

УДК 616.231.428–092.9

© Коллектив авторов, 2013

МИКРОАНАТОМИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ТРАХЕОБРОНХИАЛЬНОГО ЛИМФОУЗЛА КРЫС ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ СОДЕРЖАНИИ ИХ В УСЛОВИЯХ ПРОИЗВОДСТВА (НЕФТЕПЕРЕРАБОТКИ)

Е. Ж. Бекмухамбетов, Т. Ж. Умбетов, Г. А. Мутигулина, Н. П. Барсуков

Западно–Казахстанский государственный медицинский университет им. М. Оспанова, 030019 Казахстан, г. Актобе, ул. Маресьева, 68.

*ЮФ НУБиП Украины «Крымский агротехнологический университет». 95492 Украина, г. Симферополь, п. Аграрное
E-mail: umbetov38@rambler.ru*

MICROANATOMICAL ORGANIZATION OF THE TRACHEOBRONCHIAL LYMPH NODES OF RATS WITH LONG-TERM MAINTENANCE OF IN TERMS OF PRODUCTION (OIL).

E. Zh. Bekmukhambetov, T. J. Umbetov, G. A. Mutigulina, N. P. Barsukov

SUMMARY

With long-term maintenance in the production of white male rats were studied microanatomical organization tracheobronchial lymph node control and experimental animals in terms of 15, 30 and 60 days. In the lymph nodes of control and experimental rats found a significant increase in the area of the capsule, paracortical areas of lymphoid nodules with centers of breeding and myelinated bands, indicating that enhance the immune stress in functional areas of the parenchyma of the lymph node (lymphoid nodules with breeding center) corresponding to the cell (paracortical zone) and humoral (meat strands). A conservation area sinus node within the physiological lymph node indicates the absence of inflammation in the lungs.

МИКРОАНАТОМІЧНА ОРГАНІЗАЦІЯ ТРАХЕОБРОНХІАЛЬНОГО ЛІМФОВУЗЛА ЩУРІВ ПРИ ДОВГОТРИВАЛОМУ УТРИМАННІ ЇХ В УМОВАХ ВИРОБНИЦТВА (НАФТОПЕРЕРОБКИ)

Е. Ж. Бекмухамбетов, Т. Ж. Умбетов, Г. А. Мутигуліна, М. П. Барсуков

РЕЗЮМЕ

При тривалому утриманні в умовах виробництва (нафтопереробки) білих щурів самців вивчена мікроанатомічна організація трахеобронхіального лімфатичного вузла контрольних і експериментальних тварин в терміни 15, 30 і 60 днів. Встановлено достовірне зростання площі капсули, паракортикальної зони, лімфоїдних вузликів з центрами розмноження і м'якушевих тяжів, що вказує на посилення імунного навантаження у функціональних зонах паренхіми лімфовузла (лімфоїдні вузлики з центрами розмноження), що відповідають за клітинний (паракортикальна зона) і гуморальний (м'якушеві тяжі) імунітет. Збереження площі синусів вузла в межах фізіологічної функції лімфовузла свідчить про відсутність запальних процесів в легенях.

Ключевые слова: лимфатический узел, сероводород, микроанатомическая организация.

На Западе Республики Казахстан находятся потенциальные ресурсы углеводородного сырья, ежегодно нарастают темпы добычи нефти. В атмосферу выбрасываются значительные количества сероводорода, меркаптана и других токсических веществ. Почвенный покров всех действующих нефтегазопромыслов техногенно разрушен и загрязнен нефтью, различными токсичными химическими веществами [1]. Установлено, что нефтегазовые конденсаты и сероводород вредно действуют на организм человека и животных. В частности, сероводород, действуя на организм человека через дыхательные пути, вызывает патологические изменения всех органов и систем (легкие, печень, почки) организма [2–4]. Поэтому одной из важных проблем медицины является изучение токсического действия сероводорода и продуктов переработки нефти и газа на живой организм.

Общим компонентом в картине морфологических изменений всех органов при токсическом

действии ксенобиотиков являются поражения сосудистой системы [5]. Лимфатическая система, как часть сосудистой системы, является решающим звеном, на уровне которого совершаются процессы обмена веществ, развертываются реакции организма на инфекцию, чужеродные вещества, по ней осуществляется миграция клеток, принимающих участие в новообразованиях. В ней формируются лимфоидные элементы, обеспечивающие иммунные реакции [6–8].

Вышеизложенное обуславливает целенаправленное изучение, в первую очередь, органов, являющихся мишенями для продуктов нефтегазодобычи и материалов их переработки, которыми являются дыхательная система, кожные покровы организма и их региональные лимфатические узлы.

Изучение трахеобронхиальных лимфоузлов при действии продуктов нефтепереработки является весьма актуальным, так как сероводород – главный компонент нефтепереработки, загрязняя внешнюю

среду, с вдыхаемым воздухом поступает в организм человека.

Целью исследования явилось изучение морфо-функционального состояния трахеобронхиальных лимфатических узлов при длительном нахождении организма в условиях производства при переработке нефти (натурный эксперимент) на Атырауском нефтеперерабатывающем заводе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили трахеобронхиальные лимфатические узлы половозрелых беспородных белых крыс – самцов, весом от 180 до 300 г. Работа выполнена на 70 крысах, распределённых на 2 группы: экспериментальную и контрольную. Экспериментальные животные в клетках ежедневно по 6 часов содержались в цехе переработки нефти, за исключением выходных дней, а контрольные – постоянно содержались в помещении в 230 метрах от завода. При этом животные как экспериментальной, так и контрольной групп пребывали при естественном световом режиме, получали равноценный кормовой рацион и имели свободный доступ к воде и пище.

Из эксперимента животных выводили после легкого эфирного наркоза методом декапитации портновскими ножницами в сроки 15, 30 и 60 суток.

Для гистологического исследования правый трахеобронхиальный лимфатический узел фиксировали в 10%-ном забуференном растворе формалина. Парафиновые срезы, сделанные вдоль длинной оси лимфоузла, толщиной 7–8 мкм окрашивали гематоксилин–эозином и азур II–эозином. С помощью окулярной сети при увеличении в 28 раз определяли площади следующие структурные компоненты лимфатического узла: общую площадь лимфоузла, площади коркового и мозгового вещества, коркового плато, паракортикальной зоны, лимфоидных узелков с центрами размножения и без них, мякотных тяжей, мозговых синусов и капсулы. Тестовая система и увеличение, при котором проводили исследования, были подобраны таким образом, что на любую из оцениваемых структур попадала, как минимум, одна точка [9]. Учитывали количество пересечений сетки, приходящихся на каждую структуру [10].

Для определения удельной площади структур сначала подсчитывали общее число точек по формуле:

$$\left(\sum P_i = P_n + P_m + P_c + P_i + P_x \right),$$

где n, m, c, i – исследуемые компоненты, а x – все остальные точки. Удельную площадь структуры выражали формулой:

$$A_A = \frac{P_n}{\sum P_i};$$

где P_n – площадь исследуемого компонента, $\sum P_i$ – общее число точек.

Значение абсолютных площадей структур измеряли в количестве точек, приходящихся на сечение одной структуры, которое при необходимости выражали в мм^2 . Рассчитывали отношение абсолютной площади коркового вещества к абсолютной площади мозгового вещества (индекс К/М) [11].

Ошибку репрезентивности средних величин (S_x) вычисляли по формуле:

$$S_x = \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{n^2} - \left(\frac{\sum x_i}{n}\right)^2} * \frac{1}{n};$$

где $\sum x_i$ – значение варианта, n – число наблюдений.

Вероятность достоверности различий сравниваемых средних величин определяли, сопоставляя значения критерия достоверности (t_d) со стандартными значениями Стьюдента:

$$t_d = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{S_{x_1}^2 + S_{x_2}^2}} \geq t_s$$

где \bar{x}_1, \bar{x}_2 – средние величины, $S_{x_1}^2, S_{x_2}^2$ – их ошибки репрезентивности, t_s – критерий Стьюдента.

Различия считали, достоверными при $P < 0,05$, учитывая характер распределения признака, близкого к норме.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении микроанатомической организации трахеобронхиальных лимфатических узлов крыс при длительном содержании их в условиях производства было установлено достоверное увеличение площади сечения лимфатического узла во все сроки эксперимента, показатели которой достигали своего максимума в срок 30 суток. Также наблюдали достоверное увеличение площади сечения капсулы лимфоузла. Так, к концу эксперимента (60 суток) площадь капсулы увеличилась в 2 раза. Площадь сечения краевого синуса во все сроки исследования оставались в пределах контрольных данных. В эксперименте не происходило существенных изменений со стороны площади коркового плато. Значительные увеличения площади сечения наблюдали со стороны паракортикальной зоны. Она к 15-м суткам возросла в 1,5 раза, к 30-м – в 2 раза и к 60-м – почти в 2,3 раза. Площадь лимфоидных узелков без центров размножения в сроки эксперимента 30 и 60 суток находилась в пределах контрольных данных, а в срок 15 суток достоверно возросла, составляя $0,142 \pm 0,002\%$. В контроле она составляла $0,112 \pm 0,013\%$. При этом наблюдалось достоверное уменьшение количества лимфоидных узелков без центра размножения, наиболее в срок 15 суток – $3,157 \pm 0,215\%$, в контроле – $5,761 \pm 0,425\%$.

В экспериментальных условиях достоверно возрастала площадь и численность лимфоидных узелков с центрами размножения. При этом максимальное увеличение площади до $0,314 \pm 0,043$ % и количества ($4,183 \pm 0,422$) таких узелков происходило в срок 30 суток. В контроле эти показатели составляли $0,196 \pm 0,019$ % и $2,945 \pm 0,213$, соответственно. Во все сроки эксперимента наблюдали достоверное увеличение площади мякотных тяжей. При этом к концу эксперимента (60 суток) этот показатель был менее выраженным. Площадь мозговых синусов в первые 30 суток исследования находилась в пределах контрольных данных, но к концу эксперимента происходило достоверное её уменьшение (табл. 1 и 2).

При сравнении общей площади сечения лимфоузла экспериментальных данных с контрольными было установлено достоверное возрастание площади лимфоузла в сроки 15 и более 60 суток, а на 30 сутки сохранялась тенденция к увеличению.

Площадь краевого синуса во все сроки эксперимента и в контроле оставалась суженной и без существенных изменений. Площадь коркового плато в эксперименте по сравнению с контрольными данными к 15-м суткам наблюдения достоверно возрастала, а в остальные сроки имела тенденция к её уменьшению. В то же время площадь паракортикальной зоны в эксперименте возрастала соответственно с увеличением срока исследования.

Площадь лимфоидных узелков без центров размножения в эксперименте по сравнению

с контрольными данными уменьшалась на фоне снижения их численности. Параллельно с этим достоверно возрастала площадь лимфоидных узелков с центрами размножения: на 15 сутки – в 1,3 раза, на 30 сутки – в 1,37 раза и на 60 сутки – в 1,4 раза по сравнению с контрольными данными. Достоверно возрастала и численность таких лимфоидных узелков на 15 и 30 сутки, в то время как к концу эксперимента (60 суток) снижалась.

В мозговом веществе площадь мякотных тяжей также достоверно увеличивалась в сроки 15 и 30 суток эксперимента, а к концу исследования снижалась до контрольных показателей.

Трахеобронхиальные лимфоузлы принадлежат к узлам второго (компактного) типа и их корково–мозговой индекс (К/М) в норме, контроле и эксперименте был выше 1,6. Так, К/М в нормальных условиях жизнедеятельности составлял 1,856, у контрольных животных на 15-е сутки этот показатель равнялся 1,785, на 30 сутки – 1,854 и к 60 суткам составлял 1,985. Показатели корково–мозгового индекса трахеобронхиального лимфоузла у экспериментальных животных были несколько выше, чем у контрольных. Так, на 15 сутки эксперимента он составлял 1,934, на 30 сутки равнялся 2,034, а к 60 суткам достигал 2,187. При сравнении корково–мозгового индекса трахеобронхиального лимфатического узла экспериментальных крыс с контрольными животными наблюдалось постепенное возрастание разницы этих показателей.

Таблица 1

Микроанатомическая организация (в %) трахеобронхиального лимфатического узла при длительном нахождении крыс в условиях производства – переработки нефти (натурный эксперимент) на Атырауском нефтеперерабатывающем заводе

Объект исследования	норма	Длительность нахождения крыс в производственных условиях		
		15 сутки	30 сутки	60 сутки
Сечение лимфоузла (А)	$2,723 \pm 0,243$	$3,163 \pm 0,287^*$	$3,281 \pm 0,384^*$	$3,210 \pm 0,288^*$
Капсула (А)	$0,089 \pm 0,008$	$0,112 \pm 0,003^*$	$0,137 \pm 0,018^{**}$	$0,195 \pm 0,021^{**}$
Краевой синус (А)	$0,097 \pm 0,012$	$0,102 \pm 0,002$	$0,095 \pm 0,007$	$0,092 \pm 0,009$
Корковое плато (А)	$1,042 \pm 0,042$	$1,103 \pm 0,113$	$1,009 \pm 0,098$	$0,915 \pm 0,089$
Паракортикальная зона (А)	$0,301 \pm 0,031$	$0,452 \pm 0,042^*$	$0,602 \pm 0,059^{**}$	$0,685 \pm 0,067^{***}$
Лимфоидные узелки без центров размножения (А)	$0,112 \pm 0,013$	$0,142 \pm 0,002^*$	$0,118 \pm 0,008$	$0,121 \pm 0,015$
N	$5,761 \pm 0,425$	$3,157 \pm 0,215^*$	$3,318 \pm 0,321^*$	$4,152 \pm 0,402^*$
Лимфоидные узелки с центрами размножения (А)	$0,196 \pm 0,019$	$0,247 \pm 0,031^*$	$0,314 \pm 0,043^*$	$0,285 \pm 0,037^*$
N	$2,945 \pm 0,213$	$3,857 \pm 0,417^*$	$4,183 \pm 0,422^*$	$3,816 \pm 0,398^*$
Мякотные тяжи (А)	$0,399 \pm 0,032$	$0,477 \pm 0,052^*$	$0,511 \pm 0,059^*$	$0,495 \pm 0,516^*$
Мозговые синусы (А)	$0,487 \pm 0,049$	$0,528 \pm 0,064$	$0,495 \pm 0,056$	$0,422 \pm 0,033^*$

Примечание:

* – $P < 0,05$ достоверное отличие от нормы;

** – $P < 0,05$ достоверное отличие от предыдущих сроков исследования.

Таблица 2

Микроанатомическая организация (в %) трахеобронхиального лимфатического узла в норме и контроле

Объект исследования	Норма	Сроки в условиях контроля		
		15 сутки	30 сутки	60 сутки
Сечение лимфоузла (А)	2,723±0,243	2,756±0,214	3,096±0,271	2,908±0,314
Капсула (А)	0,089±0,008	0,094±0,009	0,121±0,017*	0,166±0,022**
Краевой синус (А)	0,097±0,012	0,103±0,012	0,101±0,019	0,097±0,009
Корковое плато (А)	1,042±0,042	0,965±0,096	0,997±0,088	0,952±0,094
Паракортикальная зона (А)	0,301±0,031	0,347±0,048*	0,408±0,046**	0,438±0,042*
Лимфоидные узелки без центров размножения (А) N	0,112±0,013 5,761±0,425	0,127±0,021* 4,246±0,427*	0,116±0,021 3,872±0,355*	0,118±0,012 4,012±0,315*
Лимфоидные узелки с центрами размножения (А) N	0,196±0,019 2,945±0,213	0,201±0,012 3,271±0,345*	0,229±0,031 3,472±0,202*	0,251±0,0217 3,615±0,387*
Мякотные тяжи (А)	0,399±0,032	0,421±0,043	0,443±0,051*	0,461±0,052*
Мозговые синусы (А)	0,487±0,049	0,498±0,053	0,501±0,052	0,425±0,049

Примечание:

* – $P \leq 0,05$ достоверное отличие от нормы;

** – $P < 0,05$ достоверное отличие от нормы и от предыдущих сроков исследования.

Так, соотношение этих показателей в эксперименте и контроле составляло на 15-е сутки – 1,083 раза, на 30-е – 1,097 раза и на 60 суток – 1,102 раза.

Главным токсическим продуктом, который при переработке нефти поступает в воздух рабочей зоны, является сероводород (H_2S). Это бесцветный горючий газ, обладающий резким запахом в малых или больших концентрациях. Сероводород оказывает как местное (на слизистые оболочки, преимущественно, дыхательных путей), так и общетоксическое действие. При концентрациях около 1,2 мг/л и выше наблюдается молниеносная форма отравления. Смерть наступает вследствие кислородного голодания, которое вызывается блокированием тканевого дыхания в связи с угнетением клеточных окислительно-восстановительных процессов. При концентрациях сероводорода в пределах от 0,02 до 0,2 мг/л и выше отмечаются симптомы отравления со стороны нервной системы, органов дыхания и пищеварения [12]. На раздражения сероводородом слизистая оболочка дыхательных путей отвечает воспалительным процессом, в который вовлекается лимфатическая система, играющая ведущую роль в поддержании гомеостаза внутренней среды организма. Она одной из первых реагирует на экзогенное и эндогенное влияние [14]. Кроме того, лимфатическая система является важнейшей составной частью иммунной системы [15].

Нами, как в контроле, так и в эксперименте наблюдалось достоверное возрастание площади капсулы, паракортикальной зоны, мякотных тяжей и лимфоидных узелков с центрами размножения, что

указывает на усиление иммунного напряжения на клеточном (увеличение количества лимфоидных узелков с центрами размножения) и гуморальном (увеличение площади мякотных тяжей) уровнях и плазмоцитарная реакция. Наряду с этим сохранение площади краевого и мозговых синусов в пределах физиологической функции трахеобронхиального лимфоузла, свидетельствует об отсутствии воспалительного процесса.

ВЫВОДЫ

1. Возрастание площади паренхимы лимфатического узла в эксперименте и в контроле, по всей вероятности, обусловлено как общими дестабилизирующими факторами (перемещение животных), так и связано с раздражающим действием сероводорода.
2. Стабильность площади синусов трахеобронхиального лимфоузла в контроле и в эксперименте подтверждает несущественное воздействие производственных условий переработки нефти на транспортную функцию трахеобронхиального лимфоузла.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кулкыбаев Г. А., Омирбаева С. М.. Процессы глобализации и проблемы экологии Республики Казахстан. // Гигиена труда и медицинская экология. – Алматы, 2005. – № 1 (6). – С. 4–13.
2. Гимранова Г. Г., Бакиров А. Б., Масыгутова Л. М. Особенности иммунного статуса у работников нефтедобывающей промышленности // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Со РАМН. – Уфа, 2010. – № 4. – С. 85–90.
3. Давлетова И. С., Наумова Л. И., Шишкина Т. А. Морфофункциональная характеристика

стенки тонкого кишечника при воздействии сероводородсодержащего газа//Астраханский медицинский журнал. – Астрахань, 2010. – Т. 5. – № 4. – С. 30–33.

4. Логинов П. В., Николаев А. А. Влияние сероводородсодержащего газа Астраханского газового месторождения на биохимические показатели функционального состояния семенников белых крыс//Астраханский медицинский журнал. – Астрахань, 2011. – № 2. – С. 76–81.

5. Bieger W. P. Characterization of immune reactions to metals//European Cellsand Materials. – 2003. – Vol. 5. – № 1. – P. 17.

6. Румянцева Е. Г., Дмитриев Д. А. Современные методы изучения влияния загрязнения на иммунную систему//Гигиена и санитария. – 2002. – № 3. – С. 68–71.

7. Игнатьева А. Г. Современные представления об иммунитете (контуры общейтеории)//Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – М.: Медицина, 2003. – № 2. – С. 2–7.

8. Сапин М. Р. Лимфатическая система и ее роль

в иммунных процессах.//Морфология. – 2007. – № 1. – С. 18–22.

9. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 393 с.

10. Бородин Ю. И. Морфофункциональное исследование лимфатических узлов и лимфатических путей на кафедре анатомии НГТИ: итоги и перспективы//Лимфатические узлы: Труды Новосибирского медицинского института. – Новосибирск, 1978. – Т. 97. – С. 9–12.

11. Ташкэ К. Введение в количественную цитогистологическую морфологию. – Бухарест: АН СССР, 1980. – 192 с.

12. Стефанов С. Б. Визуальная классификация при количественном сравнении изображений//Арх. анат. – 1985. – № 2. – С. 78–83.

13. Асфандияров Р. И., Бугин В. Н., Лазько А. Е., Резаев А. А. Острые отравления серосодержащими газами. – Астрахань, 1995. – 156 с.

14. Бородин Ю. И., Машак А. Н., Голубева И. А., Елясин Г. А. Лимфоузел, как маркер экологического воздействия//Тезисы докладов II съезда лимфологов России. – Санкт–Петербург, 2005. – С. 39–41.