

© Е. А. Шинкаренко, А. А. Савченко, 2015
УДК 611.36:599.323.4

Е. А. Шинкаренко, А. А. Савченко

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕЧЕНИ ПОЛЕВОК ОБЫКНОВЕННЫХ, ОБИТАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ БОРОДИНСКОГО УГОЛЬНОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ И ЗОН РЕКУЛЬТИВАЦИИ

Лаборатория клеточно-молекулярной физиологии и патологии (руков. — проф. А. А. Савченко), Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера СО РАМН, г. Красноярск

Целью работы явилось исследование морфологических изменений печени у полевок обыкновенных (*Microtus arvalis* Pallas), обитающих на территориях залегания пластов бурого угля Бородинского угольного разреза (Красноярский край) и на рекультивированных отвалах через 10 и 20 лет после его добычи. Отлов животных (по 10 особей), обитающих в естественных условиях на каждой территории, проводили в течение 30 сут. Гистологическое исследование печени у всех животных выявило выраженные в различной степени дистрофические изменения и некроз гепатоцитов. При морфометрии обнаружено, что наибольшие изменения строения стромы и паренхимы печени определяются у полевок, обитающих на территории отвалов угля, рекультивированных 10 лет назад. Установлено, что у животных данной группы в 1,3 раза увеличена толщина пластинок гепатоцитов, удельный объем некротизированных гепатоцитов в 2 раза превышает показатель у животных, обитающих на интактной территории.

Ключевые слова: печень, гепатоциты, морфометрия, уголь, полевка обыкновенная

Изучение морфологических изменений печени при воздействии бурого угля проводится с середины прошлого века. Однако исследование его гепатотоксического воздействия осуществлялось преимущественно в лабораторных условиях [2, 3, 8, 13]. Учитывая то, что в природе часто иная токсическая нагрузка и присутствуют множество сопутствующих экологических факторов, комплекс которых сложно воссоздать в лабораторных условиях, исследование животных в естественной среде обитания дает возможность оценить структурные и функциональные изменения организма при воздействии природного комплекса токсических компонентов [12]. Механизмы диффузии углеводов через биологические барьеры, в частности — гематобилиарный барьер, и их распределение в организме [1, 4, 12] недостаточно изучены. В ряде работ отражена ключевая роль клеток макрофагального звена в процессах перераспределения угольных частиц в организме через кровеносную и лимфатическую систему [3, 6]. Ранее нами было доказано, что гепатотоксический эффект бурого угля и его золы выявляется у лабораторных животных, monitored в производственных условиях открытой добычи угля [10]. В связи с этим изучение морфологических изменений в печени животных, обитающих в различных зонах воздействия угольного разреза,

важно для характеристики влияния данного экотоксиканта на биологический организм в природных концентрациях.

Цель настоящего исследования — выявление морфологических признаков воздействия бурого угля на печень у полевок обыкновенных, обитающих в различных зонах угольного разреза.

Материал и методы. Исследование проведено на обыкновенных полёвках (*Microtus arvalis* Pallas), отловленных при помощи траншей-ловушек [7, 9] в трех зонах Бородинского угольного месторождения Красноярского края: на территории залегания пласта бурого угля и его планируемой открытой добычи (1-я группа) и в рекультивированных зонах через 10 (2-я группа) и 20 лет (3-я группа) после добычи угля. На каждой экспериментальной территории отловлено по 10 особей.

Отлов полевок был произведен в июне и июле, для эксперимента были отобраны самцы 1-й и 2-й генерации, масса животных 14,0–25,3 г. Экспериментальные процедуры выполнены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Животных умерщвляли под эфирным наркозом путем декапитации, после чего брали образцы печени и фиксировали в 10% нейтральном формалине, по стандартной методике изготавливали парафиновые срезы и окрашивали гематоксилином — эозином, а так же пикрофуксином по Ван-Гизону [5]. Исследование и фотографирование препаратов проводили с помощью микроскопа Микмед-2 (ЛОМО, Россия), при увеличении в 100, 200, 400 и 700 раз (водная иммерсия). Морфометрию органа осуществляли с помо-

Сведения об авторах:

Шинкаренко Екатерина Алексеевна (e-mail: lora55555@yandex.ru), Савченко Андрей Анатольевич, лаборатория клеточно-молекулярной физиологии и патологии, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера СО РАМН, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 37

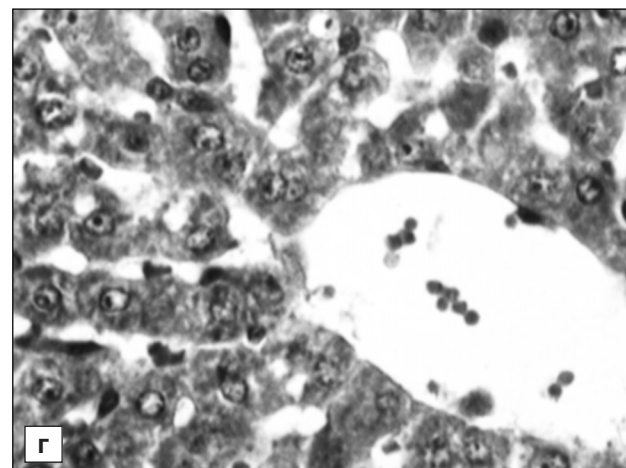
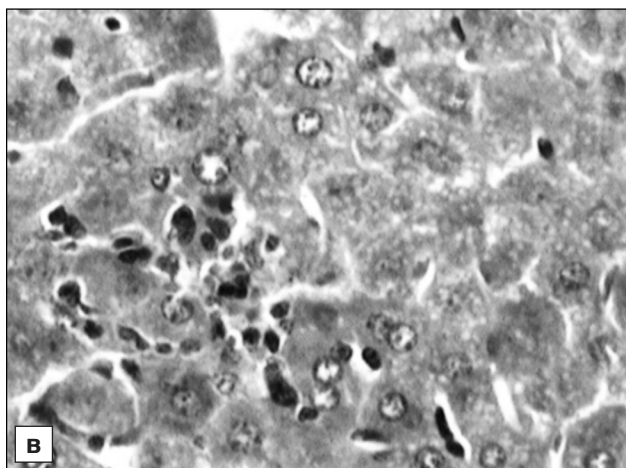
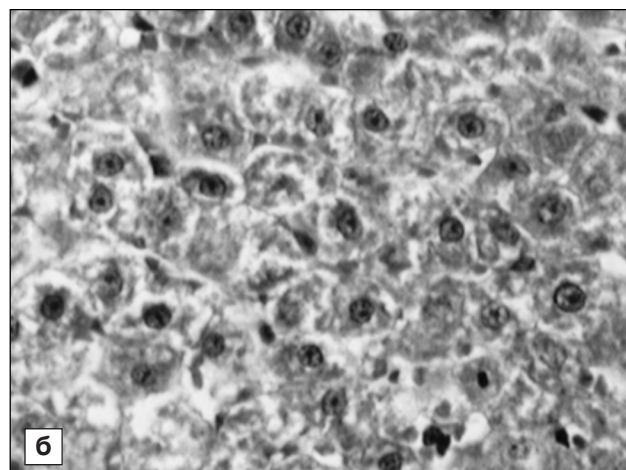
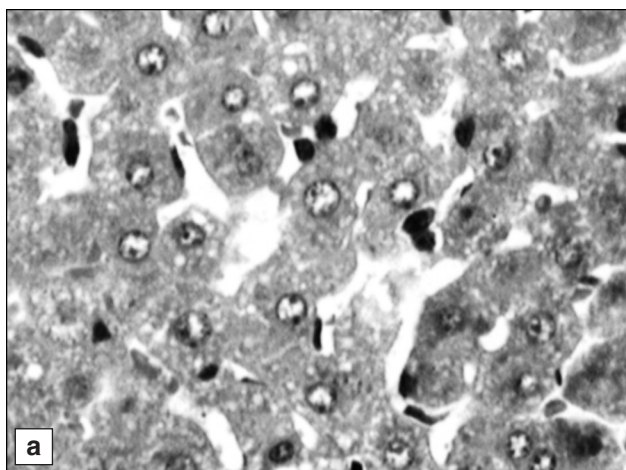
щью стереометрической линейки по методике, предложенной Г.Г.Автандиловым [1]. Цену деления линейки определяли с помощью объект-микрометра при каждом рабочем увеличении микроскопа. Определяли толщину пластинок гепатоцитов, диаметр печеночных долек. Размер каждой структурной единицы определяли в 250 полях зрения в каждой группе животных.

Используя окулярную морфометрическую сетку, имеющую 60 тестовых точек, которую проецировали на случайные поля гистологического среза при ув.400, определяли объемную долю двуядерных, некротизированных, дистрофически измененных и неизмененных гепатоцитов. Структуры подсчитывали в 20 полях зрения на 6 срезах с одного тканевого блока. Для изучения функционального состояния гепатоцитов рассчитывали их ядерно-цитоплазматический индекс.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью лицензионного пакета программ Statistica 6.0. Характеристика данных выполнена с использованием методов описательной статистики, рассчитывали медиану, а также интервал между 25 и 75 процентиллями. Значимость различий определяли с помощью непараметрического критерия Манна—Уитни. Различия между показателями в разных группах животных считали значимыми при $P < 0,05$.

Результаты исследования. В печени полевок, обитающих на территории залегания пласта бурого угля и только планируемой его добычи (1-я группа), перипортальная соединительная ткань была не изменена, дольки органа имели обычное пластинчатое строение. У 70–90% особей в паренхиме встречались небольшие группы гепатоцитов с признаками зернистой, гиалиново-капельной дистрофии (рисунк, а). При морфометрическом исследовании установлено, что некробиотические изменения и лизис клеток — процессы локальные. Исследуя соотношение неизмененных и измененных гепатоцитов обнаружено, что из них 15,5% находятся в состоянии частичной или полной деструкции, 12,8% — с признаками гиалиново-капельной дистрофии.

У животных 2-й группы гистоархитектоника органа была нарушена. Портальные тракты расширены за счет избыточного разрастания соединительной ткани и очаговой лимфоцито-макрофагальной инфильтрации. Атрофия пери-



Печень полевок обыкновенных, обитающих в различных зонах воздействия угольного разреза.

а — печень полевки из зоны залегания бурого угля (контроль); очаговая гиалиново-капельная дистрофия гепатоцитов; б, в — печень полевок из рекультивированной зоны через 10 лет после добычи угля; б — очаговая гидропическая дистрофия, некроз гепатоцитов; в — очаговая лимфоцито-макрофагальная инфильтрация; г — печень полевки из рекультивированной зоны через 20 лет после добычи угля; атрофия, вакуолярная дистрофия, некроз гепатоцитов. Окраска гематоксилином—эозином. Об.40, ок.10

портальных гепатоцитов выявлена в 70% случаев, а в центрах печеночных долек они были набухшими с признаком вакуольной дистрофии, встречались группы гепатоцитов, не имеющих ядер (см. рисунок, б). При морфометрическом исследовании установлено, что 38,3% гепатоцитов некротизированы, 46,3% клеток — с признаками вакуольной и гидропической дистрофии. Ядерно-цитоплазматический индекс увеличен в 1,3 раза по сравнению с таковым у животных 1-й группы (таблица). Нарастание данного показателя связано с очаговой атрофией перипортальных гепатоцитов и набуханием ядер дистрофически измененных клеток. Данные процессы незначительно отразились на диаметре долек печени, однако толщина пластинок гепатоцитов по сравнению с тем же показателем у животных 1-й группы увеличена в 1,3 раза. В 50% случаев в различных зонах ацинуса наблюдались множественные очаговые лимфоцито-макрофагальные инфильтраты, которые часто были приближены к очагам некроза (см. рисунок, в). Кровенаполнение органа было неравномерным: центральные вены расширены, в просветах вен и в синусоидных капиллярах некоторых долек виден стаз эритроцитов.

В печени у животных 3-й группы строение долек было не изменено, однако их диаметр был больше, чем у полевок 1-й группы в 1,2 раза (см. таблицу). Фиброз и лимфоцитарная инфильтрация стромы печени были выражены меньше, чем у животных 2-й группы. Гиалиново-капельная и вакуольная дистрофия гепатоцитов определялась во всех зонах ацинусов (см. рисунок, г). Данные изменения сопровождались увеличением толщины пластинок гепатоцитов по сравнению с таковой у животных 1-й группы в 1,5 раза. Ядерно-цитоплазматический индекс гепатоцитов был больше в 1,8 раза, чем у животных 1-й группы. Очаги некроза редко сопровождались перифокальной лимфоцитарной инфильтрацией, измененные клетки располагались преимущественно во 2-й и 3-й зонах ацинуса. 64,5% гепатоцитов

были с признаками гиалиново-капельной и вакуольной дистрофии, 28,2% — в состоянии некроза. Расстройство кровообращения в виде стаза крови было аналогично таковому у животных 2-й группы.

Обсуждение полученных данных. Известно, что функциональное состояние печени обуславливается силой и длительностью токсического воздействия, а также резервными возможностями организма [2]. При оценке морфологических изменений печени полевок, находящихся в различных зонах воздействия Бородинского угольного разреза, установлены ряд признаков, свидетельствующих о неодинаковой выраженности токсического воздействия. Так, у животных, отловленных на территории через 10 лет после ее рекультивирования, выявлено наибольшее содержание дистрофически измененных и некротизированных гепатоцитов. Вследствие увеличения объемов ядра относительно цитоплазмы гепатоцитов возрастает их ядерно-цитоплазматический индекс, а также толщина пластинок, увеличивается диаметр долек. Очаги некроза гепатоцитов обширнее, чем у животных, обитающих на территории, где добычи угля еще не происходило и после 20-летнего ее рекультивирования. Кроме того, некротические изменения ткани печени чаще сопровождаются перифокальной лимфоцитарной инфильтрацией. В строме печени были отмечены гистиоциты и очаговый фиброз. Аналогичные изменения были обнаружены в легких у животных и объяснялись прямым поступлением в них пылевых частиц во время дыхательного акта [13]. Однако выявление морфологических изменений продуктивного воспаления в печени у животных, контактирующих не только ингаляционно, но и энтерально с пылевыми частицами, подтверждает мнение некоторых авторов о миграции угольных частиц лимфогенно и внутри макрофагов [2, 3].

У полевок, обитающих на территории добычи угля и рекультивированной 20 лет назад, дистро-

Морфометрические показатели печени полевок обыкновенных, обитающих в зонах воздействия угольного разреза [Me, (Q_{25%}–Q_{75%})]

Параметры	Группы животных		
	1-я	2-я	3-я
Диаметр печеночной дольки, мкм	188,26 (165,08–211,02)	202,48 (199,17–232,93)	232,34 (228,02–240,46)
Толщина пластинки гепатоцитов, мкм	9,60 (8,22–11,14)	12,30 (10,04–13,02)	13,81 (11,01–14,15)
Ядерно-цитоплазматический индекс	0,28 (0,24–0,30)	0,36 (0,35–0,39)	0,49 (0,42–0,53)

Примечание. 1-я группа — животные, обитающие на территории залегания бурого угля и лишь планируемой его добычи; 2-я группа — животные, обитающие на территории 10-летней рекультивации; 3-я группа — животные, обитающие на территории 20-летней рекультивации.

фические изменения гепатоцитов преобладают над их некрозом, но не совсем понятен механизм развития атрофии гепатоцитов в перипортальной зоне печеночных долек. Уменьшение числа лимфоцитарных и макрофагальных инфильтратов указывает на снижение активности лимфоидной ткани. Эти данные отражают снижение токсической нагрузки на организм животных, обитающих на территориях с ранней рекультивацией. Согласно литературным данным, открытая добыча угля — это процесс, оказывающий целый ряд генотоксических воздействий на живой организм [11]. В результате проведенного нами исследования также установлено отчетливо выраженное гепатотоксическое влияние производственных факторов на организм диких грызунов.

Таким образом, опосредованное влияние бурого угля на печень полевок обыкновенных в естественной среде обитания морфологически характеризуется дистрофией, некрозом гепатоцитов, очаговой лимфоцито-макрофагальной реакцией и склерозом стромы органа. Выраженность данных патоморфологических процессов у полевок, живущих на рекультивированных территориях, сопряжена с давностью агротехнического процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990.
2. Ахметжанова Б. Т., Базелюк Л. Т., Бесков В. Н. Патоморфологические исследования легких, печени и почек у экспериментальных животных при совместном действии угольно-породной пыли и физической нагрузке // Медицина труда и промышленная экология. 2005. № 4. С. 42–45.
3. Ибраева Л. К. Распределение и выведение диоксида кремния из организма при ингаляционном действии кварцевой пыли в эксперименте // Медицина труда и промышленная экология. 2004. № 11. С. 44–48.
4. Леканова С. С. Изменения жидкокристаллической структуры сыворотки крови при экспериментальном силикозе // Медицина труда и промышленная экология. 2001. № 11. С. 16–19.
5. Меркулов Г. А. Курс патогистологической техники. Л.: Медицина, 1969.
6. Песков С. А., Потеряева Е. Л. О прогностическом значении некоторых фенотипических маркеров групп крови, реактивности нейтрофилов и перекисного окисления липидов при пневмокониозе // Медицина труда и промышленная экология. 2002. № 1. С. 12–14.
7. Покровский А. В. Экспериментальная экология полевки. М.: Наука, 1979.
8. Узбеков В. А., Кулкыбаев Г. А. О возможности выведения мелкодисперсных пылевых частиц через желудочно-кишечный тракт // Медицина труда и промышленная экология. 2003. № 10. С. 37–39.
9. Шелыгин К. В., Кирпич В. Е., Леонтьев И. А. Использование лабораторных животных в токсикологическом эксперименте. Архангельск: Издат. центр СГМУ, 2002.
10. Шинкаренко Е. А., Зыкова Л. Д., Савченко А. А. Особенности патоморфологии и патогенеза токсического гепатоза крыс, при воздействии производственных факторов открытой добычи угля // Сибирск. мед. обозр. 2012. Т. 73, № 1. С. 34–37.
11. Leon G., Perez L. E., Linares J. C. et al. Genotoxic effects in wild rodents (*Rattus rattus* and *Mus musculus*) in an open coal mining area // *Mutat. Res.* 2007. Vol. 630, № 1–2. P. 42–49.
12. Pinho R. A., Silveira P. C., Silva L. A. et al. N-acetylcysteine and deferoxamine reduce pulmonary oxidative stress and inflammation in rats after coal dust exposure // *Environ Res.* 2005. Vol. 99, № 3. P. 355–360.
13. Smith K. R., Veranth J. M., Kodavanti U. P. et al. Acute pulmonary and systemic effects of inhaled coal fly ash in rats: comparison to ambient environmental particles // *Toxicol. Sci.* 2006. Vol. 93, № 2. P. 390–399.

Поступила в редакцию 13.12.2013
Получена после доработки 02.02.2015

MORPHOLOGICAL PECULIARITIES OF THE LIVER IN COMMON VOLES INHABITING THE TERRITORY OF BORODINO COAL DEPOSITS AND RECULTIVATION AREAS

Ye. A. Shinkarenko, A. A. Savchenko

The aim of this work was to study the morphological changes of liver in common voles (*Microtus arvalis* Pallas) inhabiting the territories of brown coal deposition in Borodino coal opencast (Krasnoyarsk region) and on reclaimed dumps 10 and 20 years after its production. Trapping of the voles (10 animals in each group) living under natural conditions on each territory, was conducted for 30 days. Histological examination of the liver in all animals demonstrated degenerative changes and necrosis of hepatocytes, expressed to a various degree. Morphometric study has shown that the greatest changes in the structure of hepatic stroma and parenchyma took place in voles that lived in the dumps of coal, reclaimed 10 years before. It was found that in the animals of this group, the thickness of hepatocyte plates was increased 1.3 times, while the specific volume of necrotic hepatocytes was twice as much as this parameter in the animals that lived on intact territory.

Key words: *liver, hepatocytes, morphometry, coal, common vole*

Laboratory of Cellular and Molecular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, RAMS Siberian Branch, Krasnoyarsk