

10. Левин Ю.М. Актовая лекция. 40 лет формирования общеклинической лимфологии и эндэкологической медицины. М., изд. РУДН, 2008.
11. Сайфутдинов М.М. и Омариева Э.Я. Воды Дагестана. Махачкала, Юпитер, 2006.
12. Сапин М.Р. Анатомическая наука в начале XXI века. Астраханск. мед. журнал, 2007, № 2, с. 9.
13. Сапин М.Р. и Никитюк Д.Б. Иммунная система, стресс и иммунодефицит. М., АПП «Джангар», 2000.
14. Тихомиров А.Н. Структура и текучие свойства крови при длительном обезвоживании: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Ярославль, 1996.
15. Шурлыгина А.В., Мичурина С.В., Ковшин И.Г. и Труфакин В.А. Фактор времени в функционировании лимфоидной системы. Вестн. лимфол., 2008, № 2, с. 32–33.
16. Abbas B. Internal structure of the intestinal villus: morphological and morphometric observations at different levels of the mouse villus. J. Anat., 1989, v. 162, p. 263–273.

Поступила в редакцию 10.01.09
Получена после доработки 15.04.10

MORPHOLOGICAL CHANGES IN LYMPHOID NODULES OF SMALL INTESTINE IN DEHYDRATION

S.T. Guseinova

Morphological, cytological, morphometric changes were studied in single lymphoid nodules and in grouped lymphoid nodules (Peyers patches) of small intestine in albino rats after the dehydration lasting 3, 6, and 10 days and correction by administration of sodium chloride isotonic solution. It was found that the dehydration resulted in the decrease of lymphoid nodule dimensions, changes in the cellular proportions, enlargement of reticular fiber loops in the nodule stroma. On days 6 and 10 of dehydration, the percentages of macrophages, lymphocytes, cells showing the mitotic figures, mast cells and plasma cells were significantly decreased by factor of 1.4–4, indicating a depression of immune reactions.

Key word: *small intestine, immune organs, dehydration, white rat*

Department of Human Anatomy, Daghestan State Medical Academy, Makhachkala

© Коллектив авторов, 2010
УДК 611.36:[612.014.426+612.014.44

*С.В. Мичурина¹, Ю.И. Бородин², В.А. Труфакин³, А.Д. Белкин², Г.М. Вакулин²,
П.М. Ларионов² и А.В. Шурлыгина²*

МИКРО- И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕЧЕНИ И АКТИВНОСТЬ ЯДЕРНЫХ ЭНДОНУКЛЕАЗ В ГЕПАТОЦИТАХ ПРИ СОЧЕТАННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ МАГНИТНОГО ПОЛЯ ПРОМЫШЛЕННОЙ ЧАСТОТЫ И КРУГЛОСУТОЧНОГО ОСВЕЩЕНИЯ

¹ Центральная научно-исследовательская лаборатория (руков. — проф. С.В. Мичурина), Новосибирский государственный медицинский университет; ² лаборатория функциональной морфологии лимфатической системы (руков. — проф. В.Н. Горчаков); ³ лаборатория иммуноморфологии (руков. — академик СО РАМН проф. В.А. Труфакин), Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии, г. Новосибирск; e-mail: ad_belkin@mail.ru

На крысах линии Вистар (n=56) исследованы влияние сочетанного воздействия магнитного поля (МП) промышленной частоты и круглосуточного освещения (КО) на микроциркуляцию, ультраструктуру клеток печени и апоптоз. Установлено, что в печени крыс, находившихся в течение 14 сут в условиях КО, МП и КО+МП, происходит уменьшение удельной площади паренхимы, увеличение площади, занимаемой на срезе синусоидными капиллярами, и коэффициента васкуляризации печени. При сочетанных воздействиях выявлены наиболее выраженные изменения в печени на ультраструктурном уровне (лизис плазмолемм гепатоцитов и эндотелиоцитов, дублирующие осмиофильные слои в зоне плотных межклеточных контактов). Появляются гепатоциты с уплотненной цитоплазмой, митохондриями, имеющими электронно-плотный матрикс, дезинтеграцией хроматина ядер, компактизацией ядрышек. В гепатоцитах происходит активация внутриядерных эндонуклеаз.

Ключевые слова: печень, микроциркуляция, апоптоз, магнитное поле, круглосуточное освещение.

В настоящее время человеческая популяция подвергается одновременному воздействию многих антропогенных факторов окружающей среды, среди которых широкое распространение получили магнитное поле промышленной частоты

(МП) [2–4] и круглосуточное освещение (КО) [10]. Установлено, что МП при длительном воздействии оказывает генотоксическое, мутагенное и канцерогенное влияние на организм [3, 4, 16, 17], а КО — приводит к развитию десинхрониза

[5], вызывающего нарушение согласованности работы гомеостатических систем, которое может усугублять патогенность других повреждающих воздействий, включая и МП. Микро- и ультраструктурные особенности печени при отдельных воздействиях МП и КО были изучены ранее [5, 7–9], однако влияние сочетанных воздействий МП и КО на структуру печени до сих пор не исследовано. Известно, что воздействие на организм внешних патогенных факторов приводит к активации апоптоза [12, 13, 15]. Ключевая роль в этом процессе принадлежит ядерным эндонуклеазам, активация которых приводит к расщеплению ядерной ДНК на отдельные фрагменты, однако изучение морфологических проявлений активности эндонуклеаз при сочетанных воздействиях КО и МП не проводилось. Все сказанное выше и определило цель нашего исследования.

Материал и методы. Эксперименты проведены на самцах крыс линии Вистар с исходной массой 180–220 г. Были выделены следующие группы животных: К — контрольная группа (животные находились в условиях естественного освещения); МП — группа животных находилась в условиях естественного освещения и подвергалась в течение 14 сут постоянному воздействию МП промышленной частоты с аperiодическими колебаниями амплитуды магнитной индукции от 5 до 10 мкТл (в околорезонансном частотном диапазоне); КО — группа животных находилась в течение 14 сут в условиях КО; МП+КО — группа животных находилась в течение 14 сут в условиях КО и одновременно подвергалась воздействию МП промышленной частоты. Животных всех групп содержали на стандартном рационе со свободным доступом к пище и воде. По истечении этого срока их декапитировали под легким эфирным наркозом в 10.00 ч (по 14 животных в каждой группе). Взятие образцов органов, изготовление и окраску гистологических препаратов (гематоксилином Майера — эозином) проводили по стандартным методикам. Морфометрический анализ светооптических препаратов осуществляли с помощью окулярной морфометрической сетки, состоящей из 25 тестовых точек [1]. На гистологических препаратах, полученных от каждого животного, исследовали по 100 полей зрения. В печени определяли долю площади, занимаемой паренхимой, кровеносными синусоидными капиллярами, и вычисляли коэффициент васкуляризации печени (отношение площади среза, занимаемой синусоидными капиллярами к площади, занимаемой паренхимой). Образцы органов для электронно-микроскопических исследований фиксировали в 4 % параформальдегиде на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4) с последующей дофиксацией в 1 % осмиевом фиксаторе на том же буфере, обезжировали и заключали в эпон-812. Ультратонкие срезы изготавливали на ультратоме LKB-8800 (Швеция), контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата и раствором цитрата свинца по Рейнольдсу и изучали в электронных микроскопах JEM 7A и JEM-100S/SEG (JEOL, Япония). Исследование активности ядерных эндонуклеаз гепатоцитов проводили на криостатных срезах печени толщиной 8 мкм, окрашенных 0,005% раствором этидиума бромид. Использовали микроскоп Axioscop FL-40 (Zeiss, ФРГ), программное обеспечение AxioVision 3.1 (лицензионный номер 2100750). Статистическую обра-

ботку проводили с использованием пакета статистических программ «Statistica 6». Значимость различий оценивали по критерию Стьюдента при 95% уровне значимости. Эксперименты выполнены с соблюдением международных принципов Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным.

Результаты исследования. В печени животных, находившихся в условиях одновременного воздействия МП и КО, происходит расширение внутريدольковых кровеносных синусоидных капилляров. В трабекулах присутствуют некротически измененные гепатоциты, что приводит в некоторых участках к нарушению пластинчатого строения печени. В паренхиме печени выявляются клетки, имеющие нечеткие границы, темную, коагулированную цитоплазму, гиперхромные, неправильной формы ядра с признаками кариопикноза, кариолизиса и кариорексиса, что характерно для апоптоза. Ядра остальных клеток крупные, эухромные, с хорошо выраженным ядрышком. В части печеночных долек центральные вены расширены и полнокровны. Междольковые артерии, вены и желчные протоки расширены. Соединительная ткань вокруг сосудов триад пропитана большим количеством тканевой жидкости. Отмечается инфильтрация лимфоцитами расширенных тканевых пространств с образованием в ряде случаев периваскулярных инфильтратов (рис. 1).

Морфометрический анализ препаратов показал, что при сочетанных воздействиях в печени животных максимально увеличивается площадь, занимаемая синусоидными капиллярами (на 70 % по сравнению с контролем), уменьшается удельная площадь паренхимы печени, возрастает коэффициент васкуляризации печени (таблица). При отдельных и сочетанных воздействиях МП и КО в клетках печени также выявлена активация ядерных эндонуклеаз (см. таблицу).

На электронно-микроскопическом уровне выявлено округление и набухание части эндотелиоцитов с появлением литических дефектов в плазмолеммах (рис. 2, а). Часть клеток эндотелиальной выстилки синусоидов разрушена, что приводит к нарушению гематолимфатического барьера. В синусоидных капиллярах определяется клеточный детрит, а в периваскулярных пространствах — мелкодисперсный, хлопьевидный материал (см. рис. 2, а). В части гепатоцитов выявлен лизис плазмолеммы, приводящий к их гибели и выходу органелл цитоплазмы в расширенные синусоиды. Иногда встречаются гепатоциты с уплотненной цитоплазмой (см. рис. 2, в). В ядрах части гепатоцитов происходит дезинтеграция хроматина с осmioфильными включениями, ком-

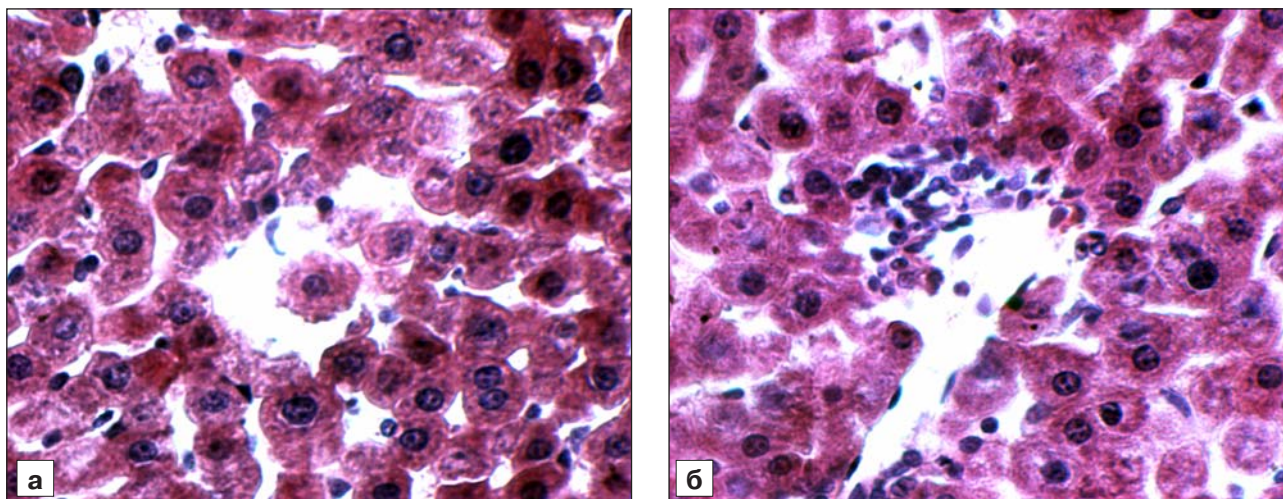


Рис. 1. Печень крысы при сочетанном воздействии магнитного поля промышленной частоты и круглосуточного освещения.

а — нарушение пластинчатого строения печеночных долек; б — периваскулярный инфильтрат. Окраска гематоксилином Майера—эозином. Об. 40, ок. 10.

пактизация ядрышек (см. рис. 2, б). В некоторых гепатоцитах каналы гранулярной эндоплазматической сети нередко баллонообразно расширены и обеднены рибосомами (см. рис. 2, а). В цитоплазме многих гепатоцитов определяются скопления липидных капель, изменение ультраструктуры каналов гранулярной эндоплазматической сети и отсутствие гликогена, что свидетельствует о нарушении липидного, белкового и углеводного обменов. Обнаруживаются митохондрии с уплотненным матриксом, разрушенными кристами, что свидетельствует о недостаточности энергообеспечения клеток.

Выявлены нарушения ультраструктуры плотных контактов и десмосом в зонах желчных капилляров (см. рис. 2, б). Происходит округление желчных капилляров с утратой части микроворсинок, появлением их аномальных форм (см. рис. 2, б) и скоплением в их просветах хлопьевидного материала. Также определяются скопления электронно-плотного материала и тонкофибриллярных структур (в виде дублирующих осмио-

фильных слоев), расположенных параллельно с плазмолеммами смежных гепатоцитов, что свидетельствует об усилении межклеточных контактов в ответ на данные воздействия.

Обсуждение полученных данных. В результате проведенного исследования установлено, что структурная организация тканевых компартментов печени при воздействии МП и КО имеет черты общей стереотипии, однако подвержена модуляциям в связи с характером действующих факторов. Выраженность патологических и адаптационных изменений в печени нарастает в следующем порядке: КО → МП → МП+КО. В печени животных при сочетанных воздействиях нарушается крово- и лимфообращение (включая тканевые щели в интерстиции, лимфатические капилляры и сосуды). Известно, что застойные явления в крово- и лимфоциркуляторных структурах печени приводят к нарушениям гематолимфатического барьера и развитию гипоксии тканей [6, 11], изменению структурных и цитохимиче-

Характеристика печени крыс при сочетанном и раздельном воздействии магнитного поля (МП) промышленной частоты и круглосуточного освещения (КО) ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Показатель	Контроль	Экспериментальные группы		
		МП	КО	МП+КО
Удельная площадь, %:				
паренхимы	82,7±0,7	80,7±0,7	78,0±0,8*	76,5±0,7*
синусоидных капилляров	14,2±0,6	15,4±0,6	18,1±0,7*	20,0±0,6*
Коэффициент васкуляризации печени	0,179±0,009	0,198±0,009	0,243±0,012*	0,271±0,011*
Интенсивность свечения в ядрах гепатоцитов флюоресцентной метки — бромида этидия (яркость градации серого)	142,3±1,9	156±6*	153,9±2,0*	151,4±2,4*

* Различия значимы по сравнению с контролем при $P < 0,05$.

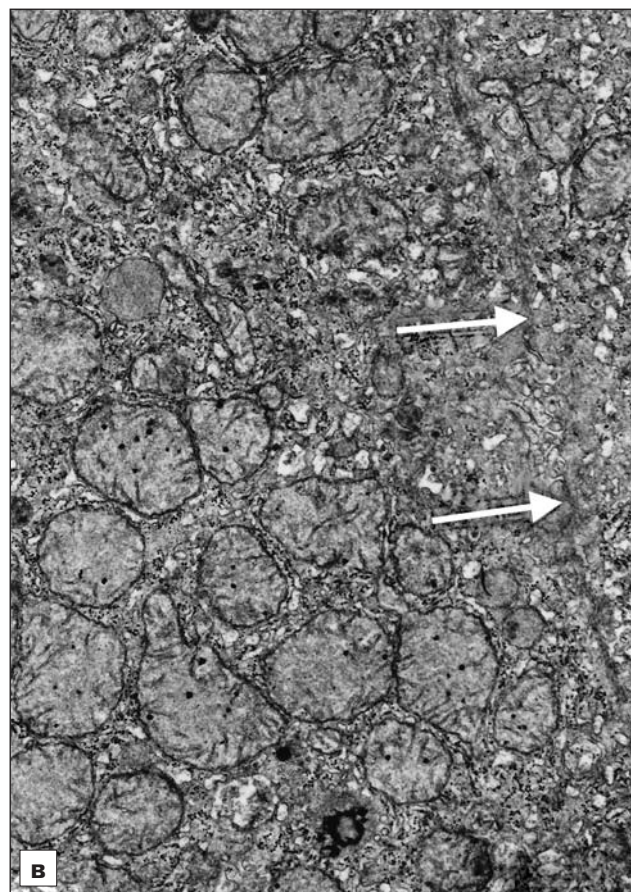
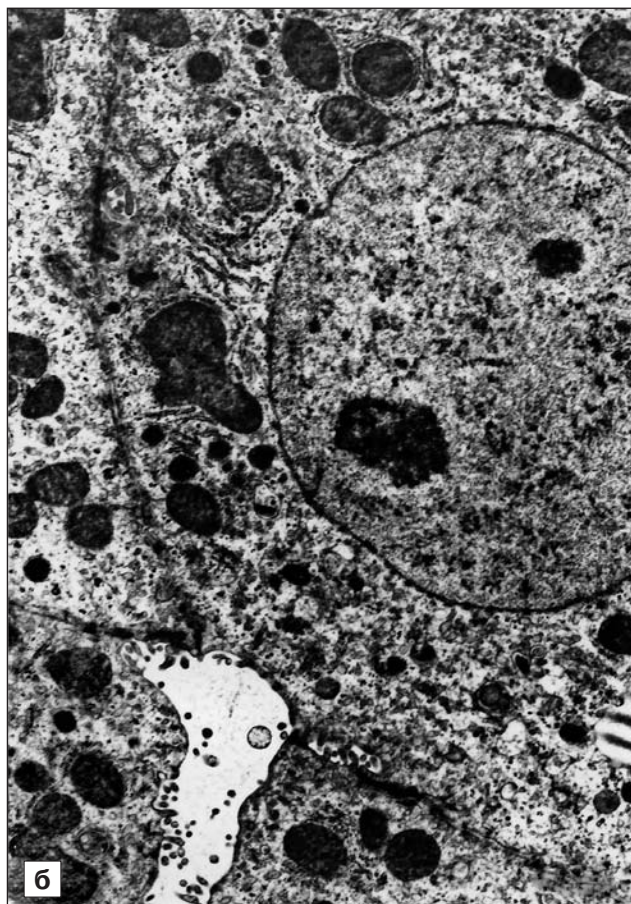
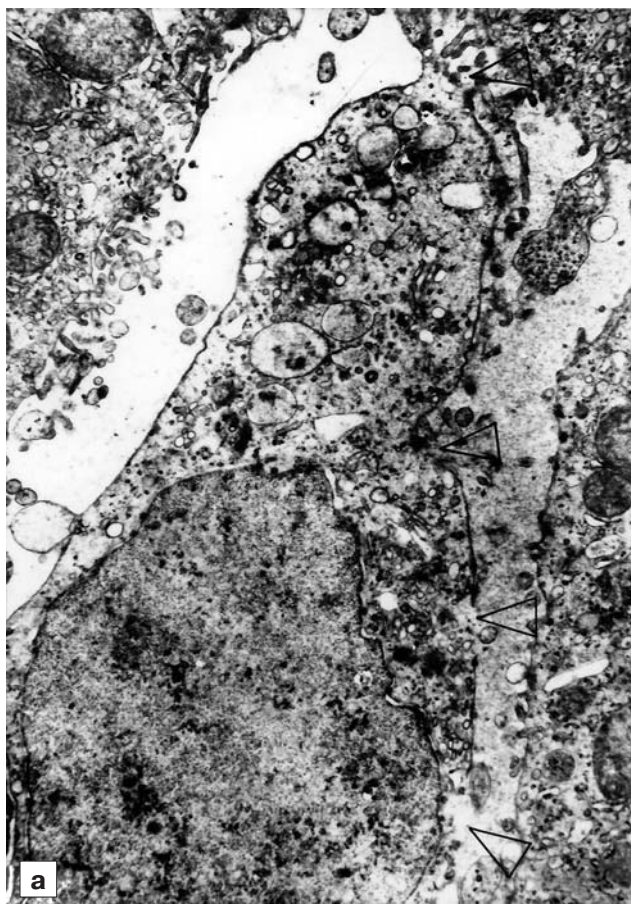


Рис. 2. Нарушения ультраструктуры клеток печени крысы после 14 сут ежедневного сочетанного воздействия магнитного поля промышленной частоты и круглосуточного освещения.

а — эндотелиоцит синусоидного капилляра с цитолитическими дефектами плазмолеммы (головки стрелок) и нарушением структуры органелл цитоплазмы и ядра; б — фрагменты гепатоцитов с обеднением компонентов белок-синтезирующего аппарата, признаками застоя желчи и дезинтегративных изменений ядра и ядрышек — признаков подавления синтеза р РНК и белка; в — фрагменты гепатоцитов с ранними признаками апоптоза — компактизацией органелл цитоплазмы, утратой четкости плазмолеммы и осмиофилии плотных и десмосомальных межклеточных контактов (стрелки). Ув.: а — 10 000; б — 9000; в — 15 400.

ских характеристик клеток печени, к их повреждению и усилению апоптоза [12]. Выявленное при сочетанных воздействиях МП и КО повышение в печени экспериментальных животных активности ядерных эндонуклеаз свидетельствует о повреждении ДНК и активации в гепатоцитах апоптоза. Известно, что при прохождении апоптотического сигнала активируются гены семейства *bcl-2*, которые занимают центральное место в процессе регуляции соотношения активаторов и ингибиторов апоптоза [13–15]. Ранее нами было показано [5, 7], что техногенные экологические факторы индуцируют образование белка *bcl-2* в

клетках печени, что свидетельствует, во-первых, о поступлении в эти клетки проапоптотических сигналов и, во-вторых, об «аварийном» включении в этих клетках bcl-2-зависимой антиапоптотической защиты.

Таким образом, сочетанные воздействия КО и МП промышленной частоты приводят к более выраженным микро-, ультраструктурным и молекулярно-клеточным изменениям в печени, чем при действии отдельных факторов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. М., Медицина, 1990.
2. Белкин А.Д. и Кузнецов С.М. Некоторые особенности формирования геотехнопатогенных зон с электромагнитной компонентой и их влияние на человека. В кн.: Сборник трудов постоянно действующего научно-практического семинара «Экология и гигиена помещений Московского региона». М., изд. МГУИЭ, 2007, вып. 3, с. 138–142.
3. Гичев Ю.П. и Гичев Ю.Ю. Влияние электромагнитных полей на здоровье человека: Аналитич. обзор. Новосибирск, изд. ГПНТБ СО РАН, 1999, вып. 52.
4. Григорьев Ю.Г., Григорьев О.А., Меркулов А.В. и Степанов В.С. Электромагнитная безопасность человека. М., изд. Российск. национального комитета по защите от неионизирующего излучения, 1999.
5. Ефремов А.В., Мичурина С.В., Бугримова Ю.С. и др. Суточная динамика морфометрических показателей тканевого микро-района печени и брыжеечных лимфатических узлов у мышей, находившихся при естественном и измененном световом режиме. В кн.: Морфология и хирургия. Новосибирск, Сибмедииздат, 2003, с. 16–19.
6. Лукьянова Л.Д. Биозенергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции. Бюл. eksper. биол., 1997, т. 124, № 9, с. 244–254.
7. Мичурина С.В., Белкин А.Д., Бугримова Ю.С. и др. Влияние магнитного поля промышленной частоты на некоторые параметры гепатолиенальной и лимфатической системы лабораторных животных. Труды НИИКиЭЛ СО РАМН «Проблемы экспериментальной, клинической и профилактической лимфологии». 2002, т. 9, с. 269.
8. Мичурина С.В., Ефремов А.В., Шурлыгина А.В. и др. Морфофункциональные изменения печени и ее регионарных лимфатических узлов под воздействием магнитного поля промышленной частоты. Морфология, 2005, т. 128, вып. 4, с. 69–72.
9. Мичурина С.В., Шурлыгина А.В., Белкин А.Д. и др. Изменения печени и некоторых параметров иммунной системы животных в условиях круглосуточного освещения. Морфология, 2005, т. 128, вып. 4, с. 65–69.
10. Рошупкин Д.И. и Потапенко А.Я. Биологическое действие ультрафиолетового и видимого излучения. В кн.: Внешняя среда и развивающийся организм. М., Наука, 1977, с. 53–90.
11. Сташков А.М. и Горохов И.Е. Гипоксическое и антиоксидантное биологическое действие многодневного применения слабого переменного магнитного поля сверхнизкой частоты. Биофизика, 1998, № 5, с. 807–810.
12. Ярилин А.А. Апоптоз: природа феномена и его роль в норме и при патологии. В кн.: Актуальные проблемы патофизиологии. М., Медицина, 2001, с. 13–56.
13. Adams J.M. and Cory S. The Bcl-2 protein family: Arbiters of cell survival. Science., 1998, v. 281, p. 1322–1326.
14. Kluck R.M., Bossy-Wetzel E. and Green D.R. The release of cytochrome C from mitochondria: A primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis. Science., 1997, v. 275, p. 1132–1136.
15. Kockx M.M. and Knaapen M.W. The role of apoptosis in vascular disease. J. Pathol., 2000, v. 190, p. 267–280.
16. McCann J., Dietrich F. and Rafferty C. The genotoxic potential of electric and magnetic fields: an update. Mutat. Res., 1998, v. 411, № 1, p. 45–86.
17. Miyakoshi J., Kitagawa K. and Takebe H. Mutation induction by high-density, 50-Hz magnetic fields in human MeWo cells exposed in the DNA synthesis phase, Int. J. Radiat. Biol., 1997, v. 71, p. 75–79.

Поступила в редакцию 19.01.10
Получена после доработки 15.04.10

MICRO- AND ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF LIVER AND NUCLEAR ENDONUCLEASE ACTIVITY IN HEPATOCYTES AFTER THE COMBINED EXPOSURE TO INDUSTRIAL FREQUENCY MAGNETIC FIELD AND CONTINUOUS ILLUMINATION

S.V. Michurina, Yu.I. Borodin, V.A. Trufakin, A.D. Belkin, G.M. Vakulin, P.M. Larionov and A.V. Shurlygina

The effects of combined action of the industrial frequency magnetic field (MF) and continuous illumination (CI) on microcirculation, ultrastructural features of liver cells and apoptosis were studied in Wistar rats (n=56). It was found that in the liver of rats exposed to MF, CI and CI+MF for 14 days, parenchyma relative area was reduced, and that occupied by the sinusoidal capillaries was increased together with the liver vascularization coefficient. Combined exposure resulted in most pronounced ultrastructural changes (plasma membrane lysis in hepatocytes and endothelial cells, doubling of osmiophilic layers in tight intercellular junctions). Hepatocytes revealed condensed cytoplasm, mitochondria with electron-dense matrix, nuclear chromatin disintegration and nucleolar compaction. Hepatocyte intranuclear endonucleases were activated.

Key words: liver, microcirculation, apoptosis, magnetic field, continuous illumination

Central Scientific Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University; Laboratory of the Functional Morphology of the Lymphatic System, Laboratory of Immunomorphology, SB RAMS Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk.