

УДК: 619:616.1.

ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАДПОЧЕЧНИКОВ ПРИ ОСТРОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ХЛОРАТОМ МАГНИЯ



Абдуллаев Бахтиер Саидович, Исламов Шавкат Эрийгитович, Махматмурадова Наргиза Негматуллаевна
Самаркандский государственный медицинский университет, Республика Узбекистан, г. Самарканд

ХЛОРАТ МАГНИЙНИ ЎТКИР ТАЪСИРИДА БУЙРАК УСТИ БЕЗЛАРИНИ ГИСТОКИМЁВИЙ ТАВСИФИ

Абдуллаев Бахтиер Саидович, Исламов Шавкат Эрийгитович, Махматмурадова Наргиза Негматуллаевна
Самарканд давлат тиббиёт университети, Ўзбекистон Республикаси, Самарканд ш.

HISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF THE ADRENAL GLAND UNDER ACUTE EXPOSURE TO MAGNESIUM CHLORATE

Abdullaev Bakhtiyor Saidovich, Islamov Shavkat Eryigitovich, Makhmatmuradova Nargiza Negmatullaevna
Samarkand State Medical University, Uzbekistan, Samarkand

e-mail: shavkat.islamov.1972@mail.ru

Резюме. Дефолиантни ўткир таъсири аъзони пустлок ва магиз моддалари хужайраларини структур, гемодинамик бузилишлари ва дистрофик ўзгаришларига олиб келади. Буйрак усти безларнинг нисбий оғирлиги назорат билан солиштирганда ишончли даражада ошади. Буйрак усти безларини пустлоги ваунинг қаватларини нисбий кенглигини кенгайтиши қайд этилди. Кортикал ва хромаффин хужайралар ядролари хажми назорат билан солиштирганда ишончли даражада ошади. Қон томир реакцияси нафақат гиперемияда, балки маҳаллий қон кетишларда ҳам намён бўлади. Кортикал хужайраларда кариопикноз, уларнинг цитоплазмасини вакуолизацияси аниқланади. Пустлок модда қаватлари хужайраларида, секретор цикл синтетик жараёнлари камаяди. Липидлар ва аскорбин кислота миқдорининг камайиши пустлок хужайралардан гормонларни чиқариши фазасининг ошишини кўрсатади. Магиз моддада Н- хужайралар сони ошади, кўпчилик хромаффин хужайраларининг секретор фаоллиги ўртача ифодаланади.

Калит сўзлар: ўткир захарланиш, магний хлорат, буйрак усти безлари, гистохимёвий ўзгаришлар.

Abstract. Acute administration of defoliant leads to structural, hemodynamic disorders and dystrophic changes in the cells of the cortex and medulla of the organ. The relative weight of the adrenal glands was significantly increased in comparison with the control. Expansion of the relative width of the adrenal cortex and its zones is noted. The volume of nuclei of cortical and chromaffin cells was significantly increased in comparison with the control. The vascular reaction manifests itself not only in hyperemia, but also in local hemorrhages. Determined by karyopyknosis in cortical cells, vacuolization of their cytoplasm. After a single injection of the pesticide, there is a decrease in the synthetic processes of the secretory cycle in the cells of the cortex zones. A decrease in the amount of lipids and ascorbic acid indicate an increase in the phase of hormone release from cortical cells. In the medulla, the content of N cells is increased, the secretory activity of most chromaffin cells is moderately expressed.

Key words: acute poisoning, magnesium chlorate, adrenal glands, histochemical changes.

Актуальность. В настоящее время химизация сельского хозяйства создает новые экологические факторы, которые необходимо учитывать (Рогозин М.Ю., 2018) [7]. К настоящему времени доказано неблагоприятное влияние многих пестицидов на организм, что

приводит к развитию патологических состояний в нем (Аксенов В.А. с соавт., 2016) [1]. В последние годы вновь подвергнуты изучению состояние органов пищеварительной системы, иммунной и половой систем под влиянием различных экзогенных факторов (Ленчер О.С., 2016) [6].

При этом наряду с новыми пестицидами в сельском хозяйстве до сих пор применяется хлорат магния в качестве дефолианта и десиканта (Блинова С.А. с соавт., 2021) [2]. В литературе нет достаточно полных сведений о состоянии адаптивных реакций в надпочечниках после воздействия пестицидов, в том числе и хлората магния. Все это обосновывает необходимость подробного исследования морфофункциональных сдвигов в надпочечниках при одно- и многократном воздействии на организм различных доз хлората магния, что является весьма актуальным по своему значению.

Цель исследования - установить гистохимические изменения надпочечников при остром воздействии хлоратом магния.

Материал и методы исследования. Исследование выполнено на 18 взрослых беспородных крысах-самцах, весом 150-200 гр. Хлорат магния в дозе 410 мг/кг массы тела животного вводили внутривенно, в виде 4,1% раствора, натошак. Пестицид растворяли в дистиллированной воде. Указанная доза соответствует 1/10 ЛД₅₀. Глубоко в ротовую полость крыс помещали обычный шприц с металлическим зондом и медленно вводили препарат. Пероральный способ введения хлората магния выбран с учетом того, что по данным ряда авторов в 85-90% случаев пестициды поступают в организм с продуктами питания и водой. Доза хлората магния равная ЛД₅₀ (среднесмертельная доза) для крыс составляет 4,1 г/кг массы тела. При этом доза хлората магния равная 1/100 ЛД₅₀ (41 мг/кг) для крыс соответствует пороговой, именно с такой дозой наиболее часто сталкивается организм человека и млекопитающих в зонах интенсивного применения пестицидов, поэтому в практическом плане ее использование было важным. Животные первой серии (6 крыс) являлись интактными. Животные второй серии (6 крыс) служили контролем. В аналогичных условиях с крысами, подвергавшимся воздействию хлората магния, они получали дистиллированную воду. Состояние надпочечников изучали у 6 крыс, получавших однократно дистиллированную воду. В третьей серии 6 крыс подвергли однократному воздействию хлората магния в дозе 1/10 ЛД₅₀.

Все животные (интактные, контроль и опыт) содержались в одинаковых условиях вивария. Смертности животных не наблюдалось. До начала эксперимента (в течение одного месяца) и в течение всего периода введения препарата за крысами вели постоянное наблюдение: отмечали общее состояние, следили за весом, стулом и подвижностью животных. Животных взвешивали до начала эксперимента и после его окончания. Крыс, получавших хлорат

магния, а также контрольных и интактных умерщвляли одновременно, путем мгновенной декапитации с помощью специально сооруженной гильотины. Надпочечные железы извлекали сразу после забоя животного и взвешивали на торзионных весах.

Для оценки возможных реактивных и компенсаторных изменений состояния надпочечников после введения хлората магния нами использованы гистологические и гистохимические методы исследования. Надпочечники после взвешивания по условной поперечной оси органа делили пополам, чтобы можно было оценить состояние коркового и мозгового веществ.

Для фиксации надпочечников использовали 12% раствор нейтрального формалина, жидкость Карнуа, жидкость Бэккера, 10% раствор азотнокислого серебра и жидкость Севки. После соответствующей обработки материала по выбранным методикам, проводили через спирты восходящей концентрации и заливали в парафин. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5-7 мк. Применена окраска срезов гематоксилин-эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону, импрегнация по методу Фута. Проведена также ШИК-реакция для выявления гликогена с контролем амилазой, реакция Браше для обнаружения РНК с контролем рибонуклеазой, окраска суданом черным с целью определения липидов, выявление аскорбиновой кислоты по методу Жиру-Леблона и реакция Севки (разновидность хромаффинной реакции).

Выбранные методы позволяют оценить состояние зон коркового вещества и мозгового слоя надпочечников, составляющих их клеточные и волокнистые структуры, локализацию и распространение патологического процесса в надпочечниках. Кроме того, гистохимические методы позволяют представить морфофункциональную характеристику адренкортикоцитов и хромаффинных клеток органа.

Использованные нами гистохимические методы позволяют судить не только о функциональном состоянии надпочечника, но и определить нарушение стадий секреторного цикла в его железистых клетках. Так, содержание РНК является показателем интенсивности синтеза ферментов стероидогенеза. Гликоген необходим для инициации процессов синтеза гормонов коры надпочечников. Липиды являются материалом для гормонообразования в клетках коры железы. Аскорбиновая кислота более всего отражает стадию выделения гормонов из кортикальных клеток.

Проведена количественная оценка полученных результатов: 1. Вычислен

относительный вес надпочечников в мг абсолютного веса на 100 г веса животных (мг %). 2. Вычислена относительная ширина коры и ее зон в мкм ширины коры и зон на грамм массы тела. 3. Измерен объем ядер 100 клеток каждой зоны коры и мозгового вещества по формуле А. Arnold [2]. 4. Подсчет гранул аскорбиновой кислоты в 50 клетках каждой зоны коры. 5. Содержание РНК, гликогена и липидов определено по пятибалльной шкале оценок с последующим определением средних по группе величин (полуколичественный метод анализа). 0 - отсутствие вещества; 1 - очень мало; 2 - мало; 3 - умеренное количество; 4 - много; 5 - очень много [2]. 6. С целью объективизации результатов балльной оценки проведено цитофотометрическое исследование содержания РНК, гликогена и липидов в гистопрепаратах надпочечников интактных, контрольных и животных с однократным введением хлората магния, а при многократном введении на 3 и 90 сутки. Исследование проведено на лабораторном цитофотометре "Carlzeiss" в монохроматическом луче с длиной волн 546 нм, с помощью зеркальной диафрагмы размером $d = 0,1$ мм, время регистрации 1 с [2].

Статистическую обработку полученного цифрового материала производили с вычислением средних ошибок для средних арифметических ($M \pm m$). Степень достоверности различия вычисляли на основании определения t -критерия Стьюдента. Затем по таблице критерия Стьюдента определяли вероятность (P) возможной ошибки. Достоверным считались такие различия между контролем и опытом, когда $0,001 \leq P \leq 0,05$.

Результаты исследования. В этой серии приводятся данные по изучению морфофункциональной деятельности надпочечников крыс при однократном действии хлората магния в дозе $1/10$ ЛД₅₀ (острое отравление). Исследования проведены на 6 крысах. У крыс данной серии отмечалось увеличение относительного веса надпочечников по сравнению с контролем, который составил $0,155 \pm 0,0022$ мг на 100 г массы тела животных ($P < 0,001$).

Гистологическое строение коры и мозгового вещества надпочечников. При гистологическом исследовании надпочечников отмечается утолщение их капсулы в результате отека. Поверхность органа образует множество выпячиваний различной величины. Цитоплазма некоторых клеток глыбчатая. Аргирофильные волокна изменены разнообразно, фрагментированы, многие из них вплоть до лизиса, а остальные утолщены. Зональная дифференцировка зон коркового вещества несколько нарушена. В клубочковой зоне нарушено расположение клеток, в результате чего клубочки их плохо различимы. Некоторые клетки этой зоны подвергнуты гидропической дистрофии. При этом адренокортициты уплощены с удлинёнными ядрами и ориентированы параллельно капсуле, с явлениями кариопикноза. Отмечаются очаговые кровоизлияния. Наблюдается фрагментация и очаговый лизис аргирофильных волокон.

Морфометрические показатели и гистохимическая картина функционального состояния коры надпочечников. При морфометрическом исследовании отмечается достоверное увеличение относительной ширины коры надпочечников по сравнению с контролем. Относительная ширина клубочковой, пучковой и сетчатой зон также достоверно больше, чем у контрольных крыс. Объем ядер клеток клубочковой, пучковой и сетчатой зон коркового вещества достоверно увеличен по сравнению с контролем (табл. 1).

Однократное введение хлората магния в дозе $1/10$ ЛД₅₀ вызывает резкие изменения количественного содержания определяемых веществ в коре (рис. 1). В клубочковой зоне надпочечников отмечается снижение содержания РНК, гликогена, липидов и аскорбиновой кислоты. При этом отмечается высокая пиронинофилия подкапсулярных клеток. В пучковой зоне органа также наблюдается меньшее количество РНК, гликогена, липидов и аскорбиновой кислоты, чем в контроле. В сетчатой зоне уменьшено содержание гистохимических веществ – РНК, гликогена, липидов и аскорбиновой кислоты по сравнению с контролем.

Таблица 1. Морфометрические показатели надпочечников у крыс, получавших однократно хлорат магния в дозе $1/10$ ЛД₅₀

| Объект измерения | Кора надпочечника | Клубочковая зона | Пучковая зона | Сетчатая зона | Мозговое вещество |
|--|--------------------|------------------------|---------------------|--------------------|------------------------|
| Относительная ширина коры и ее зон (мкм на 100 г массы тела) | $512,3 \pm 9,34^*$ | $42,46 \pm 2,63^{***}$ | $347,23 \pm 4,32^*$ | $122,59 \pm 3,4^*$ | - |
| Объем ядер (мкм ³) | - | $64,63 \pm 2,7^*$ | $86,69 \pm 3,17^*$ | $66,25 \pm 2,93^*$ | $101,54 \pm 2,02^{**}$ |

Примечание: P – показатель достоверности различий по сравнению с контролем $0,001 \leq P \leq 0,05$ (* – $P < 0,001$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,05$)

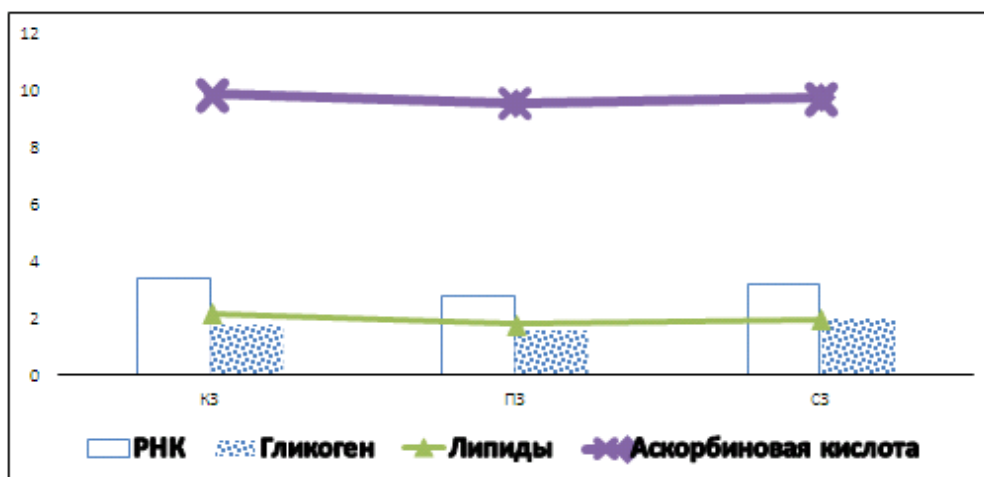


Рис. 1. Содержание РНК, гликогена, липидов и аскорбиновой кислоты в коре надпочечников у крыс, получавших однократно хлорат магния в дозе 1/10 ЛД₅₀.

Таблица 2. Содержание гистохимических веществ по данным цитофотометрии в коре надпочечников у крыс, получавших однократно хлорат магния в дозе 1/10 ЛД₅₀

| Гистохимические показатели | Клубочковая зона | Пучковая зона | Сетчатая зона |
|----------------------------|------------------|---------------|---------------|
| РНК | 23,8±0,39 * | 20,5±0,37 * | 21,86±0,35 * |
| Гликоген | 17,49±0,36 * | 15,23±0,34 * | 18,76±0,35 * |
| Липиды | 16,69±0,36 * | 13,2±0,38 * | 13,97±0,37 * |

Примечание: Р – показатель достоверности различий по сравнению с контролем $0,001 \leq P \leq 0,05$ (* – $P < 0,001$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,05$)

По результатам цитофотометрии содержание РНК, гликогена и липидов во всех зонах коры достоверно ниже, чем в контроле (табл.2), что подтверждает результаты визуальной оценки количества гистохимически выявляемых веществ.

Состояние хромаффинных клеток надпочечников. В хромаффинных клетках мозгового вещества объем ядер достоверно превышает контрольный уровень ($P < 0,01$) (табл. 1). В мозговом веществе надпочечных желез крыс, подвергнутых однократному действию хлората магния в дозе 1/10 ЛД₅₀, отмечается увеличение числа норадреналинсодержащих клеток по сравнению с контролем, и они составляют примерно 50% от общего числа клеток. В цитоплазме норадреналин- и адреналинсодержащих клеток наблюдается мелких вакуолей и единичных крупных вакуолей, что свидетельствует об умеренной секреторной активности этих клеток. При этом она сильнее выражена в норадреналинсодержащих клетках, чем в адреналинсодержащих.

Обсуждение. Таким образом, полученные данные о морфофункциональном состоянии надпочечных желез крыс, подвергнутых однократному действию хлоратом магния в дозе 1/10 ЛД₅₀, существенно отличаются от таковых у контрольных животных. Как показывают

результаты проведенных морфологических, морфометрических и гистохимических исследований, однократное введение дефолианта приводит к структурным, гемодинамическим нарушениям и дистрофическим изменениям клеток коркового и мозгового вещества органа. Изменение гемодинамики и строения сосудов внутренних органов при действии экзогенных факторов отмечено рядом исследователей (Гасанов А.Г., 2009; Koko et al., 2004) [4,9].

Достоверно увеличен относительный вес надпочечников по сравнению с контролем. Отмечается расширение относительной ширины коры надпочечников и ее зон. Достоверно увеличен объем ядер кортикальных и хромаффинных клеток по сравнению с контролем.

Сосудистая реакция проявляется не только в гиперемии, но и в локальных геморрагиях. Определяется кариопикноз в кортикальных клетках, вакуолизация их цитоплазмы. После однократного введения пестицида происходит снижение синтетических процессов секреторного цикла в клетках зон коркового вещества. А уменьшение количества липидов и аскорбиновой кислоты, указывают на усиление фазы выделения гормонов из кортикальных клеток. Нарушение секреторного цикла в железистых клетках

описано при различных воздействиях (Кострова О.О. с соавт., 2016; Odo R.I. et al., 2019) [5,10].

В мозговом веществе увеличено содержание Н-клеток, секреторная активность большинства хромаффинных клеток выражена умеренно. В надпочечниках наблюдается развитие адаптивных реакций, что проявляется наличием выпячиваний на поверхности органа, а также увеличением относительного веса органа, расширением относительной ширины коры и ее зон, увеличением объема ядер клеток всех слоев органа. Кроме того, наблюдается высокая пиронинофилия клеток подкапсулярного слоя. Большинство авторов при оценке действия различных повреждающих факторов на надпочечники обычно ограничиваются оценкой одного из параметров (Волкова Н.И. с соавт., 2018; Gannouni N. et al., 2014) [3,8].

Выводы. Таким образом, совокупность указанных изменений указывает на то, что при однократном действии ядохимиката в дозе 1/10 ЛД₅₀ происходит резкое усиление морфофункциональной деятельности органа наряду с развитием в нем реактивно-деструктивных изменений на фоне нарушения синтетических процессов в клетках. После однократного применения пестицида усиливается секреторная активность хромаффинных клеток мозгового вещества, в нем увеличивается число норадреналинсодержащих клеток. Отмечается резкое повышение адаптивных реакций надпочечных желез.

Литература:

1. Аксенов В.А., Шиховцева И.В. Влияние пестицидов на организм. проблемы обращения с пестицидами // «Актуальные проблемы экологии и охраны труда» Сборник статей VIII Международной научно-практической конференции: в 2 частях. 2016, С.42-46.
2. Блинова С.А., Исламов Ш.Э., Махматмурадова Н.Н. Функциональная морфология надпочечных желез крыс, подвергнутых воздействию хлоратом магния// Монография.- «TIBBIYOT KO'ZGUSI». Самарканд, 2021. – 8,8 п.л.- 126 с.
3. Волкова Н.И., Ганенко Л.А., Мажухин В.Ю., Шевченко А.Н. Дифференциальная диагностика образования надпочечника: описание редкого клинического случая. //Эндокринная хирургия. – 2018. - №12(3). – С. 150-156.
4. Гасанов А.Б. Морфология гипофиза, надпочечников и щитовидной железы при опийной наркомании // Современные проблемы науки и образования. – 2009. – № 6-3.

5. Кострова О.Ю., Меркулова Л.М., Котёлкина А.А., Стоменская И.С., Стручко Г.Ю., Михайлова М.Н. Морфофункциональные изменения надпочечников и тимуса у крыс при введении канцерогена N-метил-N-нитрозомочевина // Acta medica Eurasica. – 2016. – №3. – С. 49-53.

6. Ленчер О.С. Состояние гормональных и морфологических показателей активности надпочечников при холодовой адаптации // Научное обозрение. Биологические науки. – 2016. – № 5. – С. 5-11.

7. Рогозин М.Ю. Бекетова Е.А. Экологические последствия применения пестицидов в сельском хозяйстве // Молодой ученый. — 2018. — № 25 (211). — С. 39-43.

8. Gannouni N., Mhamdi A., May M. El, Tebourbi O., Kh.B. Morphological changes of adrenal gland and heart tissue after varying duration of noise exposure in adult rat //Noise Health. – 2014. - №16. – P. 416-21.

9. Koko V., Djordjeviæ J., Cvijijæ G., Davidoviæ V. Effect of acute heat stress on rat adrenal glands: a morphological and stereological study Journal of //Experimental Biology. – 2004. - № 207. – P. 4225-4230.

10. Odo R.I., Aka L.O., Mbegbu E.Ch., Awachie M.E., Igboke C.O. Impaired epididymal function and changes in thyroid and adrenal glands morphology of heat stressed rats //African. Journals Online. – 2019. - Vol. 16 № 3. - P.3503-3507.

ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАДПОЧЕЧНИКОВ ПРИ ОСТРОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ХЛОРАТОМ МАГНИЯ

Абдуллаев Б.С., Исламов Ш.Э., Махматмурадова Н.Н.

Резюме. Острое введение дефолианта приводит к структурным, гемодинамическим нарушениям и дистрофическим изменениям клеток коркового и мозгового вещества органа. Достоверно увеличен относительный вес надпочечников по сравнению с контролем. Отмечается расширение относительной ширины коры надпочечников и ее зон. Достоверно увеличен объем ядер кортикальных и хромаффинных клеток по сравнению с контролем. Сосудистая реакция проявляется не только в гиперемии, но и в локальных геморрагиях. Определяется кариопикноз в кортикальных клетках, вакуолизация их цитоплазмы. Снижены синтетические процессы секреторного цикла в клетках зон коркового вещества. А уменьшение количества липидов и аскорбиновой кислоты, указывают на усиление фазы выделения гормонов из кортикальных клеток. В мозговом веществе увеличено содержание Н-клеток, секреторная активность большинства хромаффинных клеток выражена умеренно.

Ключевые слова: острое отравление, хлорат магния, надпочечники, гистохимические изменения.