

УДК 616.45:546.85/819:577.213/217+577.161.3

© Н. Ю. Озерова, К. Л. Лазарев, 2012.

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ НАДПОЧЕЧНЫХ ЖЕЛЕЗ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И КОРРИГИРОВАНИИ АЛЬФА-ТОКОФЕРОЛОМ

**Н. Ю. Озерова, К. Л. Лазарев**

*Кафедра патологической анатомии с секционным курсом (зав. кафедрой – доц. Н.Ю. Новиков);  
Кафедра медицинской биологии (зав. кафедрой – проф. К.Л. Лазарев), ГУ «Крымский государственный  
медицинский университет имени С.И. Георгиевского», г. Симферополь*

### MORPHOLOGICAL CHANGES OF ADRENAL GLANDS DURING LEAD EXPOSURE AND AFTER PHARMACOLOGICAL CORRECTION

**N. Yu. Ozerova, K. L. Lasarev**

#### SUMMARY

The investigation is devoted to revealing and studying of the morphofunctional changes of suprarenal gland on lead treated male-mice of second generation of BALB/c line. It is experimentally established that the chronic lead intoxication results in dystrophic and necrotic changes of parenchyme cells, disturbance of the hemodynamic and morphogenesis, activation of the fibroblasts. Diminishing of destructive changes due to administration of alpha-tocopherol was proved.

### МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ПІД ВПЛИВОМ ХРОНІЧНОЇ СВИНЦОВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ПРИ КОРИГУВАННІ АЛЬФА-ТОКОФЕРОЛОМ

**Н. Ю. Озерова, К. Л. Лазарев**

#### РЕЗЮМЕ

В експерименті на мишах-самцях лінії BALB/c вивчали характер морфологічних змін надниркових залоз при хронічній свинцевій інтоксикації. Встановлені морфологічні ознаки порушення морфогенезу та гемодинаміки, гідропічні та некротичні зміни клітин паренхіми та зріст проліферативної активності фібробластів. Альфа-токоферол у помірному ступені зменшує вказані процеси.

**Ключевые слова:** надпочечные железы, свинец, альфа-токоферол, <sup>3</sup>H-тимидин.

Загрязнение окружающей среды соединениями тяжелых металлов на фоне развивающегося глобального экологического кризиса требует приоритетного внимания [10]. Тяжелые металлы, а особенно соединения свинца, оказывают значительное влияние на организм человека, становясь фактором риска для его здоровья при хроническом поступлении даже в низких концентрациях [15].

Свинец – кумулятивный яд, иными словами, он постепенно накапливается в организме человека, поскольку скорость его естественного выведения очень низка. Присутствующий в атмосфере свинец непрерывно добавляется к тому количеству, которое уже содержится в нашем организме. Длительное поступление в организм субпороговых и подпороговых концентраций свинца нарушает течение адаптивных процессов и иммунной резистентности [8, 11]. Как известно, важное место в регуляции указанных процессов отводят гормонам, синтезирующимся в надпочечных железах.

Установлено наличие мембранотоксического действия соединений свинца и связанной с ним активации перекисного окисления липидов [5]. Данные процессы могут происходить как за счет непосредственного прооксидантного действия, так и за счет

истощения естественных антиоксидантов (аскорбиновой кислоты и токоферола) [12], что и обусловило выбор наиболее сильного природного антиоксиданта альфа-токоферола для корригирования возникающих изменений.

Цель настоящего исследования состояла в изучении изменений в надпочечных железах при хронической свинцовой интоксикации и морфологическая оценка корригирующего эффекта альфа-токоферола.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на втором поколении линейных мышей-самцов BALB/c. Животные первого поколения получали соединения свинца в течение всей жизни, с момента прекращения грудного вскармливания, включая процессы гестации и лактации. Мыши-самцы второго поколения были получены от животных первого поколения. Таким образом, можно полагать, что экспериментальные животные подвергались воздействию солей свинца начиная с прегенеза весь антенатальный и постнатальный периоды. Исследование проведено на 18 животных, которые составили 3 группы: 1 группа животных второго поколения, ежедневно получала водный раствор ацетата свинца после прекращения грудного вскармли-

вания в течение 90 суток (способ введения – per os; доза – 10 мг/кг); 2 группа животных второго поколения, ежедневно получала одновременно с водным раствором ацетата свинца витамин Е в среднесуточной терапевтической дозе; 3 группа была представлена контролем.

Из эксперимента животных выводили под эфирным наркозом путем декапитации. За 1 час до эвтаназии вводили меченый предшественник ДНК – <sup>3</sup>Н-тимидин в дозе 6,5 мКи/г. Материал был залит в эпон-аралдитовые блоки. Полутонкие срезы покрывали фотоэмульсией типа "М", экспонировали в течение 14 дней, после чего гисторадиоавтографы окрашивали толуидиновым синим. Индекс меченых клеток (ИМК) вычисляли при просчете не менее 2000 клеток в каждой зоне коркового и мозгового вещества надпочечников. Материал был залит в эпон-аралдитовые блоки. Электронно-микроскопическое исследование проводили по стандартной методике.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что у мышей через 90 суток воздействия ацетатом свинца во всех зонах коры и мозгового вещества надпочечников наблюдаются выраженные признаки нарушения гемодинамики: расширение сосудов, стазы и сладжи эритроцитов. В ряде случаев эндотелиоциты увеличиваются, набухают и выступают в просвет гемокапилляров, значительно суживая их просвет. Указанные изменения в большей степени выражены в сосудах подкапсульной области и сетчатой зоне – вблизи внутренней капсулы. Выявлено достоверное уменьшение общей ширины коркового вещества, преимущественно за счет пучковой зоны (ПЗ).

Под наружной капсулой надпочечников располагаются темные клетки, которые подлежат к ней на всем протяжении, а в отдельных участках образуют скопления неправильной формы. Эти клетки окружают клубочки и локализуются по ходу сосудов в направлении ПЗ. Ядра молодых кортикоцитов темные, за счет многочисленных инвагинаций кариолеммы принимают лопастную форму, содержат крупное эксцентрично расположенное ядрышко. Их перинуклеарное пространство неравномерно расширено. В цитоплазме выявляется значительное количество миелопоподобных структур. Митохондрии не крупные, содержат кристы с частичной деструкцией. Отмечается незначительное количество везикул АЭПС и полисом. Встречаются единичные липосомы мелких размеров. Для вновь образованных кортикоцитов характерна гидропическая дистрофия различной степени выраженности. Наряду с нарастанием числа молодых дифференцирующихся кортикоцитов в строме обнаруживается значительное количество фибробластов и фиброцитов.

Клубочковая зона представлена темными и светлыми кортикоцитами. На отдельных участках клетки образуют трабекулы, а иногда располагаются общим

пластом, в результате чего нарушается их типичное расположение. В клубочках подавляющее большинство составляют светлые кортикоциты, ядра которых не имеют видимых инвагинаций кариолеммы; ядрышки мелкие, расположены эксцентрично. Дистрофические изменения представлены просветлением матрикса митохондрий, деструкцией их крист. Липосомы средних и крупных размеров, полярность их расположения нарушена. Их количество увеличивается по направлению расположения клеток от капсулы к ПЗ. Везикулы АЭПС расширены, некоторые из них разрываются с образованием вакуолей. Темные кортикоциты располагаются по периферии клубочков, ближе к пучковой зоне. В них также выявлены изменения деструктивного характера, аналогичные вышеописанным, но выражены в меньшей степени по сравнению со светлыми кортикоцитами.

На большом протяжении пучковой зоны нарушается трабекулярное строение и радиальное расположение кортикоцитов, которые образуют пластообразные структуры. В нижних отделах пучковой и частично сетчатой зоне выявлены некротические участки округлой или овальной формы, отграниченные от остальной паренхимы клетками фибробластического дифферона и тонкими соединительнотканными волокнами.

Сетчатая зона несколько расширена за счет дилатированных гемокапилляров и разрастающейся со стороны внутренней капсулы соединительной ткани. Среди рыхло расположенных волокон определяются клетки фибробластического ряда и, ближе к внутренней капсуле, небольшие темные кортикоциты с признаками умеренной гидропической дистрофии. У них крупные ядро и ядрышки, неравномерно расширенное перинуклеарное пространство.

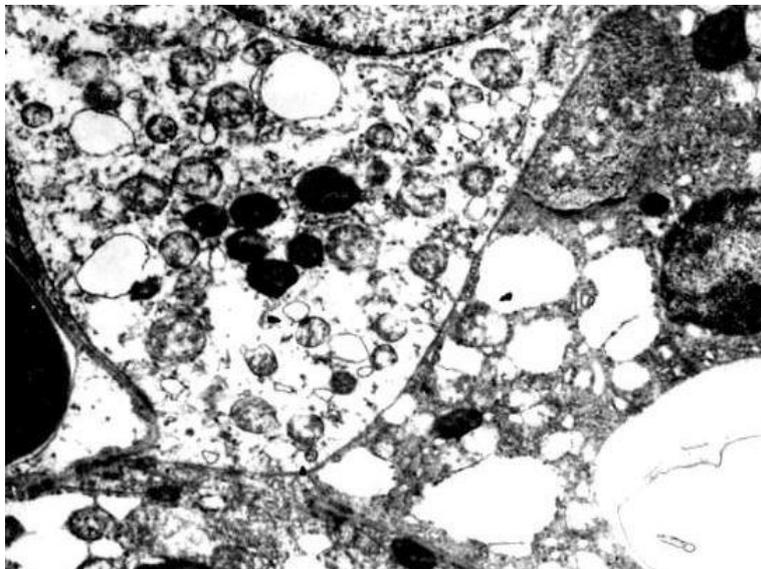
В кортикоцитах на электронно-микроскопическом уровне выявлены дистрофические изменения различной степени выраженности, максимальные изменения характерны для светлых кортикоцитов пучковой зоны. Общее содержание митохондрий в цитоплазме эндокриноцитов коркового вещества надпочечников минимально и составляет 23,98 % от значений в контрольной группе животных.

Кроме того, выявлены тотальная деструкция митохондрий, резкое уменьшение количества и величины липосом, многие из них запустевают, окружающая их мембрана в ряде случаев разрушена. В тех кортикоцитах, которые сохраняют типичное расположение, часто наблюдаются процессы делипидизации, сохранившиеся мелкие липосомы равномерно распределены по всему объему цитоплазмы. Липосомы же кортикоцитов, входящих в состав пластообразных структур, характеризуются более крупными размерами. Цистерны агранулярной эндоплазматической сети расширены, образуют вакуоли с электронно-прозрачным содержимым (рис. 1).

В мозговом веществе эпинефроциты и норэпинефроциты располагаются группами, однако соеди-

нительнотканые прослойки между ними утолщены, содержат большое количество фибробластов и фиброцитов. Ядра эндокриноцитов резко просветлены. Эндокриноциты мозгового вещества, как и кортикоциты, подвергаются гидропическим изменениям различной степени выраженности, вплоть до баллонной дистрофии. Матрикс митохондрий просвет-

ляется, внутренняя, а в ряде случаев, и наружная мембрана подвергаются деструкции. Резко снижено число полисом. Мембрана, ограничивающая содержимое хромаффинных гранул, часто разрывается, в результате чего их содержимое гомогенизируется. Большая степень поражения характерна для эпинефроцитов.



**Рис. 1.** Пучковая зона коры надпочечников. Хроническая интоксикация соединениями свинца у мышей самцов линии *balb/c* (второе поколение) в течение 90 суток. Гидропическая и баллонная дистрофия светлых кортикоцитов. ТЭМ. Ув. x 12000.

Методом гисторадиоавтографии установлено снижение индекса меченых клеток во всех зонах. Так, в пучковой зоне преимущественно уменьшается ИМК светлых кортикоцитов (на 41,00 %), в клубочковой зоне – темных кортикоцитов (на 38,00 %), ИМК светлых эндокриноцитов мозгового вещества достоверно уменьшается на 37,14 %. В то же время, увеличивается ИМК фибробластов коркового вещества надпочечников (на 35,03 %) и в большей степени клеток внутренней капсулы (на 90,70 %).

При воздействии ацетатом свинца в течение 90 суток и при одновременном корригировании альфа-токоферолом также выявлены стазы и сладжи эритроцитов, с большей степенью выраженности в сосудах подкапсульной области и сетчатой зоны, однако степень их значительно меньше по сравнению с первой экспериментальной группой животных. Цитоплазма эндотелиоцитов просветлена и вакуолизована. Наблюдается деструкция органелл, большое количество пиноцитозных пузырьков. Базальная мембрана капилляров утолщена, площадь адлюминальной поверхности увеличена за счет большого количества микровиллей.

Ширина коркового вещества надпочечников увеличивается по сравнению с 1-й экспериментальной группой, но не достигает данных контроля. Указанное изменение происходит преимущественно за счет увеличения ПЗ и в меньшей степени за счет СЗ. Из-

менения ширины клубочковой зоны не носят достоверного характера. Применение альфа-токоферола приводит к достоверному увеличению количества темных кортикоцитов, по сравнению с предыдущей группой животных, и не имеет достоверных отличий от данных контроля.

Наружная капсула умеренно утолщена. Под ней выявляются мелкие темные клетки с начальными признаками дифференцировки кортикоцитов, часть которых располагается по ходу сосудов и между клубочками. Деструкция мембран митохондрий и АЭПС в них выражена значительно меньше, чем в 1-й экспериментальной группе животных.

Клубочковая зона представлена небольшими клубочками, которые состоят как из темных, так и светлых кортикоцитов. Во всех кортикоцитах снижается содержание органелл, уменьшаются их размеры. Выявленные изменения носят характер гидропической дистрофии и сопровождаются деструкцией митохондрий, расширением везикул АЭПС, и, в конечном итоге, образованием мелких вакуолей. Содержание липосом в светлых кортикоцитах даже по сравнению с контролем увеличено.

На всем протяжении пучковой зоны тяжи кортикоцитов сохраняют правильный радиальный ход. В верхней их части преимущественно группами локализируются темные кортикоциты. По направлению к сетчатой зоне их количество постепенно уменьшает-

ся. Характерной особенностью при параллельном введении альфа-токоферола является то, что некротически измененные участки, аналогичные выявленным на 90-е сутки при свинцовой интоксикации без корригирования, не обнаружены.

Цитоплазма кортикоцитов просветлена, вакуолизована, с единичными мелкими слоистыми осмиофильными тельцами. Митохондрии округлые, с признаками лишь частичной деструкции. В них появляются трубчатые и пластинчатые кристы, но в большей части сохраняются трубчато-везикулярные, при этом количество везикул уменьшено. Везикулы агранулярной эндоплазматической сети расширены, за счет чего наблюдается мелкая вакуолизация цитоплазмы. Количество свободных рибосом особых изменений не претерпевает по сравнению с контролем. В светлых кортикоцитах липосомы заполняют практически весь объем цитоплазмы, некоторые сливаются, образуя крупные липидные капли. Как и в норме, наблюдается тесный контакт липосом с митохондриями и элементами АЭПС.

Характерным является большая степень поражения светлых кортикоцитов и значительно меньшая выраженность дистрофических изменений по сравнению со свинцовой интоксикацией не корригированной альфа-токоферолом.

Сетчатая зона несколько расширена за счет дилатированных сосудов, представлена небольшими темными и светлыми кортикоцитами. В клетках выявлена тотальная гидропическая дистрофия умеренной степени выраженности. Практически все митохондрии подвержены деструктивным изменениям, наружные мембраны некоторых разрываются. Мелкие липосомы неравномерно распределены между кортикоцитами, их количество значительно увеличивается по сравнению со свинцовой интоксикацией данного срока, не корригированной альфа-токоферолом.

В мозговом веществе преобладают светлые эндокриноциты. Клетки располагаются кластерами, соединительнотканые волокна, отграничивающие их, несколько утолщены. В цитоплазме эпинефроцитов и норэпинефроцитов определяются вакуоли различного размера с электроннопрозрачным содержанием. Кристы митохондрий деструктивированы, но разрыва их наружной мембраны не наблюдается. Величина и количество катехоламиновых гранул увеличивается, а их запустевание уменьшается по сравнению со свинцовой интоксикацией в течение того же срока, не корригированной альфа-токоферолом. В отдельных секреторных гранулах происходит разрушение мембраны, ограничивающей содержимое. В целом, значительных различий между степенью поражения эпинефроцитов и норэпинефроцитов не наблюдается. Выявленные дистрофические изменения носят умеренный характер и выражены в меньшей степени по сравнению со свинцовой интоксикацией в течение 90 суток без корригирования альфа-токоферолом.

С помощью гисторадиоавтографии установлено снижение показателей индекса меченых клеток паренхимы в корковом и мозговом веществе надпочечников мышшей-самцов линии BALB/c по сравнению с контролем. В то же время ИМК фибробластов коркового вещества – увеличивается на 9,98 %, а клеток внутренней капсулы – на 48,63 % по сравнению с данными у интактных животных.

Таким образом, на 90-е сутки введения ацетата свинца животным второго поколения в надпочечных железах определяются морфологические признаки нарушения гемодинамики в виде стаза и сладжа эритроцитов, которые сопровождаются снижением площади поперечного сечения и периметра сосудистого русла надпочечных желез. Уменьшается ширина коркового вещества надпочечных желез. Кортикоциты подвергаются выраженным дистрофическим изменениям и некрозу, формируя полигональные образования, которые отграничены соединительной тканью. Эндокриноциты мозгового вещества также подвергаются выраженным дистрофическим и некротическим изменениям. Площадь поперечного сечения эндокриноцитов надпочечных желез, их ядер и ядрышек в большинстве случаев уменьшена. Методом гисторадиоавтографии установлено снижение ИМК кортикоцитов всех зон и эндокриноцитов мозгового вещества. Несмотря на то, что индекс меченых клеток наружной капсулы ниже, чем у интактных животных, наблюдается повышение пролиферативной активности клеток внутренней капсулы на 48,63 %.

Таким образом, введение ацетата свинца животным второго поколения (в течение 90 суток) приводит к развитию стереотипных морфофункциональных изменений, которые наблюдаются при воздействии на организм различных стрессирующих факторов: увеличение количества светлых кортикоцитов, их делипидизация, гиперплазия клеток камбиального слоя, гемодинамические нарушения, дистрофия и некробиоз эндокриноцитов, фибрирование соединительнотканной стромы органа [7, 14]. Дистрофические и некротические изменения в большей степени затрагивают эндокриноциты пучковой зоны и мозгового вещества, что свидетельствует о наиболее значительной функциональной нагрузке именно на эти типы клеток, согласуется с данными литературы о роли глюкокортикоидов и катехоламинов в реализации адаптационно-компенсаторных реакций при стрессе [12] и не противоречит данным других авторов [9, 6]. Выявленная максимальная степень повреждения митохондрий, по мнению многих авторов [1, 2] связана с преимущественным распределением тяжелых металлов именно в митохондриальной фракции клеток. Полученные при помощи электронной микроскопии и морфометрии данные, также указывают на максимальную степень повреждения этих оргanelл.

Повышение ИМК клеток внутренней капсулы

может свидетельствовать об избыточной пролиферации соединительной ткани и последующем замещении функционирующей части сетчатой зоны. Угнетение пролиферативной активности, нарушение микроциркуляции приводят к усугублению некробиотических изменений, в результате чего нарушается морфогенез, уменьшается ширина коркового вещества. Вышеуказанное позволяет предположить развитие стадии истощения по Г. Селье [4] и срыв компенсаторно-приспособительных процессов в надпочечниках. В стадии истощения поддержание стрессовых механизмов в активированном состоянии может быть достигнуто только за счет напряжения регуляторных механизмов, однако из-за недостаточности метаболических субстратов соответствующие процессы не получают должного развития [13].

Тот факт, что корригирующее действие альфа-токоферола на 90-е сутки выражено не в полной мере, вероятно, обусловлен тем, что повреждающие механизмы на надпочечные железы реализуются не только за счет мембранотоксического действия, но и с вовлечением ядерного аппарата (нарушение структуры и процессов репарации ДНК, нестабильность хромосом, хромосомные aberrации) [3].

#### ВЫВОДЫ

1. Введение ацетата свинца в течение 90 суток животным второго поколения приводит к нарушению морфогенеза, гемодинамики, развитию дистрофически-некротических изменений, наиболее выраженных в эндокриноцитах пучковой зоны и мозгового вещества.

2. В клетках паренхимы надпочечников деструктивные процессы в первую очередь затрагивают митохондрии как органеллы стероидогенеза.

3. Применение альфа-токоферола оказывает умеренный корригирующий эффект на паренхиматозный и стромально-сосудистый компоненты надпочечных желез.

4. Полученные результаты важны для полноты представления морфологических изменений в структуре надпочечников при хронической свинцовой интоксикации. Несомненна необходимость применения альфа-токоферола как природного антиоксиданта в комплексной терапии у больных с соматической патологией, проживающих в неблагоприятных экологических условиях. Очевидна также и необходимость поиска более эффективных препаратов для нивелирования отрицательных эффектов соединений свинца в организме.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Angle C.R. Osteotoxicity of cadmium and lead in HOS TE 85 and ROS 17/28 cells: relation to metallothionein induction and mitochondrial binding / C.R. Angle, D.J. Thomas, S.A. Swanson // *Biometals*. - 1993. - № 6(3). - P. 179-84.

2. Legare M.E. Low-level lead exposure in cultured astroglia: identification of cellular targets with vital fluorescent

process / M.E. Legare, R. Barhomi, R.S. Burghardt // *Neurotoxicol.* - 1993. - Vol. 14, № 2-3. - P. 267-272.

3. Nehez M. Simultaneous action of cypermethrin and two environmental pollutant metals, cadmium and lead, on bone marrow cell chromosomes of rats in subchronic administration / M. Nehez, R. Lorenz, I. Desi // *Ecotoxicol Environ Saf* 2000 Jan. - Vol. 45(1). - P. 55-60.

4. Selye H. The stress concept today / H. Selye // *Handbook on stress and Anxiety*. - London, 1981. - P. 127-143.

5. Артамонова В.Г. Перекисное окисление липидов крови человека при воздействии малых концентраций свинца / В.Г. Артамонова, А.Г. Шлейкин, Т.Г. Федорова [и др.] // «Загрязнение окружающей среды, токсикология и эпидемиология»; 1993, г. Пермь: тез. докл. научн. конф., - Москва-Пермь, 1993. - С. 152.

6. Асфандияров Р.И. Влияние серосодержащих поллютантов на надпочечники / Р.И. Асфандияров, В.Н. Бучин, М.В. Лазыко // *Морфология*. - 2002. - Т. 121, № 2-3. - С. 13.

7. Безруков В.В. Морфофункциональные особенности реактивности надпочечников крыс разного возраста / В.В. Безруков, В.М. Шапошников // *Архив анатомии, гистологии и эмбриологии*. - 1987. - № 11. - С. 76-80.

8. Евстафьева Е.В. Состояние иммунной системы в связи с содержанием металлов в организме детей в условиях фоновой экспозиции / Е.В. Евстафьева, А.Е. Слюсаренко, В.Ф. Демченко [и др.] // *Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения*. Тр. Крымск. гос. мед. ун-та им. С.И.Георгиевского. - 2002. - Т. 138, ч. 2. - С. 18-21.

9. Киптенко Л.І. Вплив солей важких металів на структуру надниркових залоз / Л.І. Киптенко // «Актуальні питання морфології»; 21-23 жовтня, 2002, м. Київ: наук. праці конгресу АГЕТ України. - Київ, 2002. - С. 136.

10. Курляндский Б.А. Основные направления международной деятельности по медицинским проблемам химической безопасности и возможность их реализации в Российской Федерации / Б.А. Курляндский // *Токсикол. Вестник*. - 2001. - № 6. - С. 2-5.

11. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / А.П. Авцын, А.А. Жаворонков, М.А. Риш, Л.С. Строчкова. - М.: Медицина, 1991. - 496 с.

12. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / Барабой В.А., Сутковой Д.А.; Под. общ. ред. Зозули Ю.А. - К.: Наук. думка, 1997. - 420 с.

13. Пшенникова М.Г. Различия в стресс-реакции и формировании адаптации к стрессу у крыс Август и Вистар / М.Г. Пшенникова, Л.Ю. Голубева, Б.А. Кузнецова [и др.] // *Бюл. exper. биол.* - 1996. - Т. 122, № 8. - С. 156-159.

14. Стельникова И.Г. Морфологические изменения в надпочечниках при действии на организм многократных двигательных нагрузок / И.Г. Стельникова // *Морфологические ведомости*. - 2007. - № 1-2. - С. 130-132.

15. Трахтенберг И.М. Тяжелые металлы во внешней среде / И.М. Трахтенберг, В.С. Колесников, В.П. Луковенко. - Минск: "Наука і тэхніка", 1994. - 288 с.