ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ ХЛОРИРОВАННЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ НА МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ОРГАНА-МИШЕНИ И ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИОННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

В.Ю. Зиновкина, Т.Н. Глинская

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий», г. Минск, Республика Беларусь

Резюме: В условиях эксперимента проведено изучение влияния хронической интоксикации четыреххлористым углеродом на показатели эндотоксемии и морфо-функциональное состояние лизосомальной системы печени и продемонстрировано положительное влияние однократного курса и многокурсовой энтеросорбции на изучаемые показатели.

Ключевые слова: четыреххлористый углерод, токсическое поражение печени, эндотоксемия, лизосомы, энтеросорбция

Summary: In an experimental conditions there were studied the influence of chronic intoxication with carbon tetrachloride on the performance of endotoxemia and morphofunctional state of the lysosomal system of the liver. The positive effects of enterosorption single course and multiple enterosorption courses on the studied parameters were demonstrated.

Key words: carbon tetrachloride, hepatotoxicity, endotoxemia, lysosomes, enterosorption

Введение. С каждым годом возрастает число хронических форм патологии печени, обусловленных неблагоприятной производственно-экологической ситуацией [1]. Хлорированные углеводороды используются, как основное сырье, в производстве фторированных хладагентов, в

Репозиторий БГМУ

органическом синтезе средств для пожаротушения, для химической чистки и обезжиривания одежды в быту, применяются в качестве не воспламеняющихся негорючих растворителей для смол, лаков, жиров, восков, а также для экстрагирования жиров и алкалоидов [2]. Неосторожное обращение и технологические нарушения, нарушения правил техники безопасности, включая пренебрежение средствами индивидуальных защиты, могут привести к отравлению или хронической интоксикации этими ксенобиотиками работающих в таких производствах при превышении гигиенических нормативов, в частности для четыреххлористого углерода, CCl_4, в воздухе рабочей зоны. Токсическое воздействие возможно и в быту при использовании хлорированных углеводородов без средств индивидуальной защиты.

При любом пути поступления CCl_4 вызывает повреждение печени, центральной нервной системы, почек, легких, сердечно-сосудистой системы [3].

Учитывая выраженное гепатотропное действие токсического агента и участие печени в метаболизме и обезвреживании этого ксенобиотика, актуальным является изучение функционального состояния органа-мишени и ультраструктурных перестроек субклеточных структур печени – лизосом (ЛЗ) гепатоцитов. Ультраструктурные изменения имеют опережающий характер по отношению к органу и организму в целом. ЛЗ принимают участие в ключевых процессах повреждения и регенерации на субклеточном уровне, по их состоянию можно оценить эффективность методов детоксикации, применяемых в клинике при токсических поражениях печени [4].

Целью работы явилось комплексное исследование влияния хлорированного углеводорода – CCL_4 – на морфофункциональное состояние лизосомальной системы (ЛС) гепатоцитов и обоснование возможностей более эффективной коррекции нарушений состояния органелл путем проведения однократного курса и многократных курсов энтеросорбции (ЭС).

Материал и методы. Эксперимент проведен на крысах с соблюдением правил работ с использованием экспериментальных животных. Моделирование хронического токсического поражения печени (ХТПП) осуществлялось подкожным введением масляного раствора CCL_4 по стандартной методике в течение 20 недель. Для ЭС использовался ваулен. ЭС осуществлялась через зонд, при однократном курсе в течение 7 дней, при многократных курсах – ежемесячно в течение 7 дней на протяжении 4-х месяцев.

Функциональное состояние печени оценивали с помощью постановки бромсульфалеиновой пробы (БСФ-проба) [5], изучения токсичности крови

Репозиторий БГМУ

[6], содержания средних молекул (СМП) [7], продолжительности гексеналового сна (ПГС). Морфо-функциональное состояние ЛС гепатоцитов оценивалось с помощью биохимических показателей активности лизосомальных гидролаз: кислых нуклеаз, катепсина Д, бета-Д-галактозидазы в ткани печени и плазме крови, резервные возможности ЛЗ – по их чувствительности к нарастающим концентрациям неионного детергента тритона Х-100. Проведен количественно-информационный анализ ЛС гепатоцитов [8]. Ультраструктурные изменения ЛЗ гепатоцитов изучали на полутонких срезах печени (25-30 электроннограмм (ЭГ), взятых от трех животных каждой серии). Подсчитывалось общее количество ЛЗ в одной ЭГ, содержание первичных и вторичных форм органелл.

Результаты и обсуждение. Хроническая интоксикация CCL_4 в течение 20-ти недель сопровождалась признаками токсемии. По сравнению с интактным контролем в 1,8 раза увеличивалось содержание СМП, показатели токсичности крови ухудшались в 1,7 раза, наблюдался рост степени задержки биоконверсии БСФ на 10-й минуте в 2,2 раза, продолжительность наркотического сна (ПГС) увеличивалась в 1,5 раза. Значимо повышалась неседиментируемая активность и активность тканевых лизосомальных гидролаз, особенно кислой ДНК-азы (в 2,0 раза и более) и катепсина Д. Следует отметить, что косвенным признаком развития компенсаторных реакций являлся рост общей активности изучаемых гидролаз.

Ультраструктурные изменения субклеточных органелл и данные информационного анализа на изучаемом этапе ХТПП отражали процессы дезорганизации в субпопуляциях первичных и вторичных ЛЗ и приведены ниже в сравнительном аспекте с аналогичными данными при проведении энтеросорбции.

Использование однократного курса ЭС на 20-й неделе ХТПП, характеризующейся достаточной выраженностью на субклеточном уровне организации целостного организма компенсаторных реакций [9], способствовало умеренному улучшению клинических и функциональных показателей состояния печени. Снижались показатели содержания СМП и токсичность крови (на 15% и 22% соответственно по сравнению с ХТПП без проведения ЭС), улучшались биоконверсия ксенобиотика (гексенала), а также показатели БСФ-пробы.

Степень гиперферментемии для большинства изучаемых гидролаз была в 1,2–1,4 раза ($p<0,05$) ниже, чем в группе животных с ХТПП без проведения эфферентного воздействия – энтеросорбции. Снижались свободная активность кислых катепсинов в 2 раза ($p<0,001$), неседиментируемая активность кислых нуклеаз – в 1,5 раза ($p<0,05$). Регистрировались нерезкие изменения общей активности кислых гидролаз ЛЗ. Отмечалась стабилизация

Репозиторий БГМУ

лизосомальных мембран ЛЗ, оцениваемая по отношению неседиментируемой активности гидролаз к их общей активности. Повышалась устойчивость мембран органелл к действию неионного детергента тритона Х-100, что свидетельствовало об увеличении резервных возможностей органелл.

Для ультраструктурных изменений ЛС гепатоцитов было характерно следующее. На фоне однократного 7-дневного курса ЭС на 18% по сравнению с группой 20-недельного ХТПП без ЭС снижалось общее число ЛЗ за счет первичных форм органелл. Соотношение первичные : вторичные формы ЛЗ оптимизировалось и составило 24%:76%, по сравнению с таковым у животных с 20-недельным ХТПП без проведения ЭС – 28%:72%. Было также отмечено торможение синтеза первичных ЛЗ и усиленное их расходование на ауто- и гетерофагические процессы.

В гистограмме распределения первичных форм органелл увеличилась численность более мелких лизосом 1 и 3 классов, в гистограмме распределения вторичных ЛЗ увеличилась доля более крупных форм, относившихся к 4-5 классам по сравнению с контролем ХТПП без ЭС.

Проведение информационного анализа позволило выявить, что на фоне однократного курса ЭС у крыс с 20-недельным ХТПП субпопуляция первичных ЛЗ становилась более однородной (энтропия снижалась в 1,1 раза), резервные возможности субпопуляции возрастали (в 1,8 раза увеличилась избыточность) по сравнении с контролем ХТПП без ЭС.

В субпопуляции вторичных ЛЗ, которые были представлены, преимущественно, гетерофаголизосомами, по сравнению с контролем ХТПП без ЭС, увеличилась степень гетерогенности органелл (энтропия возросла в 1,2 раза) и снижались резервные возможности вторичных форм ЛЗ (в 1,4 раза снизилась избыточность).

На фоне однократного курса ЭС увеличение детерминированности субпопуляции первичных ЛЗ, возрастание гетерогенности субпопуляции вторичных форм на данном этапе патологического процесса отражала расходование первичных ЛЗ и активацию процессов ауто- и гетерофагоцитоза, способствующих замедлению развития цирротических изменений в печени.

Для оценки возможности использования ЭС в качестве корригирующего мероприятия при ХТПП проведено изучение ультраструктурных сдвигов ЛС гепатоцитов на фоне многократных ежемесячных курсов ЭС при хроническом воздействии ксенобиотика, поскольку эффективность использования однократного курса ЭС при 20-недельном ХТПП расценить однозначно достаточно сложно.

Результаты оказались следующими. Ежемесячное (в течение 4 месяцев) проведение 7-дневных курсов ЭС на фоне хронической интоксикации

Репозиторий БГМУ

способствовало росту общего количества ЛЗ, которое составило 214% от уровня контроля ХТПП без ЭС и происходило за счет активации синтеза первичных форм, число которых возросло до 142% от уровня контрольной группы животных с ХТПП без ЭС. Соотношение первичные : вторичные формы составило 42%:58%, что служит косвенным свидетельством активации синтеза первичных органелл.

В субпопуляциях первичных и вторичных ЛЗ (по данным гистограмм) преобладали, как и у интактных животных, первичные органеллы, относящиеся к 5-6 классам гистограммы, вторичные ЛЗ преимущественно относились к 3-4 классам. Отмечено ограничение активности процессов ауто- и гетерофагоцитоза в гепатоцитах, что вероятно, связано со снижением выраженности интоксикации на фоне ежемесячных курсов ЭС.

Информационные показатели субпопуляции первичных форм органелл на фоне проведения многократных курсов ЭС существенно не отличались от таковых у животных после проведения однократного курса ЭС. Субпопуляция первичных ЛЗ становилась более однородной (энтропия снижалась в 1,1 раза), резервные возможности субпопуляции возрастали (в 1,8 раза увеличилась избыточность) по сравнении с контролем ХТПП без ЭС.

Следует принять во внимание, что данные сдвиги произошли на фоне существенного роста количества первичных форм (на фоне однократного курса ЭС отмечалось снижение числа первичных ЛЗ).

Четырехкратное проведение ежемесячных курсов ЭС относительно контроля без ЭС сопровождалось снижением степени разнообразия субпопуляции вторичных форм (энтропия уменьшалась в 1,1 раза по сравнению с животными с хронической интоксикацией без проведения ЭС) и повышением резервных возможностей вторичных органелл (в 1,1 раза возрастала избыточность).

Выводы. Хроническая интоксикация четыреххлористым углеродом по стандартной методике в течение 4-х месяцев приводит к развитию хронического токсического поражения печени с выраженными признаками эндотоксемии, нарушениями функционального состояния лизосомальной системы органа и неблагоприятными ультраструктурными изменениями органелл.

Курсовая 7-дневная ЭС оказывает положительное воздействие на состояние ЛС гепатоцитов на 20-й неделе ХТПП, на фоне имеющихся резервов лизосомальной системы, способствуя расходованию первичных форм и стимуляции ауто- и гетерофагических процессов. Это подтверждается результатами проведения информационного анализа: возрастанием однородности и увеличением резервных возможностей первичных лизосом и

Репозиторий БГМУ

увеличением гетерогенности и снижением резервных возможностей вторичных форм органелл.

Проведение многократных ежемесячно повторяемых курсов ЭС в течение 4-х месяцев на фоне ХТПП стимулирует регенеративные и синтетические процессы в гепатоцитах, выражающихся в увеличении количества первичных ЛЗ, снижении их расходования на ауто- и гетерофагические процессы, вызывает возрастание однородности субпопуляций первичных и вторичных органелл и способствует росту их резервных возможностей.

Сдвиги информационных показателей состояния лизосомальной системы коррелируют с морфо-функциональными изменениями органелл при моделировании хронической интоксикации, а также под влиянием одно- и многократных курсов ЭС.

Полученные результаты эксперимента позволили доклинически обосновать использование энтеросорбции в качестве лечебно-профилактического мероприятия при кратковременном контакте с хлорированными углеводородами, и в качестве компонента комплекса лечебных мероприятий при хронических токсических поражениях печени, развившихся на фоне длительного действия хлорированных углеводородов.

Литература

1. Соколов, С.М. Достижения и перспективы развития гигиенической науки в Беларуси в XXI веке / С.М. Соколов, В.П. Филонов, И.А. Застенская // Научно-практическая конференция «75 лет санитарно-эпидемиологической службе Республики Беларусь. История, актуальные проблемы на современном этапе, перспективы развития». – Минск, 2001. – С. 23-27.

2. Химия: Большой Энциклопедический Словарь. Москва, 1998. – С. 1016.

3. Щербина, А.Э. Углеводороды / А.Э. Щербина, Л.Г. Матусевич. –Минск, 1991. – 270 с.

4. Лопаткин, Н.А. Эфферентные методы в медицине / Н.А. Лопаткин, Ю.М. Лопухин. – М. : Медицина, 1989. – 352 с.

5. Путятина, Т.К. Модификация бромсульфалеиновой пробы для изучения экскреторно-поглотительной функции печени у крыс / Т.К. Путятина, Ю.Д. Апросин, Р.В. Недошивина // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. –1989. – №6. – С.58-59.

6. Радыкова, О.А. Определение токсичности биологических жидкостей / О.А. Радыкова, Г.А. Бояринов, М.Н. Балинина, К.В. Крылов. – А.с. 1146570 СССР.

7. Моин, В.М. Способ определения веществ группы средних молекул в биологических жидкостях / В.М. Моин, В.В. Николайчик, В.В. Кирковский. – А.с. 1520445 СССР.

Репозиторий БГМУ

8. Леонтюк, А.С. Информационный анализ в морфологических исследованиях / А.С. Леонтюк, Л.А. Леонтюк, А.И. Сыкало. – Минск : Наука и техника, 1981. – 160 с.

9. Хронические поражения печени холестатической и токсической природы (патогенетические аспекты) /А.А. Кривчик [и др.]. – Минск : БГМУ, 2004 – 183 с.