



МЕДИЦИНСКАЯ ЭКОЛОГИЯ

УДК: 616.33-002.44

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ АЦЕТАТНОЙ ЯЗВЕ ЖЕЛУДКА И ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ПЕСТИЦИДА – ГЕКСАХЛОРЦИКЛОГЕКСАНА

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

При длительном пероральном поступлении ГХЦГ в дозе до 10 ПДК у животных с ацетатной язвой увеличивается пенетрация её в печень (на 10-20 %) с одновременным повышением защитно-приспособительных метаболических процессов в ней. При увеличении дозы поступающего пестицида до 50-100 ПДК наблюдается агрессивное течение язвы с увеличением частоты пенетрации ее в печень (до 100 % при дозе 100 ПДК), угнетением активности всех де-гидрогеназ, MAO, усилением гликогенолиза, падением синтеза РНК в гепатоцитах. Одновременно сохраняется по-вышенная активность КФ, ЩФ, свидетельствующая об активации гидролитических и фибробластических процессов защитного характера.

On the background of long peroral administration of HChCH at the dose of 10 maximum permissible concentrations (MPC) in animals with an acetate ulcer its penetrations into liver increases (10-20%) with the simultaneous rise of defensive-adaptive metabolic processes in it. With an increase of the dose of the administrated pesticide up to 50-100 MPC the aggressive course of ulcer with an increase of the frequency of its penetration into liver (up to 100% in the dose of 100 MPC) and op-pression of the activity of all the dehydrogenases, MAO, strengthening of glycogenolysis, the drop of RNA synthesis in hepa-tocytes are noticed. Simultaneously, the raised activity of acid phosphatase, alkaline phosphatase is saved that testifies to activization of hydrolytic and fibroblastic processes of the defensive nature.

Ключевые слова: печень, гексахлорциклогексан, язва желудка, пенетрация.

Keywords: liver, hexachlorocyclohexan, stomach ulcer, penetrations.

В литературе широко освещены патоморфологические изменения печени при интоксикациях медьсодержащими, хлор- и фосфорорганическими пестицидами [1-6]. Установлены некоторые био-химические, гистохимические и гистоэнзиматические изменения преимущественно при острых отрав-лениях, а также при воздействии больших доз пестицидов в пределах LD₅₀ и до 3 месяцев. Вместе с тем отсутствуют какие-либо сведения об особенностях патоморфоза при длительном воздействии по-роговых и действующих доз пестицидов. Учитывая важную роль печени в метаболизме и обезврежи-вании токсических ксенобиотиков, представляет интерес исследование гепатобилиарной системы при длительном воздействии широко используемого в сельском хозяйстве пестицида – гексахлорцикло-гексана (ГХЦГ) в условиях существующей патологии, а именно хронической язвы желудка.

Материал и методы исследования. Объектом исследования послужили белые беспородные крысы в количестве 55 штук, которые были разделены на три группы; 1^{-я} группа (5 крыс) – интактные, 2^{-ой} группе (10 крыс) была воспроизведена ацетатная язва желудка по методу Okabe-Pfeiffer [7]; обжи-гали серозную оболочку желудка в пилороантральном отделе в проекции нижней части правой доли печени концентрированной уксусной кислотой при помощи круглой металлической пластинки с от-верстием в центре, диаметром 0,4 см. Металлическую пластинку плотно прижимали к серозной обо-лочке желудка и шприцем, на отверстие в пластинке, наносили 2 капли уксусной кислоты на 45 се-кунд, после чего ватным шариком просушивали серозную оболочку (рис. 1).

3^{-й} группе (40 крыс) после воспроизведения язвы желудка животные получали с питьевой во-дой в течение 6 месяцев раствор гексахлорциклогексана в дозах: 1 ПДК – 0,02мг/л, 10 ПДК- 0,2мг/л, 50 ПДК – 1мг/л, 100 ПДК – 2мг/л (по 10 крыс на каждую дозу). Через 6 месяцев опыта произведен

забой животных. Проводили гистоморфологические и гистоэнзиматические исследования криостатных и парафиновых срезов тканей печени опытных и контрольных животных. Ставили реакции на сукцинатдегидрогеназу (СДГ), лактатдегидрогеназу (ЛДГ), α -глицерофос-фатдегидрогеназу (α -ГФДГ), никотинамиддинуклеотид-диафору (НАД), моноаминоксидазу (МАО), кислую (КФ) и щелочную (ЩФ) фосфатазы; определяли содержание гликогена и РНК в печени с последующей компьютерной цитофотометрической оценкой. Обезболивание во время операции воспроизведения язвы желудка и эвтаназию экспериментальных животных проводили в соответствии с приказом МЗ СССР, № 755, от 12.08.1977 г.

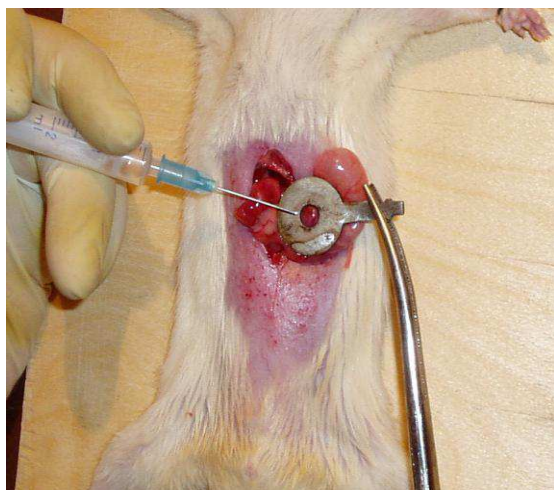


Рис. 1. Воспроизведение ацетатной язвы желудка по методу Okabe-Pfeiffer

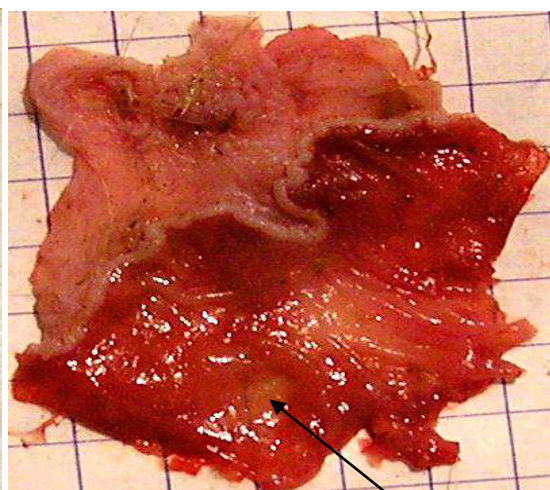


Рис. 2. Острая язва желудка на 7-е сутки после воспроизведения язвы по методу Okabe-Pfeiffer (указана стрелкой).

Результаты исследования. При введении ГХЦГ в дозе 1 ПДК заживление хронических язв желудка наблюдалось у 7 крыс; незажившие язвы были у 3 крыс (в контроле I), из них пенетрация язвы в печень обнаружена у 2 крыс. В этой группе от осложнений после операции погибла 1 крыса на 15 сутки от перитонита. Макроскопически у животных с зажившими язвами обнаружены незначительные спайки серозы с капсулой печени. В случаях с незажившими язвами наблюдались более плотные сращения, особенно при пенетрации ее в печень.

Гистоморфологически у животных с пенетрацией язвы желудка в печень в области её дна определялась созревающая грануляционная ткань со значительно выраженной лимфоцитарной инфильтрацией с примесью плазмочитов и нейтрофилов с очаговым распространением в глубь печеночной паренхимы по междольковой строме. В пограничной с дном язвы зоне выявляли очаговую дисконфлексацию печеночноклеточных трабекул с умеренно выраженной вакуольной дистрофией, полиморфизмом и гипертрофией ядер в части гепатоцитов. В отдаленной от язвы доле печени дольковое гистостроение паренхимы сохранялось, воспалительная реакция в строме не отмечалась.

Гистоэнзиматически наблюдалось повышение активности на 15-20% большинства дегидрогеназ, КФ и ЩФ как в зоне пенетрации, так и в отдаленных участках печени, за исключением сукцинатдегидрогеназы, которая снижалась в зоне пенетрации на 23%, но повышалась в отдаленной от язвы доле печени в среднем на 16%. Содержание гликогена в зоне пенетрации язвы было снижено на 29%, а в отдаленной доле печени наблюдалось увеличение содержания гликогена в среднем на 7%. РНК в зоне пенетрации было снижено на 16%, тогда как в отдаленной от язвы доле печени оно повышалось в среднем на 16%.

При введении пестицида в дозе 10 ПДК в ходе эксперимента через 35 суток погибла 1 крыса от спаечного процесса и частичной непроходимости. После забоя оставшихся животных (9 крыс) у 2 крыс обнаружены незажившие хронические язвы с пенетрацией в печень. У остальных 7 животных наблюдались воронкообразные углубления в стенке желудка, по типу дивертикула. Незажившие хронические язвы желудка с пенетрацией в печень имели размеры диаметром от 0,3 до 0,8 см, глубиной от 0,1 до 0,5 см и стенка была плотно сращена с печеночной тканью. В печени в зоне пенетрации язвы

желудка наблюдалось не только замещение печеночной паренхимы созревающей грануляционной тканью, но и постоянно выявлялись сохраненные гистоструктуры *v. porta*, *v. hepatica*, артерии со склерозированными стенками, гиперплазированные желчные протоки, а также разбросанные беспорядочно гепатоциты. Часть из них находилась в состоянии дистрофии и некробиоза с низкой активностью дегидрогеназ, в то же время в большей части регенерирующих клеток и в эпителии пролиферирующих желчных протоков сохранялась высокая активность СДГ, ЛДГ, НАД-диафоразы (рис. 3).

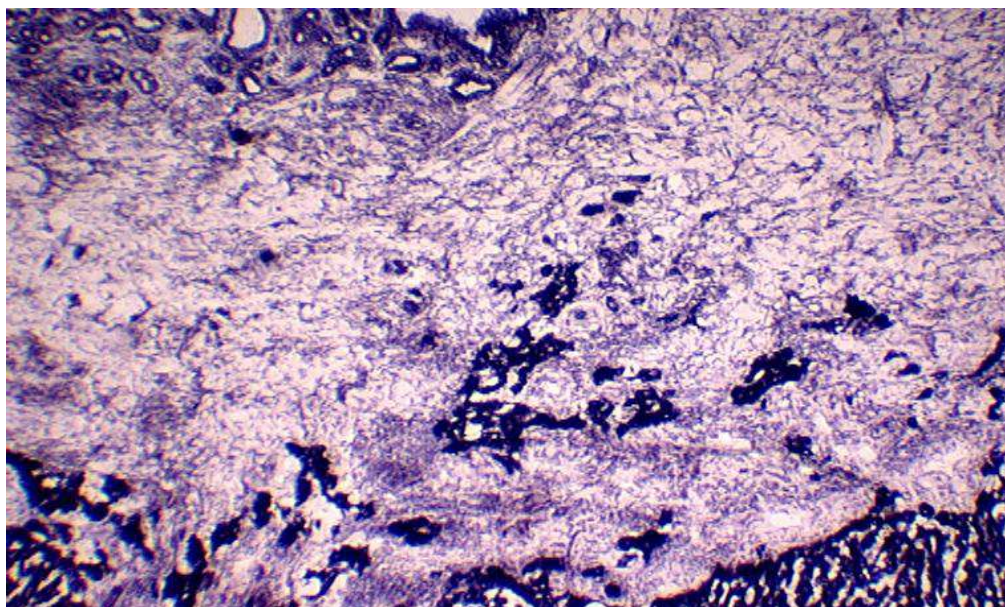


Рис. 3. Язва + ГХЦГ в дозе 10 ПДК. Среди рубцующейся ткани дна язвы – сохраненные комплексы гепатоцитов с высокой активностью ЛДГ при пенетрации язвы желудка в печень. Реакция Нахласа. $\times 40$.

В печеночной паренхиме, граничащей с дном пенетрирующей язвы желудка, повышалась активность ЛДГ, КФ и одновременно снижалась активность СДГ и НАД-диафоразы на 18% и α -ГФДГ – на 22%. В стенках капилляров, коллагеновых волокнах и в адвентиции сосудов отмечалась высокая активность ЩФ. В отдаленной доле печени от пенетрирующей язвы, по сравнению с контролем, отмечалось незначительное снижение СДГ на 7-4%, НАД-диафоразы на 7-10%, ЛДГ на 9%, α -ГФДГ – на 10%. При этом нивелируется зональное распределение активности их, и продукт реакции имеет полиморфно-гранулярный характер. Активность ЩФ в билиарных полюсах гепатоцитов повышалась в среднем на 10,5%. Содержание гликогена и РНК в зоне пенетрации снижено в среднем на 30%, в отдаленных участках печени содержание их менее снижено: гликогена – на 16%, а РНК – на 8,5%.

В группе животных получавших ГХЦГ в дозе 50 ПДК, в ходе эксперимента от осложнений погибло 3 крысы на 32, 56, 85 сутки (перфорация язвы желудка, осумкованная сальником, спаечный процесс, пневмония). Процент заживших и незаживших язв желудка был одинаковым – по 5 крыс, при этом пенетрация в печень наблюдалась у 7 крыс. В зоне пенетрации язвы наблюдались сочетания хронического продуктивного воспаления с морфологическими изменениями печеночной паренхимы в виде дискомплексации балок, мелко-, среднекапельной жировой и гидропической дистрофии (рис. 4), гипертрофии и гиперхромности ядер гепатоцитов, а также гиперплазии желчных протоков с пролиферацией билиарного эпителия.

В случаях с зажившими язвами, в области бывшей пенетрации язвы в печень гистоструктура балок была сохранена. В печеночных долях определялось заметное расширение синусоидов с одновременным истончением печеночноклеточных трабекул с ядерно-цитоплазматическим полиморфизмом гепатоцитов, обусловленное дисциркуляторным и токсическим воздействием. Активность дегидрогеназ (рис. 5) и содержание гликогена в паренхиме печени снижались, ЩФ в соединительной ткани, билиарных капиллярах повышалась, а КФ повышалась в отдаленной от язвы доле и снижалась вокруг зоны пенетрации язвы (рис. 6).

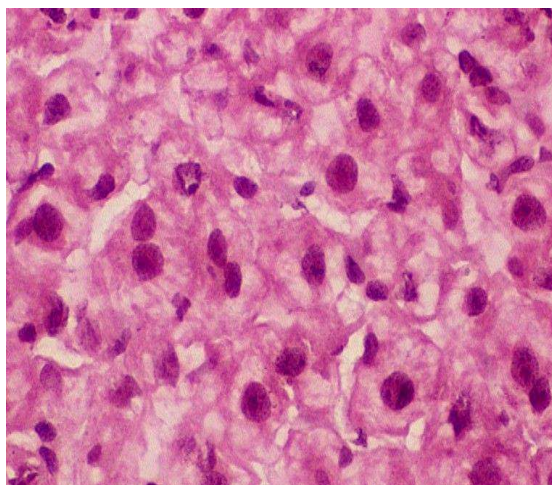


Рис. 4. Язва + ГХЦГ в дозе 50 ПДК. Среднекапельная жировая дистрофия гепатоцитов с гипертрофией и гиперхромностью ядер в отдаленной доле от пенетрирующей язвы желудка. Окраска гематоксилином и эозином, криостатный срез. $\times 400$.

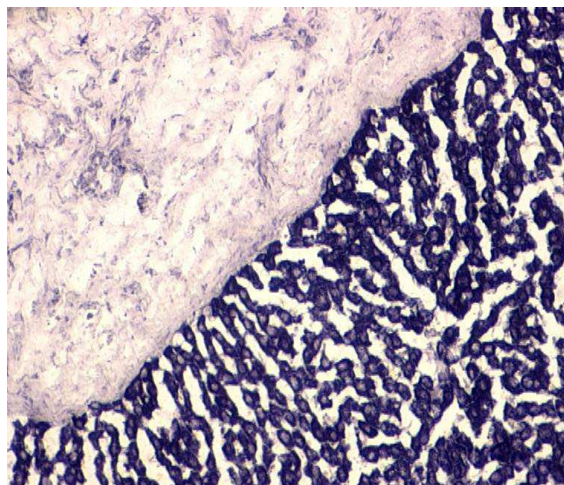


Рис. 5. Язва + ГХЦГ в дозе 50 ПДК. Зона пенетрации язвы желудка в стадии рубцевания; атрофичные трабекулы гепатоцитов с умеренно сниженной активностью СДГ. Реакция по Нахласу. $\times 40$.

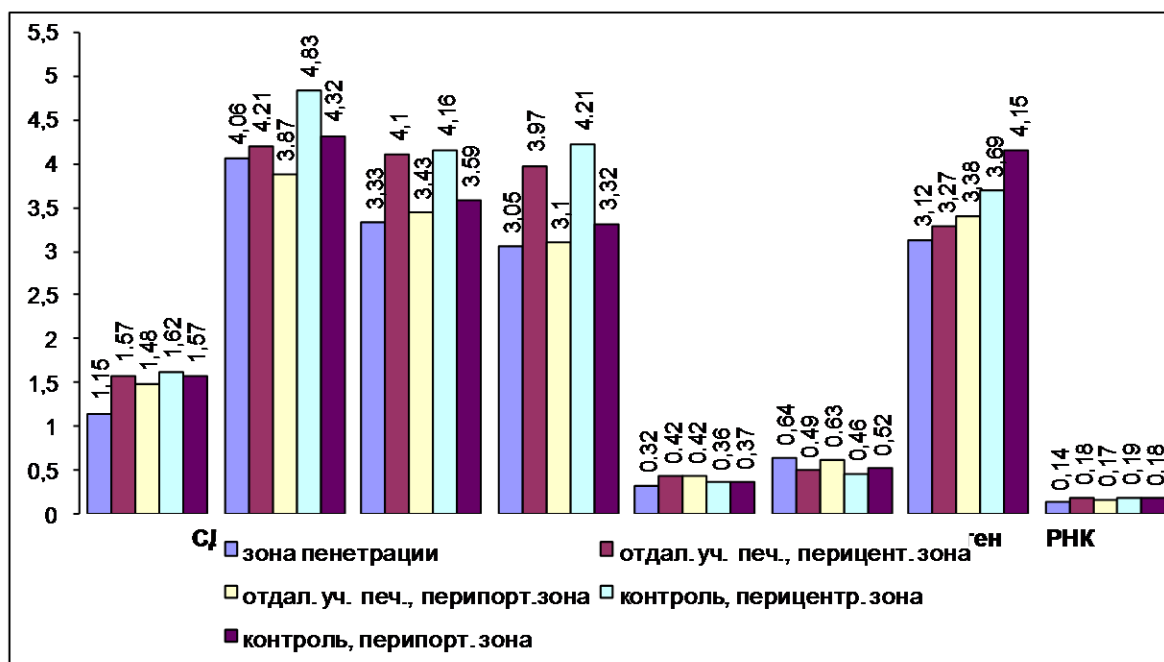


Рис. 6. Сравнительная фотометрическая оценка энзиматической активности, содержания гликогена и РНК в печени при пенетрации язвы желудка и хроническом воздействии ГХЦГ в дозе 50 ПДК.

При воздействии ГХЦГ в дозе 100 ПДК под опытом пали 2 крысы (на 48, 75 сутки). У погибших и выживших животных на аутопсии в 100 % случаях выявлены незажившие хронические язвы диаметром от 3-5 до 10-15 мм (рис. 7) с пенетрацией в печень. При этом у всех животных наблюдались плотные сращения желудка с печенью, сальником и иногда передней брюшной стенкой.



Рис. 7. Хроническая пенетрирующая в печень гигантская язва желудка при введении ГХЦГ в дозе 100 ПДК. 1 – язва желудка с пенетрацией, 2 – пограничная зона, 3 – отдаленная доля печени.

Гистоморфологически в области дна язвы сохранялись слои фибринозно-лейкоцитарной инфильтрации, некроза, грануляционной ткани и далее зона рубцовой трансформации на границе с печеночной паренхимой. Местами лимфоцитарные инфильтраты распространялись по перипортальной строме в глубь печени.

Среди рубцовой ткани выявлялись клубки гиперплазированных желчных протоков и склерозированных сосудов после предшествовавшего некроза и резорбции печеночной паренхимы. В пограничной зоне с рубцовой тканью отмечалась дисконкомплексация трабекул с дистрофией гепатоцитов. В синусах пролиферация купферовских клеток сочеталась с увеличением числа лейкоцитов. По мере отдаления от дна язвы в печени сохранялось балочное строение долек, хотя цитоплазма их теряла базофильную зернистость.

Активность дегидрогеназ в печени в зоне пенетрации незажившей язвы желудка снижалась: НАД-диафораза и α -ГФДГ – в среднем на 13%, ЛДГ – на 7%; снижалось содержание гликогена – на 30%, РНК оставалась в пределах нормы, повышалась активность КФ – на 24% и ЩФ – на 19%. В отдаленной от язвы доле печени происходило также снижение активности всех дегидрогеназ в среднем на 20-25% и уменьшение содержания гликогена и РНК в среднем на 15-20%; повышалась активность КФ – 19% и 18% по зонам и ЩФ – на 4% и 25% по зонам.

Таким образом, при ацетатной язве желудка и хроническом пероральном воздействии ГХЦГ в дозах 1 – 10 – 50 – 100 ПДК патоморфологические и гистохимические изменения печени характеризуются значительным полиморфизмом и взаимосвязаны как с дозой пестицида, так и с морфогенезом язвы.

При воздействии ГХЦГ в дозе 10 ПДК (0,2 мг/л) у 20% животных с ацетатной язвой желудка наблюдается агрессивное её течение с пенетрацией в печень. В последней, в зоне пенетрации язвы желудка, происходит не только замещение печеночной паренхимы созревающей грануляционной тканью, но и наблюдаются компенсаторные процессы в виде регенерационной гипертрофии оставшихся гепатоцитов, что указывает на возможность функционирования гепатоцитов среди рубцовой ткани, даже в изолированном состоянии от общей массы печени. При этом гиперплазированные желчные протоки местами достигают поверхности язвы и билиарный эпителий участвует в регенерации язвы желудка. В то же время по мере увеличения дозы пестицида (50-100 ПДК) прогрессивно нарастают дегенеративные и метаболические нарушения в печеночной паренхиме не только в зоне пенетрации, но и в отдаленной доле печени. Они проявляются преимущественно изменениями активности ферментов, ответственных за окислительно-восстановительные, гидролитические процессы, активацией гликогенолиза и угнетением синтеза РНК в гепатоцитах. Вместе с тем в глубокой зоне пенетрации, на границе с печенью формируется адаптационно-защитный слой из мезенхимальных, ретикуло-эндотелиальных, гистиоцитарных комплексов и билиарного эпителия, очевидно, частично препятствующий резорбции из желудка агрессивных факторов и в том числе пестицидов. Дисэнзиматические и дистрофические нарушения в паренхиме печени в области дна хронической пенетрирующей язвы и в



отдаленной доле печени можно объяснить комплексным влиянием патогенных факторов: нарушением гемодиализации, гипоксией, в связи со склерозом стенок артерий, воздействием желудочного содержимого с пестицидом и продуктов нарушенного билиарного обмена в результате внутридолькового холестаза.

Выводы:

1. При длительном пероральном поступлении ГХЦГ в дозе от 1 до 10 ПДК у животных с ацетатной язвой на 10-20% увеличивается пенетрация её в печень с одновременным повышением защитно-приспособительных метаболических процессов в ней.

2. При увеличении дозы поступающего пестицида до 50-100 ПДК наблюдается агрессивное течение язвы с увеличением частоты пенетрации в печень (до 100% при дозе 100 ПДК), угнетением активности всех дегидрогеназ, МАО, усилением гликогенолиза, падением синтеза РНК в гепатоцитах. Одновременно сохраняется повышенная активность КФ, ЩФ, свидетельствующая об усилении гидrolитических и фибробластических процессов защитного характера.

Библиографический список

1. Артамонова В.Г., Шаталов Н.Н. Интоксикация пестицидами, применяемыми при сельскохозяйственных работах. // Профессиональные болезни. – М.: Медицина, 1996. – С. 342.
2. Бочкарёв М. В., Ботнар В.П., Василани А.Ф., Чепой Ф.П. Клиника, дифференциальная диагностика и лечение хронических интоксикаций пестицидами. – Кишинев: Штиинца, 1979. – С. 33-41.
3. Комарова Л.И., Алёхина С.М. Диагностическое значение определения активности серин- и трониндегидротазы в сыворотке крови при токсических поражениях печени, вызванных действием пестицидов. // Клиническая лабораторная диагностика. – 1992. – № 11/12. – С. 41-42.
4. Каган Ю. С. Общая токсикология пестицидов. – Киев.: Здоров'я, 1981. – С. 169-173.
5. Фёдоров Л.А., Яблоков А.В. Пестициды – токсический удар по биосфере и человеку. – М.: Наука, 1999. – С. 461.
6. Harrison P.T., Holms P., Humfrey C.D. Reproductive health in humans and wildlife: are adverse trends associated with environmental chemical exposure? // Sci. total environ. – 1997. – Vol. 205, № 2/3. – P. 97-106.
7. Okabe S., Pfeiffer C.J. The acetic acid ulcer model – a procedure for chronic duodenal or gastric ulcer. // Peptic Ulcer edited by C.J. Pfeiffer; with a foreword by James L.A. Roth. – Philadelphia: Lippincott, 1971. – P. 13-20.

Bibliography

1. Artamonova V.G., Shatalov N.N. Intoxication with pesticides, used in agricultural work. // Occupational diseases. – M.: Medicine, 1996. – p.342.
2. Bochkarev M.V., Botnari V.P., Vasilani A.F., Chepoi F.P. Clinic, differential diagnosis and treatment of chronic intoxication pesticides. – Kishinev: Shtiinca 1979 – p. 33-41.
3. Komarova L.I., Alekhina S.M. Diagnostic value of determining the activity of serine and treonindegidrotazy in serum of blood under toxic liver damage caused by the action of pesticides. // Clinical Laboratory Diagnostics 1992. - № 11/12. - p. 41-42
4. Kagan U.S. General toxicology of pesticides. - Kiev.: Health, 1981. - p.169-173.
5. Fedorov L.A., Yablokov A.V. Pesticides – a toxic impact on the biosphere and human being. - Moscow: Science 1999. – p. 461.
6. Harrison P.T., Holms P., Humfrey C.D. Reproductive health in humans and wildlife: are adverse trends associated with environmental chemical exposure? // Sci. total environ. – 1997. – Vol. 205, № 2/3. – P. 97-106.
7. Okabe S., Pfeiffer C.J. The acetic acid ulcer model – a procedure for chronic duodenal or gastric ulcer. // Peptic Ulcer edited by C.J. Pfeiffer; with a foreword by James L.A. Roth. – Philadelphia: Lippincott, 1971. – P. 13-20.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013гг.", проект НК-38Р-17.