гиперрегенерации (рис. 1). В эпителии железистых структур была снижена активность всех ДГ и повышенна активность фосфатаз, а также продукция муко-протеидов и РНК. Здесь же, в мышечной оболочке и в межмышечных нервных сплетениях, повышенна активность всех ДГ, кроме ЛДГ и АХЭ – они были ниже контроля.



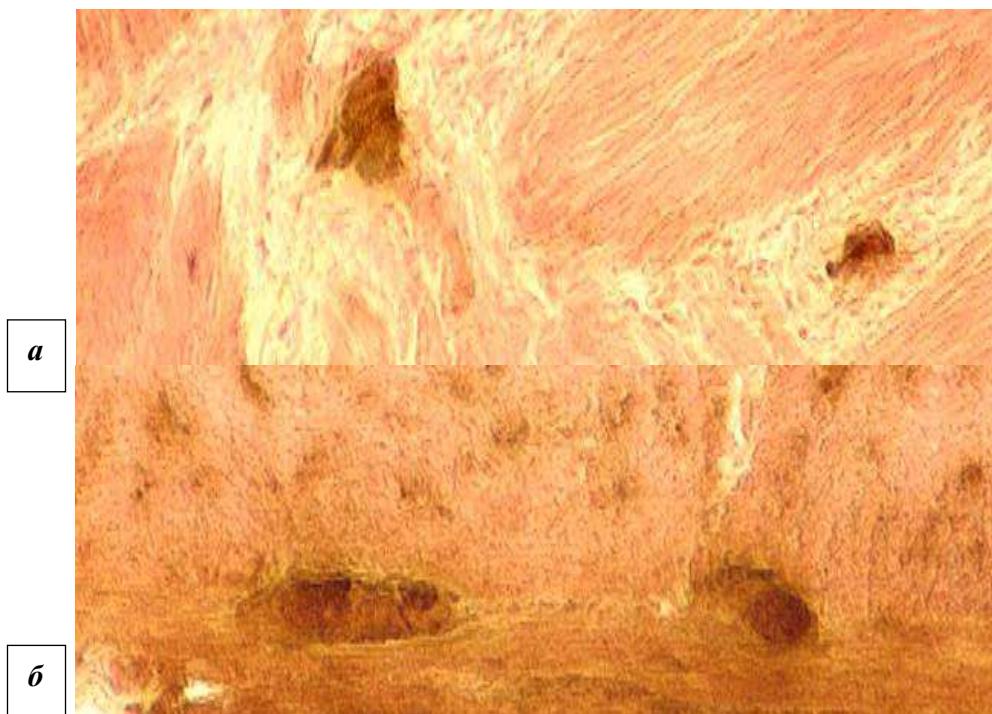
**Рис. 1.** Гиперрегенерация слизистой оболочки с дисплазией желёз при ацетатной язве желудка у крысы, получавшей 6 месяцев с питьевой водой хлорофос в дозе 1 ПДК. Г.Э. х40

В группе животных с ацетатной язвой желудка, получавших в течение 6 месяцев с питьевой водой хлорофос в дозе 10 ПДК, наблюдался 1 летальный исход из-за послеоперационного осложнения – перитонита. В области заживших язвенных дефектов слизистой оболочки определялось нарушение складчатости слизистой оболочки с очаговым втяжением. На разрезе здесь об-

наружено уплотнение всей стенки, белесоватого цвета, и сращение серозы желудка с капсулой печени. Слизистая оболочка вне зоны зажившей язвы имела обычную складчатость и окраску.

В новообразованной слизистой отмечено снижение активности всех ДГ и НАД-диафоразы и повышение активности КФ и ЩФ. Повышение активности ЩФ в соединительной ткани и стенах капилляров слизистой оболочки свидетельствует об активизации коллагеногенеза и склероза даже при длительном воздействии раствора хлорофоса в пределах 10 ПДК. В отдалённых участках слизистой активность КФ и ЩФ угнетена.

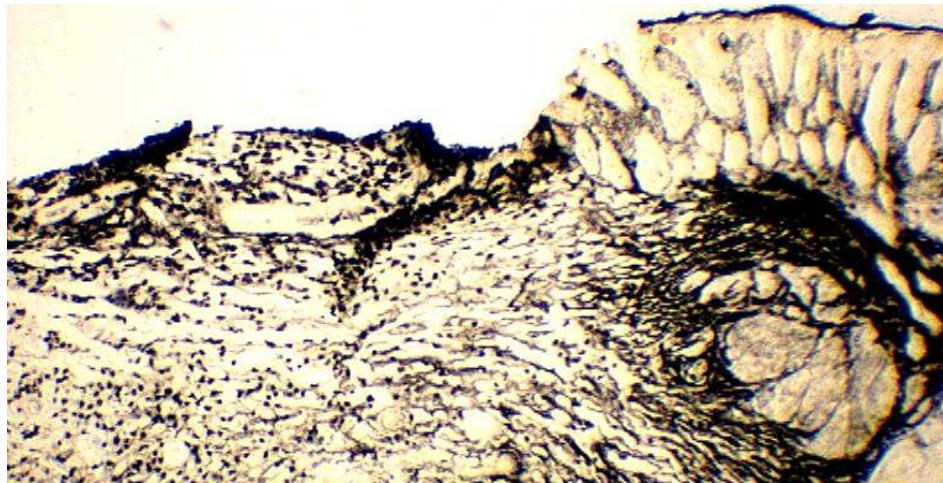
В мышечной оболочке по периферии заживших язв активность СДГ,  $\alpha$ -ГФДГ, НАД-диафоразы, КФ и ЩФ повышена. При явно выраженным снижении активности АХЭ в зоне локализации бывшей язвы, в отдалённых участках угнетение АХЭ в ауэрбаховских ганглиях (А.Г.) составило 8% (рис. 2).



**Рис. 2.** а – язва + хлорофос 10 ПДК; в зоне регенерации язвы среди гипертрофированных мышечных волокон А.Г. деформированы, меньших размеров, с пониженной активностью АХЭ;  
б – А.Г. контрольного животного. Реакция Келле-Жеребцова на АХЭ. x100

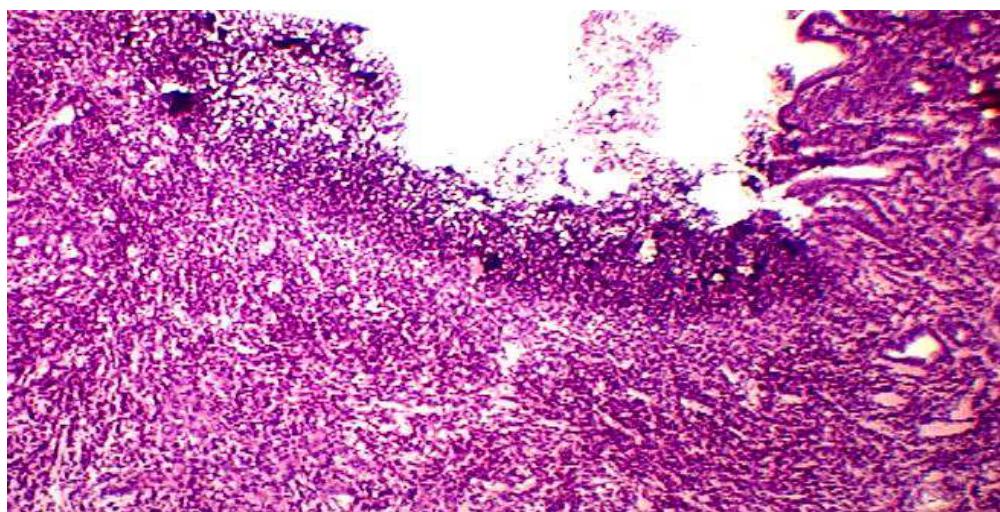
Среди животных, получавших хлорофос с питьевой водой в дозе 50 ПДК в течение 6 мес., зарегистрировано 30% летальных случаев. У 80% крыс на вскрытии обнаружены незажившие язвы желудка диаметром 0,4-1,0 см, глубиной до 0,4 см. Дно язвенных дефектов было покрыто сероватым налетом. Только в 2 случаях определялись зажившие язвы в виде воронкообразных углублений, покрытых тонким слоем слизистой оболочки, с гладкой поверхностью серо-розового цвета.

В области дна хронических язв определялась широкая лейкоцитарно-некротическая зона со значительным угнетением ДГ и высокой активностью ЩФ, соответствующая фазе обострения хронических язв желудка (рис. 3). В слизистой оболочке краевых отделов угнетены все ДГ и НАД-диафораза и повышена активность КФ и ЩФ, ослаблена реакция на НГАГ и РНК. В отдалённой от язвы слизистой были угнетены все ферменты и синтез нуклеопротеидов, а продукция КГАГ и НГАГ увеличена. Активность АХЭ в А.Г. была угнетена и в области краёв язвы, и в отдалённых участках стенки желудка.



**Рис. 3.** Язва + хлорофос 50 ПДК. Высокая активность ЩФ в собственной пластинке слизистой в лейкоцитах, лимфоцитах и гистиоцитах в области дна и краев язвы желудка. Реакция азосочетания по Берстону. x40

В группе животных, получавших в течение 6 мес. с питьевой водой хлорофос в дозе 100 ПДК, погибло 2 крысы. У 90% животных обнаружены незажившие язвы; только в 1 случае язвенный дефект не обнаружен, хотя определялось изменение топографии стенки желудка в виде дивертикула. С внутренней поверхности его определялось воронкообразное углубление с узловатым выпячиванием в центре со стороны серозной оболочки. Поверхность её была покрыта тонким слоем слизистой оболочки без формирования складок. Во всех остальных случаях определялись прогрессирующие и пенетрирующие в печень язвы диаметром от 0,5 см до 1,3 см, глубиной до 0,6 см. Дно дефектов располагалось в ткани печени, вокруг выявлялись фиброзные сращения. На поверхности дна язвы определялся экссудат, содержащий слизистые массы и значительное количество нейтрофилов, лимфоцитов и гистиоцитов. Под ней располагалась зона более компактно расположенных лейкоцитов, лимфоцитов и некроза (рис. 4).



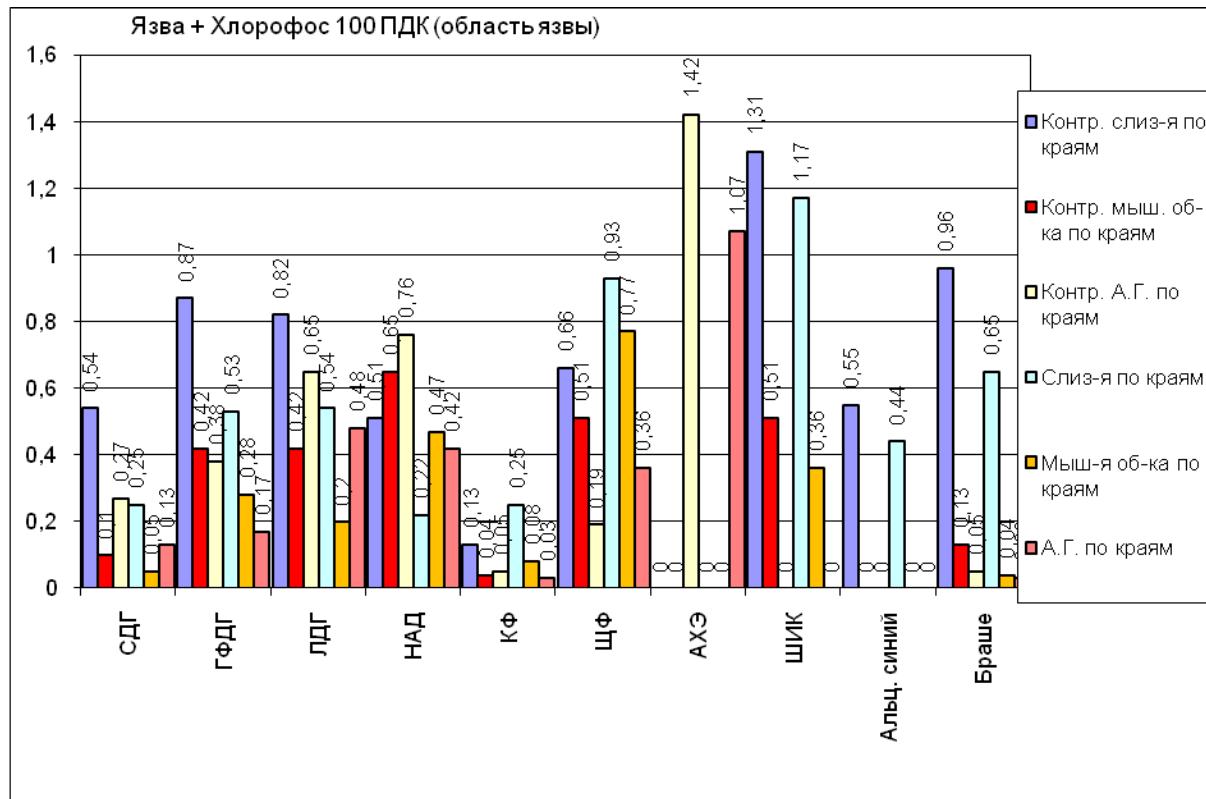
**Рис 4.** Язва + хлорофос 100 ПДК. На поверхности язвы экссудат из слизи с примесью нейтрофилов, лимфоцитов, гистиоцитов. Ниже – массивная воспалительная инфильтрация, проникающая глубоко в стенку. Г.Э. x40

Далее структуры стенки желудка полностью отсутствовали, и замещала их рыхлая соединительная ткань и воспалительный инфильтрат, преимущественно лейкоцитарного характера. В области дна язв определялось снижение активности ДГ, КФ и повышение активности ЩФ. В сли-



зистой оболочке краевых отделов, в регенерированной слизистой и в отдалённых участках наблюдалось снижение активности всех ДГ и НАД-диафоразы.

Цитофотометрические данные приведены ниже в графике.



**Заключение.** Таким образом, установлена взаимосвязь между дозой хлорофоса, поступающей в организм с питьевой водой, и цито-гистоэнзиматической активностью в слизистой оболочке желудка, а также reparативной регенерацией язвы. Так, у контрольных животных и при введении указанного пестицида в дозах 1-10 ПДК наступает, в отдалённые сроки, неполная регенерация язвенного дефекта за счёт менее дифференцированного и относительно более устойчивого к повреждающим воздействиям покровно-ямочного эпителия. При этом в зоне повреждения активируются ферментативные и метаболические процессы, указывающие на реакцию защитно-приспособительных механизмов организма в виде усиления секреции муцина и коллагеногенеза. Кроме того, в пограничной с язвой зоне и за её пределами отмечается также регенерационная гиперплазия эпителия желез с повышением активности митохондриальных и лизосомальных ферментов. Однако при увеличении дозы хлорофоса от 50 до 100 ПДК полностью затормаживаются reparативные процессы в зоне язвенного дефекта и отмечается ингибирование митохондриальных ферментов и на остальном протяжении слизистой оболочки.

При длительном пероральном воздействии хлорофоса на фоне язвенного процесса в желудке отмечается изменение активности АХЭ в нервных ганглиях стенки желудка, выраженное по-разному по мере отдаления от язвы, а также в зависимости от дозы пестицида. Так, при воздействии хлорофоса в дозах 1-10 ПДК наблюдается угнетение АХЭ только в зоне бывшей язвы с одновременным повышением её активности в некоторых нервных сплетениях в пограничном и отдалённом участках стенки желудка компенсаторного характера. При увеличении дозы пестицида до 50 ПДК в зоне проекции язвы реакция на АХЭ отрицательная. В пограничном и отдалённом участках на фоне общего снижения активности АХЭ видны нервные ганглии с компенсаторно-усиленной её активностью в отдельных нейронах. При введении препарата в дозе 100 ПДК в зоне локализации язвы и в рубцовой ткани вокруг неё реакция на АХЭ полностью отсутствует.



Обнаруженное нами выраженное местное угнетение АХЭ в нервных ганглиях стенки желудка, по-видимому, обусловлено более интенсивным местным токсическим действием хлорофоса при сохранении открытого язвенного дефекта и диффузного пропитывания стенки желудочным соком и хлорофосом. Кроме того, при введении пестицида в дозе 100 ПДК удалось обнаружить не только местное ингибирование АХЭ, но и резорбтивный общетоксический эффект.

При этом язва желудка, прогрессируя, проникает через срацённую и разрушенную глиссонову капсулу в печень. В основе агрессивного течения язвы желудка при введении пестицида в больших дозах лежат блокада окислительно-восстановительных ферментов в зоне дефекта слизистой оболочки, угнетение митотической активности эпителия слизистой желудка, а также активация воспалительно-аррозивного процесса в области дна язвы, т.е. превалирование деструктивных процессов над reparативными.

**Вывод.** Таким образом, у животных, получавших раствор хлорофоса в дозе 10 ПДК, наступает заживление по типу гипо- и гиперрегенерации с угнетением активности всех ДГ и повышением активности КФ и ЩФ и секреции МПС. Угнетение АХЭ в вегетативных ганглиях наступает в области язвы с компенсаторным повышением активности в отдельных ганглиях в пограничных и отдаленных участках стенки желудка. При повышении концентрации препарата до 50 и 100 ПДК наблюдается постепенное подавление активности АХЭ в нейронах А.С. как в области язвы, так и в отдаленных участках стенки желудка, что указывает на общетоксическое действие хлорофоса.

### **Библиографический список**

1. Артамонова В.Г., Шаталова Н.Н. Интоксикация пестицидами, применяемыми при сельскохозяйственных работах. Профессиональные болезни. – М.: Медицина, 1996. – С. 342.
2. Каган Ю.С. Общая токсикология пестицидов. – Киев: Здоровье, 1981. – С. 176.
3. Лазарева Н.В. Вредные вещества в промышленности. – Л.: Химия, 1977. – С. 330-335.
4. Саноцкий И.В. Медицина труда и промышленная экология. – 1993. – № 3-4. – С. 9-12.
5. Чубирко М.И., Смольский Г.М., Басова Г.М. Гигиена и санитария. – 1998. – № 2. – С. 23-25
6. Cook Nick. Пестициды // Occup. Safety and Health. – 1999. – 29, № 12. – С. 36-39
7. Dahamna S, Sekfali N, Walker CH. Biochemical indicators of hepatotoxic effects of pesticides. // Commun. Agric. Appl. Biol. Sci. 2004; 69 (4). P. 821-828.
8. Zahm S.H., Ward M.H., and Blair A. Pesticides and cancer. // Occup Med (Philadelphia), 12 (1997). – P. 365-370.

### **Bibliography**

1. Artamonova V.G., Shatalova N.N. Intoxication of pesticides applied at agricultural works. Professional diseases. – M.: Medicine, 1996. – P. 342.
2. Kagan Ju.S. General toxicology of pesticides. – Kiev: Health, 1981. – P. 176.
3. Lazareva N.V. Harmful substances in industry. – L.: Chemistry, 1977. – P. 330-335.
4. Sanotsky I.V. Medicine of work and industrial ecology. – 1993. – No. 3-4. – P. 9-12.
5. Chubirko M.I., Smolsky G.M., Basova G.M. Hygiene and sanitary. – 1998. – 2. – P. 23-25.
6. Cook Nik. Pesticides. // Occup. Safety and Health. – 1999. – 29, No. 12. – P. 36-39.
7. Dahamna S, Sekfali N, Walker CH. // Biochemical indicators of hepatotoxic effects of pesticides. // Commun. Agric. Appl. Biol. Sci., 2004; 69 (4). – P. 821-828.
8. Zahm S.H., Ward M.H., and Blair A. Pesticides and cancer. // Occup Med (Philadelphia), 12 (1997). – P. 365-370.

**Данная работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-13гг.», проект НК-38Р-17.**