

УДК 591.441:547.533
© Волошин В.М., 2012

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ТИМУСУ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ БІЛИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ІНГАЛЯЦІЙНОГО ВПЛИВУ ЕПІХЛОРГІДРИНУ ТА МОЖЛИВІСТЬ ЇХ КОРЕКЦІЇ ТІОТРИАЗОЛІНОМ

Волошин В.М.

Державний заклад «Луганський державний медичний університет»

Волошин В.М. Морфологічні зміни тимусу статевонезрілих білих щурів після інгаляційного впливу епіхлоргідрину та можливість їх корекції тіотриазоліном // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 1. – С. 118-121.

У презентованій статті наводяться дані про гістологічну будову тимусу білих лабораторних щурів самців після інгаляційного впливу епіхлоргідрину. У дослідженні використовували тварин з початковою масою тіла 40-50 г. Щури знаходилися в умовах впливу епіхлоргідрину у концентрації 10 мг/м³ протягом 60 днів (5 днів на тиждень / 5 годин на добу). У якості коректора змін використовували тіотриазолін. Результати дослідження вказують на зменшення кількості клітин лімфоїдної популяції як в корі, так і в мозковій речовині тимусу після впливу вказаного чинника. За умов поєднаної дії тіотриазоліну та епіхлоргідрину токсичні прояви дії останнього деякою мірою нівелюються.

Ключові слова: тимус, гістологія, епіхлоргідрин, тіотриазолін.

Волошин В.Н. Морфологические изменения тимуса неполовозрелых белых крыс после ингаляционного влияния эпихлоргидрина и возможность их коррекции тиотриазолином // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 1. – С. 118-121.

В статті представлені дані про гістологічне строення тимуса білих лабораторних щурів самців після інгаляційного впливу епіхлоргідрину. В дослідженні використовували тварин з початковою масою тіла 40-50 г. Крысы находились в условиях влияния эпихлоргидрина в концентрации 10 мг/м³ в течение 60 дней (5 дней в неделю/5 часов в сутки). В качестве корректора изменений использовали тиотриазолин. Результаты исследования указывают на снижение количества клеток лимфоидной популяции как в коре, так и в мозговом веществе тимуса после влияния указанного фактора. В условиях сочетанного действия тиотриазолина и эпихлоргидрина токсические проявления действия последнего в некоторой степени нивелируются.

Ключевые слова: тимус, гістологія, епіхлоргідрин, тіотриазолін.

Voloshin V.N. Morphological changes in thymus of young white rats after inhalation of epichlorhydrin and the possibility of their correction by thiotriazolium // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 1. – С. 118-121.

The paper presents data on the histological structure of thymus white male laboratory rats after inhalation of epichlorhydrin. In the study we used animals with an initial weight of 40-50 g. The rats were under the influence of epichlorhydrin at concentrations of 10 mg/m³ for 60 days (5 days per week / 5 hours a day). As a proofreader changes used thiotriazolium. Results of the study shows at reducing the number of cells of lymphoid populations in the cortex and medulla in the thymus after the influence of this factor. Under the conditions of combined action of thiotriazolium and epichlorhydrin toxic manifestations of the last offset to some extent.

Key words: thymus, histology, epichlorhydrin, thiotriazolium.

Вступ. В даний час особливу зацікавленість серед науковців-морфологів викликають питання щодо особливостей будови органів імунної системи як в нормі [1, 11], так і за умов впливу різноманітних чинників внутрішнього та зовнішнього середовища [3, 4, 7]. Імунна система має досить широкі компенсаторно-приспосувальні можливості при зміні гомеостазу організму. Тимус є її центральним органом, а також ендокринною залозою і являє собою ланку, що пов'язує найважливіші регуляторні системи, які здійснюють контроль за сталістю внутрішнього середовища організму та забезпечують процеси адаптації до умов зовнішнього середовища, що досить часто змінюються [6,11]. Тимус забезпечує розвиток та дозрівання Т-лімфоцитів та клітин власного мікрооточення [7]. Відомо, що зміни у структурі органів імунної системи залежать від багатьох чинників. Серед них важливе місце займають такі екополютанти, як леткі компоненти епоксидних смол.

Останнім часом широкого розповсюдження у навколишньому середовищі набувають аліфатичні епоксиди. Вивчені деякі ефекти етилен оксиду, пропілен оксиду та галогенізованого епоксиду епіхлоргідрину. Ці компаунди широко використовуються у хімічній промисловості, як проміжні речовини при виробництві етиленгліколю, пропілен-

ліколю, поліуретану, епоксидної смоли, резини, синтетичного гліцерину та сурфактантів. Епіхлоргідрин (CAS RN 106-89-8) виробляється багатьма країнами також для виготовлення розчинників та пестицидів [13]. Результати деяких досліджень доводять статистично вірогідне підвищення кількості хромосомних аберацій у лімфоцитах робітників, зайнятих на його виробництві епіхлоргідрину [8]. Цитотоксичний ефект цієї хімічної сполуки доведено у роботі [10].

Незважаючи на значну кількість робіт щодо морфології тимусу при впливі на організм лабораторних тварин різних чинників, нам не вдалося знайти роботи, які б демонстрували гістологічну будову цього органу після інгаляційного впливу епіхлоргідрину.

Мета дослідження. Зважаючи на поширеність у побуті та виробництві епіхлоргідрину та незначну кількість робіт, які присвячені вивченню його впливу на органогенез тимусу, метою презентованого дослідження стало вивчення гістологічної будови загруднинної залози статевонезрілих щурів, які зазнавали впливу цієї хімічної речовини. Крім того, ми провели дослідження гістологічної будови тимусу після поєднаної дії епіхлоргідрину та тіотриазоліну. Цей синтетичний лікарський препарат було обрано у якості коректора впливу епіхлоргідрину завдяки його вираженій антиокси-

дантній дії [2]. Презентована робота виконана у відповідності з планом наукових досліджень ДЗ «Луганський державний медичний університет» та є частиною наукової теми кафедри анатомії людини «Морфогенез органів ендокринної, імунної та кісткової систем під хронічним впливом летучих компонентів епоксидних смол» (номер державної реєстрації – 0109U004615).

Матеріал та методи дослідження. Робота виконана на 90 білих лабораторних щурах-самцях з початковою масою тіла 40-50 г. Тварин отримували з віварію ДЗ «Луганський державний медичний університет». Дослідження проводилося у відповідності до етичних норм та рекомендацій щодо гуманізації роботи з лабораторними тваринами, які відображені у «Європейській конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших цілей» (Страсбург, 1985). Тварини були розділені на контрольну (К) та дві експериментальні (II та II-ТЗ) серії (по 30 тварин в кожній). Контрольні тварини знаходилися в стандартних умовах віварію. Щури II серії зазнавали впливу епіхлорідрину у концентрації 10 мг/м³ протягом 60 днів (5 годин/добу, 5 днів/тиждень). Такі умови створювалися за допомогою спеціальної установки, яка складається з (1) затравочної камери, (2) камери, у якій створювалася необхідна концентрація діючої речовини, (3) датчика епіхлорідрину та (4) допоміжного оснащення. Щури серії II-ТЗ щоденно отримували розчин тіотриазоліну, який вводився в порожнину очеревини з розрахунку 117 мг/кг маси тіла. Після закінчення вказаного терміну тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом через 1, 7, 15, 30 та 60 днів (1, 2, 3, 4 та 5 групи відповідно), дотримуючись «Методичних рекомендацій з виведення лабораторних тварин з експерименту». Забір, фіксацію тимусу та виготовлення парафінових блоків з розміщеними в них шматочками органу виконували у відповідності до загальноприйнятих методик. Виготовляли зрізи тимусу товщиною 4-6 мкм в горизонтальній площині посередині органу. Для вивчення структурних компонентів тимусу гістологічні зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином. Деталі гістологічної будови органу вивчали за допомогою цитоморфологічного комплексу на базі мікроскопа Olympus VX 41. У клітинному складі лімфоїдної популяції тимуса визначали кількість великих лімфоцитів (ВЛ), великих лімфоцитів з ознаками деструкції (ВЛ-д), середніх лімфоцитів (СЛ), середніх лімфоцитів з ознаками деструкції (СЛ-д), малих лімфоцитів (МЛ), малих лімфоцитів з ознаками деструкції (МЛ-д). Кількість клітин підраховували на 5 полях зору при використанні об'єктива x100 (масляна імерсія). Площу кори та мозкової речовини, а також клітинний склад тимусу визначали за допомогою програми «Master of Morphology» [5], після чого визначали кірково-мозковий індекс. Кількісні показники обробляли з застосуванням методів варіаційної статистики за допомогою програми «Statistica 6.0». Перед проведенням статистичного аналізу перевіряли вибірки на предмет «нормального» розподілу для коректного використання критерію Ст'юдента. Достові-

рно вважали статистичну похибку менше 5% ($p < 0,05$). Критичним вважали t-критерій Ст'юдента – 2,23.

Результати дослідження та їх обговорення.

Гістологічна будова тимусу щурів, які зазнавали впливу епіхлорідрину. На гістологічних препаратах тимусів видно, що часточки органу мають неправильну форму, як і в контролі, та розрізняються одна від іншої за розмірами. Капсула потовщена і видає трабекули, які поділяють орган на часточки. Структура більшості часточок змінена. На малому збільшенні добре видно, що у більшості випадків межа між корою та мозковою речовиною тимусу виглядає нечіткою, а іноді і зовсім не визначається. Наявність вираженої макрофагальної реакції надає корі вигляду «зоряного неба». Не дивлячись на це периферійні ділянки часточок органу виглядають більш темними у порівнянні з центральними їх відділами завдяки відносно меншій кількості тимоцитів у мозковій речовині. Краї часточок переважно рівні. Капсула тимусу складається з поверхневого та глибокого шарів колагенових та ретикулярних волокон, серед яких іноді зустрічаються скупчення лімфоцитів. В трабекулах розрізняються кровоносні судини. Артерії на рівні кортико-медулярного з'єднання заходять у паренхіму органу та віддають гілки до кори та мозкової речовини тимусу. Трабекули містять більше жирових клітин, ніж в контролі. У субкапсулярній ділянці чітко візуалізуються великого розміру, мітотично активні тимоцити. У порівнянні з контролем у зазначеній ділянці тимусу збільшилася кількість клітин з пікнотичними ядрами. Макрофагальна реакція в тимусі щурів, які зазнавали впливу епіхлорідрину, була більш вираженою, ніж в контролі. Кількість тимічних тілець у мозковій речовині у середньому становило 2-3 на часточку. На великому збільшенні нами виявлена кортикальна атрофія, що характеризується зменшенням в цій ділянці кількості лімфоцитів. В епітеліальних клітинах дуже поширеними були явища вакуолізації цитоплазми. В одному випадку нами було виявлено скупчення епітеліальних клітин у трабекулі тимусу (рис.). На препаратах тимусу помітно, що у порівнянні з препаратами тимусу контрольної серії тварин площа, яку займає кіркова речовина, зменшується по відношенню до площі мозкової речовини. Так, показник площі кори тимусу через 1, 7 та 15 днів після припинення дії епіхлорідрину становив відповідно 59,03%, 57,86% та 60,69%. Ці значення відрізнялися від контрольних значень у бік зменшення на 23,08% ($p < 0,001$), 25,24% ($p < 0,001$) та 21,03% ($p < 0,001$) відповідно. Таким чином видно, що інгалаційний вплив епіхлорідрину викликає зменшення площі кори тимусу. В 4 та 5 групах тварин різниця між зазначеним показником контрольної та експериментальної серій також виявилася статистично вірогідною. У відповідності до сказаного вище показник відносної площі мозкової речовини у щурів, які зазнавали впливу епіхлорідрину, був більшим за контрольні значення. При цьому рівень значущості статистичної розбіжності становив $p < 0,001$ в усіх групах за винятком п'ятої, де зазначений показник склав $p = 0,002$. Ці дані знайшли своє відображення у змінах кірково-мозкового індексу. Цей показник у щурів, які зазнавали впливу епіхло-

ргідрину, був нижче за дані контрольної серії у всіх групах спостереження. Так, в 1, 2 та 3 групах контролю він склав 3,37, 3,46 та 3,54, в той час, як в ек-

периментальній серії зазначений показник становив відповідно 1,47, 1,41, та 1,55.

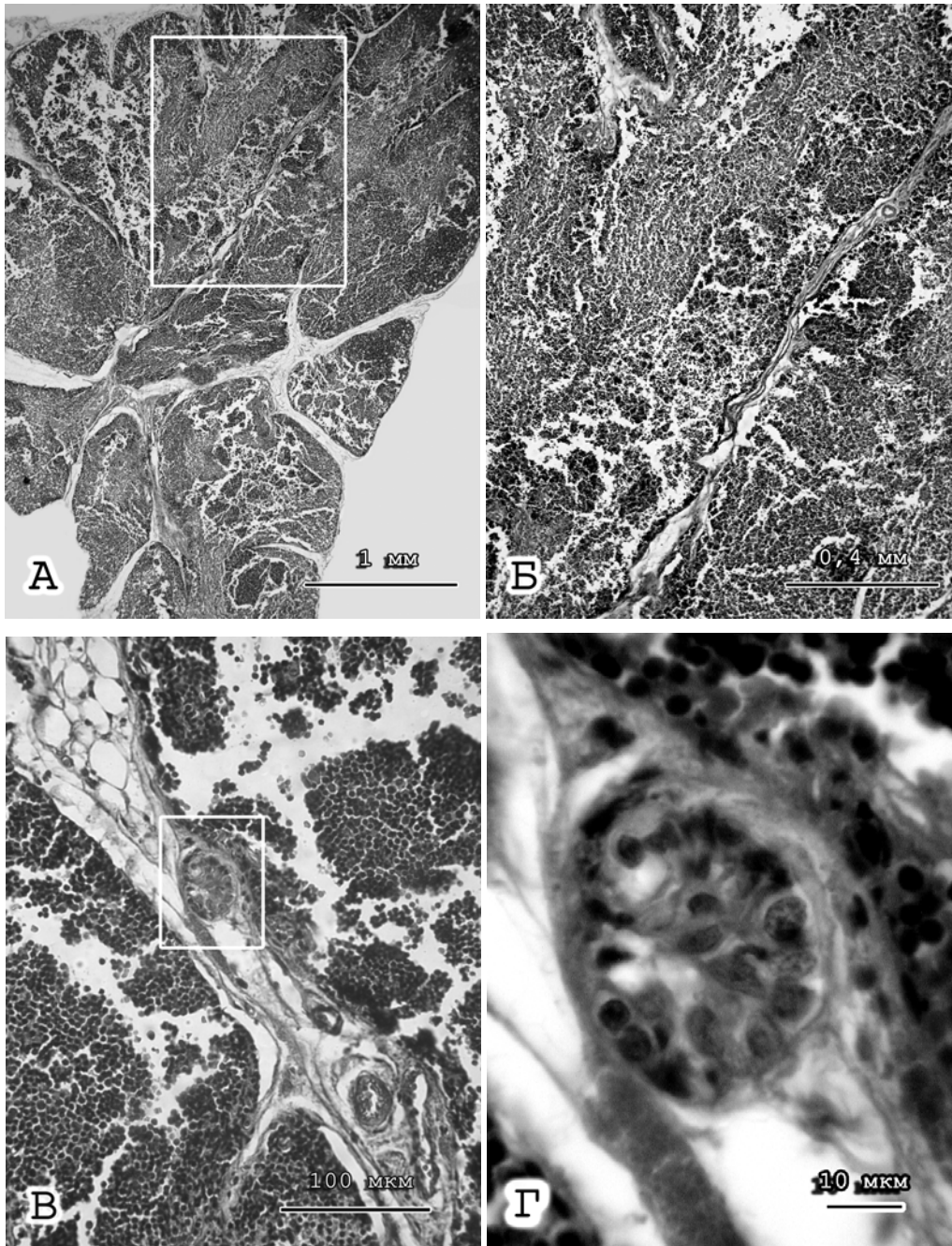


Рис. Розтин тимуса щура 2 групи II серії. (А) розширення трабекул та різке зменшення кількості клітин в корі (об. x4); (Б) збільшена ділянка з рис. 1 (А) (об. x10); (В) кровоносні судини, адипоцити та скупчення епітеліальних клітин в трабекулі (об. x40); (Г) збільшена ділянка з рис. 1 (В) (об. x100). Гематоксилін та еозин.

Зменшення кількості клітин лімфоїдної популяції як в корі, так і в мозковій речовині тимусу виявилось характерною ознакою дії епіхлоргідрину. Так, в субкапсулярній зоні зазначений показник через 1, 7 та 15 днів після припинення дії чинника, що вивчався, був меншим за контрольні значення на 19,15% ($p < 0,001$), 18,02% ($p < 0,001$) та 15,35% ($p = 0,007$) відповідно. Кількість тимоцитів у глибоких ділянках кори після впливу на організм щурів епіхлоргідрину також знижувалася. В 3, 4 та 5 групах щурів різниця зазначеного показника з ко-

нтрольними значеннями складала відповідно 14,48% ($p < 0,001$), 17,95% ($p < 0,001$) та 18,14% ($p = 0,003$). Кількість тимоцитів у мозковій речовині було статистично вірогідно ($p < 0,001$) нижче контрольних значень в 1, 3 та 4 групах тварин.

Гістологічна будова тимусу щурів, які на тлі впливу епіхлоргідрину отримували тіотриазолін. Гістологічна будова тимусу щурів серії II-ГЗ на малому збільшенні була подібною до такої у щурів, які зазнавали впливу епіхлоргідрину. Часточки тимусу мають різний розмір та форму. Інволютивні зміни про-

являються у заміщенні деяких часточок жировою тканиною. Межа між корою та мозковою речовиною не виражена, а іноді – не розрізняється. Це пояснюється більш світлим забарвленням як мозкової речовини, так і кори (більшою мірою). Кількість клітин в корі різко зменшена у порівнянні з контрольними даними. Наявність вираженої макрофагальної реакції надає корі типового у подібних випадках вигляду «зоряного неба». У субкапсулярній ділянці, що формує зовнішню кору, присутня велика кількість великих мітотично активних лімфоцитів. У напрямку до кортико-медулярної межі мітотична активність зменшується. Краї часточок переважно рівні. Капсула виглядає потовщеною. Остання видає в товщу органу трабекули, які досягають кортико-медулярного з'єднання. Чисельність епітеліоретикулярних клітин у порівнянні з контрольними та даними, отриманими в II серії тварин, в різних ділянках органу значних змін не зазнавала. Зустрічалися скупчення епітеліальних клітин, що тісно контактували одна з іншою, та трубчасті структури, стінка яких була утворена одношаровим епітелієм. Кількість тілець Гассала у мозковій речовині кожної часточки знаходилася на рівні 1-2. Чисельність клітин у мозковій речовині була значно меншою, ніж у корі. У мозковій речовині органу переважно зустрічалися зрілі тимоцити, а також макрофаги та дендритні клітини.

Частка кори у щурів 1, 2 та 3 груп тварин, які на тлі дії епіхлоргідрину отримували у якості коректора тіотриазолін, становила відповідно 64,26%, 61,47% та 66,19%, що було нижче контрольних значень на 16,26 % ($p < 0,001$), 20,57 % ($p < 0,001$) та 13,87 % ($p = 0,006$). Порівнюючи ці дані з показниками відповідних груп II серії тварин ми зареєстрували їх збільшення на 8,86 % ($p = 0,020$), 6,24 % ($p = 0,214$) та 9,06 % ($p = 0,042$).

У сучасному індустріалізованому світі людині доволі часто припадає контактувати з різними шкідливими чинниками навколишнього середовища, зокрема з епіхлоргідринном. Його розповсюдження у промисловості пов'язане з використанням цієї хімічної сполуки у виробництві епоксидних смол, а у побуті – з тим, що завдяки своїм властивостям він може виділятися з продуктів, які були виготовлені з його використанням, а це – вироби з резини, пластмаси, різного роду розчинники. Крім того епіхлоргідрин використовується морфологами у процесі пластинації трупного матеріалу [9]. Відомо, що органи імунної системи є досить чутливими до впливу на організм шкідливих чинників. Тому у своїй роботі ми дослідили зміни у гістологічній будові тимусу після інгаляційного впливу на організм епіхлоргідрину. Результати експерименту свідчать про те, що у щурів, які зазнавали впливу епіхлоргідрину спостерігається різке зменшення площі, яку займає кора органу та зменшення кількості клітин лімфоїдної популяції, що є типовим для проявів впливу багатьох хімічних чинників [6, 7]. Так як ми вивчали будову тимусу вже після припинення дії епіхлоргідрину, то слід відмітити, що спостерігалися особливості гістологічної будови органу, коли в організмі щурів після 60 денної експозиції вже відбувалися певні компенсаторно-приспосувальні процеси. Ви-

чення поєднаної дії епіхлоргідрину та тіотриазоліну показало, що антиоксидантна дія останнього мала позитивний вплив стосовно збільшення кількості тимоцитів. Це, вірогідно, пов'язане з захистом мембран клітин, які зазнають пошкодження при підвищенні рівня активних радикалів кисню. Про цитотоксичну дію епіхлоргідрину повідомляють деякі автори [12].

Висновки. (1) У тварин, які зазнавали впливу епіхлоргідрину, спостерігалось зменшення кількості клітин лімфоїдної популяції як в корі, так і в мозковій речовині. (2) Після впливу епіхлоргідрину в різних морфо-функціональних ділянках тимусу поруч з проявами інтоксикації зустрічаються компенсаторні зміни. (3) За умов поєднаної дії настійки тіотриазоліну та епіхлоргідрину токсичні прояви останнього деякою мірою нівелюються.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть пов'язані з визначенням гістологічної будови тимусу після інгаляційного впливу епіхлоргідрину на організм старих щурів.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Волошин Н.А. Тимус новороджених / Н.А. Волошин, Е.А. Григорьева. - Запорожье, 2011. - 154 с.
2. Волошин Н.А. Тіотриазолін, тіоцетам, тіодарон в практиці врача / Н.А. Волошин, В.А. Визир, И.Н. Волошина. - Запорожье: ЗГМУ, 2008. - 224 с.
3. Кашенко С.А. Современные представления о строении тимуса / С.А. Кашенко, А.А. Захаров // Перспективи медицини та біології. - 2010. - Т. II, №1. - С. 22-32.
4. Ковешников В.Г. Функциональная морфология органов иммунной системы / В. Г. Ковешников, Е. Ю. Бибик. - Луганск: «Виртуальная реальность», 2007. - 172 с.
5. Овчаренко В.В. Комп'ютерна програма для морфометричних досліджень «Master of Morphology» / В.В. Овчаренко, В.В. Маврич // Свід. про реєстрацію авт. права на винахід № 9604, дата реєстрації 19.03.2004.
6. DeWitt Jamie C. Immunotoxicity of perfluorinated compounds: recent developments / Jamie C. DeWitt, Margie M. Peden-Adams, Jennifer M. Keller, Dori R. Germolec // Toxicologic Pathology. - 2012. - vol. 40. - № 2. - P. 148-156.
7. Elmore Susan A. Enhanced histopathology of the immune system: a review and update / Susan A. Elmore // Toxicologic Pathology. - 2012. - vol. 40. - № 2. - P. 148-156.
8. Hindsø Landin H. Monitoring of occupational exposure to epichlorohydrin by genetic effects and hemoglobin adducts / H. Hindsø Landin, T. Grummt, C. Laurent, A. Tates // Mutat. Res. - 1997. - Vol. 381. - P. 217-226.
9. Holladay S. D. Risk factors associated with platination: I. Chemical toxicity considerations / S. D. Holladay*, B. L. Blaylock1 and B. J. Smith // Journal of the International Society for Platination. - 2001. - №16. - P.9-13.
10. Mejnek P. Effects of three epoxides—ethylene oxide, propylene oxide and epichlorohydrin—on cell cycle progression and cell death in human diploid fibroblasts / P. Mejnek, A. Kolman // Chem. Biol. Interact. - 1999. - Vol. 117. - P. 219-239.
11. Peterson Richard A. Regulatory T-Cells: Diverse phenotypes integral to immune homeostasis and suppression / Richard A. Peterson // Toxicologic Pathology. - 2012. - vol. 40. - № 2. - P. 186-204.
12. Picciano D. Cytogenic investigation of occupational exposure to epichlorohydrin / D. Picciano // Mutat. Res. - 1979. - № 66. - P. 169-173.
13. U.S. Environmental protection agency. Health and environmental effects profile for epichlorohydrin. EPA/600/x-85/400. Environmental criteria and assessment office, office of health and environmental assessment, office of research and development, Cincinnati, OH. 1985.

Надійшла 11.11.2011 р.

Рецензент: проф. С.А.Кашенко