

«ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕРЕФЕРИЧЕСКИХ КЛЕТОК КРОВИ ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ ГЕРБИЦИДАМИ»

Каххаров Наврузбек Зиёкулович

Ташкентская Медицинская Академия Термезский филиал

Нуритов Нурпулло Ражапович

Ташкентская Медицинская Академия Термезский филиал

Абстрактный: Развитие промышленной и бытовой химии, интенсивное применение различных химических веществ в сельском хозяйстве создало новую проблему перед медиками и специалистами по охране окружающей среды. Расширению масштабов применения ядохимикатов привело к загрязнению окружающей среды и увеличению числа лиц, контактирующих с этими препаратами. Это способствовало развитию различных острых и хронических поражений, проявлению мутагенных, аллергенных и других нежелательных патологических эффектов. Одной из наиболее чувствительных к токсическому воздействию тканей является кроветворная ткань, которая содержит пул быстро пролиферирующих клеток. В ней отчетливо проявляются отрицательные действия ядохимикатов, что определяют ценность ее исследования при выяснении механизмов действия того или иного ядохимиката. Работы посвященные исследованию патоморфологические состояния клеток системы крови при отравлении пестицидами и не позволяют раскрыть закономерности сдвигов в системе крови.

Ключевые слова: Патогенетических методов, клеток системы, гербицид, биокomплекс, ультраструктура.

Разработка рациональных способов профилактики и патогенетических методов коррекции токсического действия ядохимикатов является одной из актуальных задач современной медицины. К сожалению, до настоящего времени имеются лишь единичные сообщения о применении препаратов, обладающих антидотным и лечебным эффектом при отравлении отдельными ядохимикатами.

В том плане наиболее перспективными являются биокomплексы различных микроэлементов с органическими соединениями, обладающие высокими протекторным терапевтическим эффектом при отравлении ядохимикатами и ионизирующем облучении.

Однако, влияние этих биокomплексов на организм, в частности, на систему крови при остром и хроническом отравлении фосфорорганическими ядохимикатами остаются до конца не выясненными.

Изложенное свидетельствует об актуальности и своевременности исследования морфофункциональных особенностей реакции клеток при остром и хроническом отравлении гербицидом и ее коррекции биокомплексами.

Цель и задачи исследования:

Целью настоящей работы явилось выяснение структурных основ реакции клеток системы крови при остром и хроническом отравлении гербицидом и изыскание споров их коррекции металлосодержащими биокомплексами. Исходя из цели были поставлены следующие задачи:

- изучить морфофункциональное состояние различных (кобальти медьсодержащих) биокомплексов на морфофункциональное состояние клеток системы крови при остром и хроническом отравлении гербицидами.

Научная новизна работы:

В работе впервые с помощью комплексных общеморфологических, гематологических, цитохимических, радиоавтографических, и электронномикроскопических методов исследованы патоморфологические основы реакции клеток крови и кроветворения на острое и хроническое отравление гербицидом. Установлены общие и специфические закономерности патоморфологических изменений в системе крови в динамике острой и хронической интоксикации гербицидами. Выявлено, что наиболее характерными изменениями в системе крови при отравлениях гербицидом являются анемия, лейкоцитоз со сдвигом влево и тромбоцитопения клеточных и субклеточных механизмов, которые составляют угнетение пролиферации и дифференциации гемопоетических клеток в костном мозге, усиление деструктивных изменений их субклеточных органелл, и как следствие того, дезорганизация метаболических процессов в циркулирующих клетках крови. Впервые апробированы металлосодержащие биокомплексы, оказывающие выраженный протективный и терапевтический эффект при острых и хронических отравлениях гербицидом, установлен и рекомендован к применению в практике соответствующий биокомплекс.

Научно-практическая ценность исследования:

Полученные данные о сдвигах показателей крови и цитохимических изменений в нейтрофильных лейкоцитах являются дополнительными дифференциально – диагностическими тестами при обследовании лиц, работающих с гербицидом. Данные о клеточных и суб-клеточных основах реакции клеток системы крови при отравлении гербицидом могут быть использованы в учебном процессе в медицинских институтах для более углубленного разъяснения реакций организма при различных токсических воздействиях. Установленные в работе факты о выраженном антидотном и терапевтическом эффекте биокомплексов позволяют рекомендовать эти препараты к широкому применению в условиях работы с гербицидами.

Основные научные положения, выносимые:

- I. структурно – функциональные основные реакции клеток системы крови при острых и хронических отравлениях гербицидами имеют общие закономерности и характеризуются подавлением процессов пролиферации и дифференциации клеток гемопоэза.
- II. Биокомплексы обладают выраженным протективным и терапевтическим эффектом как при остром, так и при хронических отравлениях гербицидами.

Наша работа является экспериментальной и выполнена на лабораторных крысах. Однако данных о клетках системы крови лабораторных крыс в литературе относительно немного,

причем, в подавляющем большинстве исследований рассматривается лишь количественное содержание тех или иных клеточных форм гемопоэза.

Основные показатели периферической крови и костного мозга крыс приведены в работах. Они в основном близки друг другу. Так, общее содержание эритробластических клеток костного мозга находится в пределах 17,65% - 23,6%, митоз эритроидных клеток – 0,29 - 0,75. Процентное содержание палочкоядерных нейтрофилов в костном мозге сравнительно высокое. В лейкоцитарной формуле периферической крови крыс преобладают лимфоциты, достигающие иногда более 70% всех лейкоцитов. Среди гранулоцитов встречаются, в основном сегментоядерные нейтрофилы.

Таким образом, крысы характеризуются более высоким содержанием палочкоядерных нейтрофилов в костном мозге и преобладанием лимфоцитов в лейкоцитарной формуле.

В настоящее время общепринята унитарная схема кроветворения, отражающая последовательных стадий гистогенеза клеток крови. Установлено, что все клетки крови происходят из единой родоначальной стволовой кроветворной клетки, о которой в свое время писал известный гистолог.

Но, вдаваясь в подробности дискуссии о морфологии стволовых кроветворных клеток, мы сочли целесообразным привести основные данные по морфологии идентифицируемых клеток системы крови.

Ультраструктура морфологически идентифицируемых клеток системы крови человека и мелких животных к настоящему времени довольно подробно исследована. Тем не менее, эти исследования выполнены в основном у людей, мышей и кроликов, тогда как исследованию ультраструктурных особенностей клеток гемопоэза крыс посвящено лишь небольшое число работ.

Процесс созревания клеток эритроидного ростка характеризуется определенными ультраструктурными изменениями как со стороны ядра, так и цитоплазмы клеток. Ядро уменьшается в размерах, принимая более округлую форму, одновременно происходит уплотнение хроматина и исчезает ядрышко. Размеры и число митохондрий уменьшается и повышается электронная плотность матрикса митохондрий за счет накопления зернистого содержимого. Содержание свободных рибосом и полисом постепенно снижается, одновременно увеличивается количество аморфного материала. Электронная плотность цитоплазмы повышается за счет накопления гемоглобина. Установлено, что исчезновение ядра из нормобластов происходит путем его выталкивания. Зрелые эритроциты обладают высокой электронной плотностью и окружены мембраной толщиной около 20 нм, клеточные органеллы отсутствуют.

В процессе созревания нейтрофилов морфологически выделены два этапа, характеризующиеся формированием двух различных в структурном и химическом отношении популяций гранул. Первый этап гранулогенеза осуществляется на стадии про-миелоцита, когда формируются первичные или азурофильные гранулы,

Многочисленные электронномикроскопические исследования показали, что изменения, происходящие в процессе дифференцировки эозинофильных лейкоцитов человека и других мелких животных, во многом аналогичны таковым у нейтрофильных лейкоцитов. Формирование

специфических эозинофильных гранул осуществляется в компонентах комплекса Гольджи. Характерной особенностью эозинофильных гранул мелкопитающих является наличие в их матриксе электронноплотного кристаллоида.

Электронноцитохимически и биохимически выявлены в эозинофильных гранулах кислая фосфатаза, арилсульфатаза, пексидаса, эстераза, основные белки и фосфолипиды.

Ультраструктура базофильных лейкоцитов исследована менее подробно. По характеристике ядра и цитоплазмы за исключением гранул, базофильные лейкоциты практически не отличаются от нейтрофильных и эозинофильных. Специфические базофильные гранулы варьируют в размерах и структур. Они преимущественно округлой или овальной формы, размерами 0,2 - 162 мкм, окружены мембраной. Функциональная роль базофильных гранулоцитов полностью еще не выяснена. Предполагают, что они участвуют в аллергических реакциях организма и в обмене гистамина. Исследованию ультраструктуры клеток моноцитопоза посвящен ряд работ. В настоящее время эти клетки рассматриваются как предшественницы тканевых макрофагов и объединены в систему иононуклеарных фагоцитов. Для них характерно наличие гранул, обладающих активностью миелопероксидазы и лизосомных ферментов.

В связи с достижением иммунологии в настоящее время возникла потребность в исследованиях, которые одновременно дали бы возможность судить о принадлежности лимфоцитов к 1- или 2-системам иммунитета и оценить их структурные особенности. Широкая перспектива решения этой проблемы открывается в связи с внедрением методов иммунной электронной микроскопии, сочетающей достижения морфологии и иммунохимии. Исследования же функционально гетерогенных лимфоцитов крыс с помощью иммунной электронной микроскопии пока еще единичны и недостаточны для разработки морфологических критериев различных популяций клеток.

Таким образом, анализ литературных данных позволяет заключить, что к настоящему времени накоплена достаточно обширная информация о структурно-функциональных особенностях клеток системы крови млекопитающих. Вместе с тем, она отражает состояние структуры и функции клеток в физиологических условиях и при различных заболеваниях системы крови. Патоморфологические основы адаптивных перестроек клеток крови и кроветворной ткани при остром и хроническом отравлении пестицидами, в частности, гербицидами, практически остаются не выясненными. Между тем, раскрытие структурных и функциональных закономерностей влияния гербицидов на клетки системы крови позволяет углубленно рассмотреть механизм наблюдаемых в организме сдвигов и способствует выбору наиболее оптимальных методов их коррекции. В плане фармакологической коррекции реакции клеток и тканей на действие гербицидов наиболее перспективными являются препараты.

Изложенные в целом обуславливают необходимость проведения дальнейших исследований, где предусмотрено выяснение структурно-функциональных особенностей реакций клеток системы крови на действие широко распространенного пестицида и возможностей фармакологической коррекции этих реакций с помощью металлосодержащих биологических комплексов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводились у 124 белых беспородных крысах – самцах с массой тела 140-150 гр. Животные содержались в стандартных условиях виварий. Перед постановкой опытов животные осаживались на две недели в карантине для исключения различных заболеваний.

Все животные были подразделены на две основные группы.

Первая группа животных (84 крысы) распределена на 4 подгруппы и использовалась для исследования состояния реакции системы крови при остром отравлении гербицидами и в процессе её коррекции биоконplexами. Трём подгруппам этой группы однократно внутрижелудочно вводили гербицид в дозе 150 мг/кг. Четвертая подгруппа, получавшая равный объём стерильного физиологического раствора, служила контролем. Животные I подгруппы забивались под эфирным наркозом на 1,3 и 7 суток после отравления гербицидом. Животные II подгруппы, начиная с первых суток после отравления получали биоконplex № I один раз в день подкожно в дозе 10 мг/кг в течение 7 суток. Животные III подгруппы аналогичным образом подкожно вводили биоконplex № 6 в течение 7 суток по 10 мг/кг. Обе (I и II) подгруппы животных забивались на 7 суток опытов одновременно с контрольными подгруппами крыс с соблюдением всех условий.

Вторая основная группа животных (120 крыс) также была разделена на 4 подгруппы и использована для изучения реакции клеток системы крови при отравлении гербицидами с последующей коррекцией биоконplexами. Трём первым подгруппам животных ежедневно внутрижелудочно вводили гербициды в дозе 2,8 мг/кг (1/100 ЛД₅₀) а четвертая контрольная подгруппа получала равный объём стерильного физиологического раствора. Все заборы проводились утром, натощак, под эфирным наркозом. Кроме указанных двух групп, в работе были использованы интактные крысы с такой же массой тела в количестве 20 штук.

У всех животных во время забоя брали кровь для определения числа эритроцитов, лейкоцитов, содержания гемоглобина и активности холинэстеразы сыворотки крови по общепринятой методике. Мазки крови, окрашенные по Романовскому-Гимза, использовались для подсчета лейкоцитарной формулы и числа тромбоцитов. Выявление активности кислой, щелочной фосфатазы, миелопероксидазы и содержание гликогена проводили по методам, описанным в руководствах по цитохимии клеток крови. Результаты цитохимической реакции оценивали методом по пятибальной системе.

РЕЗУЛЬТАТ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В нашей работе основной задачей было выявление реакции клеток системы крови на острое и хроническое воздействие гербицидов. Известно, что гербициды относятся к группе фосфорорганических веществ и прежде всего оказывает неблагоприятное действие на нервную и репродуктивную систему. Результаты наших исследований показали, что как острое, так и хроническое отравление гербицидами сопровождается выраженными структурно-функциональными сдвигами в системе крови, которые характеризуются определенной динамикой. При остром отравлении гербицидами, уже начиная с 1 суток опытов в периферической крови имеет место гипохромная анемия тяжелой степени, что сочетается абсолютным лейкоцитозом и тромбоцитопенией.

Изменения в периферической крови при остром отравлении гербицидами сопровождаются выраженными сдвигами миелограмм. В красном костном мозге наблюдается нарушение

процессов пролиферации и дифференциации клеток эритроидного и миелоидного ростков. Существенно повышается число плазматических клеток и костномозговых макрофагов. Количественные изменения периферической крови и костного мозга сочетаются качественными сдвигами. Они проявляются в виде угнетения активности миелопероксидазы, щелочной фосфатазы и снижения содержания гликогена в нейтрофильных лейкоцитах, тогда как активность кислой фосфатазы повышается. В настоящее время установлено, что фосфорорганические соединения, в частности гербицид, обладают способностью ингибировать окислительно-восстановительные ферменты. Особенно активно фозалон ингибирует активность холинэстеразы крови и других тканей. Наши данные показывают, что ингибирующий эффект фозалона не ограничивается лишь блокированием холинэстеразы, хотя на 7 сутки активность данного фермента в сыворотке крови снижается более чем в 2 раза. При остром отравлении фозалоном достоверно снижается активность внутриклеточных ферментов лейкоцитов, в частности, миелопероксидазы и щелочной фосфатазы.

Наши данные показали, что острое отравление гербицидами сопровождается прогрессирующим лейкоцитозом со сдвигом лейкоцитарной формулы влево, эозинофилией, лимфоцитозом и моноцитозом. Лейкоцитоз находит свое объяснение при анализе миелограммы костного мозга. Установлено, что в костном мозге значительно снижается число юных, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, тогда как относительное содержание нейтрофильных промиелоцитов миелоцитов повышается. Это свидетельствует о том, что в костном мозге, наряду с нарушением процессов дифференцировки нейтрофилов, имеет место интенсивный выброс костномозгового резерва гранулоцитов в периферическую кровь. Усиленный выход юных и зрелых нейтрофилов из костного мозга в кровь обуславливает лейкоцитоз при остром отравлении гербицидами.

Одним из наиболее выраженных изменений периферической крови при остром отравлении гербицидами является анемия тяжелой степени, носящая гипохромный характер. Механизм развития анемии при этом сложен и не до конца выяснен. Проведенные нами цитохимические, радиоавтографические и электронно-микроскопические исследования позволили выяснить отдельные звенья патогенеза гипохромной анемии при остром отравлении фозалоном. Исследование количества ШИК – положительных эритроидных клеток отражает степень неэффективного эритропоеза и внутрикостномозговой деструкции эритроидных клеток. Следовательно острое воздействие гербицидов сопровождается повышением степени неэффективного эритропоеза и усиленной внутрикостномозговой деструкции эритроидных клеток. Усиление деструкции эритроидных клеток подтверждено и нашими электронно-микроскопическими исследованиями, где обнаружено множество пронормоцитов, нормоцитов с лизисом ядра и цитоплазмы. Одновременно установлено повышение числа и функциональной активности костномозговых макрофагов, которые интенсивно фагоцитируют эритроидные клетки. Все это в целом указывает на то, что нарушения процесса эритропоеза и усиленная гибель эритроидных клеток в самом костном мозге являются одним из механизмов развития анемии при остром отравлении гербицидами. Однако в развитии анемии участвуют не только указанные механизмы. Наши радиоавтографические данные показали, что острое воздействие гербицидов сопровождается выраженным снижением пролиферативной активности клеток эритроидного ростка и, прежде всего, эритробластов и пронормоцитов.

Таким образом, гипохромная анемия, развивающаяся при остром отравлении гербицидами обуславливается как усилением степени деструкции эритроидных клеток, так и угнетением пролиферативной активности последних.

Нами установлено, что острое отравление гербицидами сопровождается тромбоцитопенией, которая наиболее выражена на 1-3-е сутки опытов. В этот период количество мегакариоцитов костного мозга значительно снижалось. Электронно-микроскопически в цитоплазме мегакариоцитов выявлены лизис гранул, появление крупных вакуолей и редукция демаркационных мембран. Это указывало на нарушение процессов тромбоцитобразования из мегакариоцитов, и повидимому, является одной из причин тромбоцитопении в периферической крови.

Таким образом, проведенными исследованиями установлены отдельные клеточные и субклеточные механизмы изменений в системе крови при остром отравлении гербицидами, которые заключаются в нарушении процессов пролиферации и дифференциации клеток, усилении деструктивных изменений их органелл.

ВЫВОДЫ

1. При острых воздействиях фозалоном в дозе $1/20$ ЛД₅₀ на фоне признаков интоксикации развивается гипохромная анемия тяжелой степени лейкоцитоз со сдвигом влево и тромбоцитопения. Это сопровождается угнетением активности миелопероксидазы и щелочной фосфатазы в нейтрофильных лейкоцитах, деструктивными изменениями субклеточных органелл и нарушением процесса гранулогенеза в созревающих гранулоцитах.
2. Усиление степени неэффективного эритропоэза и внутрикостномозговой деструкции эритроидных клеток, снижение их пролиферативной активности являются отдельными звеньями в патогенезе анемии при острых и хронических интоксикациях гербицидами.
3. В патогенезе тромбоцитопении при острых и хронических отравлениях фозалоном существенная роль принадлежит деструктивным изменениям органелл мегакариоцитов, редукции их демаркационных мембран и замедлению процессов отшнуровки тромбоцитов.
4. Впервые проведено сравнительное исследование мембрано – стабилизирующих и терапевтических свойств новых биоконплексов микроэлементов с витамином У и аминокислотами. Установлено, что биоконплексы кобальта и меди обладают довольно высокой мембрано – стабилизирующей и гемостимулирующей активностью как при острых, так и при хронических интоксикациях гербицидами.
5. По результатам цитохимических, радиоавтографических и электронно – микроскопических исследований обнаружено, что наиболее безвредным и высокоэффективным является биоконплекс Со (II) через мембраностабилизирующий эффект способствует восстановлению поврежденных субклеточных органелл и оказывает стимулирующее влияние на пролиферативную активность клеток системы крови.

ВЫВОДЫ :

1. При острых воздействиях фозалоном в дозе $1/20$ ЛД₅₀ на фоне признаков интоксикации развивается гипохромная анемия тяжелой степени лейкоцитоз со сдвигом

влево и тромбоцитопения. Это сопровождается угнетением активности миелопероксидазы и щелочной фосфатазы в нейтрофильных лейкоцитах, деструктивными изменениями субклеточных органелл и нарушением процесса гранулогенеза в созревающих гранулоцитах.

2. Хроническое воздействие фозалоном в дозе 1/100 ЛД₅₀ сопровождается прогрессирующей анемией, тромбоцитопенией, лейкоцитозом, которые достигают своего максимума на 120-е сутки опытов. Цитохимические изменения нейтрофильных лейкоцитов при этом носят одноклассный с острой интоксикацией характер, различаясь по степени выраженности и временным параметрам.

3. Усиление степени неэффективного эритропоэза и внутрикостномозговой деструкции эритроидных клеток, снижение их пролиферативной активности являются отдельными звеньями в патогенезе анемии при острых и хронических интоксикациях фозалоном.

4. В патогенезе тромбоцитопении при острых и хронических отравлениях фозалоном существенная роль принадлежит деструктивным изменениям органелл мегакариоцитов, редукции их демаркационных мембран и замедлению процессов отшнуровки тромбоцитов.

5. Впервые проведено сравнительное исследование мембрано – стабилизирующих и терапевтических свойств новых биоконплексов микроэлементов с витамином У и аминокислотами. Установлено, что биоконплексы кобальта и меди обладают довольно высокой мембрано – стабилизирующей и гемостимулирующей активностью как при острых, так и при хронических интоксикациях фозалоном.

6. По результатам цитохимических, радиоавтографических и электронно – микроскопических исследований обнаружено, что наиболее безвредным и высокоэффективным является биоконплекс Со (II) через мембраностабилизирующий эффект способствует восстановлению поврежденных субклеточных органелл и оказывает стимулирующее влияние на пролиферативную активность клеток системы крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абакелия Ц.И., Ларионова Н.Р., Шукия Т.Ш., Цомая И.С. Морфо-цитохимическая характеристика клеток костного мозга здоровых лабораторных крыс. - В кн.: Вопросы клинической и экспериментальной рентгенодиагностики. Тбилиси, 1975, с. 141-145.
2. Акбаров А.Б., Турсунов Э.А., Нуринов Н.Р. и др. Аква метилметионинатсульфоний, двузамещенный глутаминат меди-(II), проявляющий свойства антидота при отравлении фозалоном. А.С. № 1612544 СССР, ДСП, МКИ С 07 I 15/04, А 61 К 31/295 - 6 с.
3. Акбаров А.Б., Алиев У.Э., Темиргаджаев В.Х., Турсунов Э.А. и др. Тетрагидро-, био-метилметионинатсульфония хлорид, монозамещенный глутаминат кобальта-(II), проявляющий проветворную и противорадиационную активность. А.С. № 1426059 СССР, ДСН, МКИ С 07 Г 15/06 А 61 К 31/295 - 6 с.
4. Акилов А.Т. Цитогистохимический анализ гемопоэтических очагов и элементов периферической крови у некоторых представителей позвоночных в различные сезоны года и при действии ионизирующего излучения. - Автореф. дис. докт. биол. наук. - Ташкент, 1972, 40 с.

5. Афанасьев Ю.И. Органы кроветворения и иммунологической защиты. - В кн.: Гистология (под ред. Елисеева В.Г., Афанасьева Ю.И., Юриной Н.А.) - М., Медицина, 1983, с.345-370.
6. Атаев М.А. Влияние пестицида хлората магния на коагулирующую активность крови: Автореф.дис. ... к.м.н. - Ашхабад, 1980, 25 с.
7. Баркова Э.К., Петров А.В. Влияние эритропоэтина на ультраструктуру эритробластических элементов костного мозга. - Бюлл. эксприм.биологии и медицины, 1973, т. 76, 7, с. III-IV.
8. Бутенко З.А., Глузман Д.Ф., Зак К.П. и др. Цитохимия и Электронно-микроскопия клеток крови и кроветворных органов. - Киев: Наука думка, 1974, 266 с.