

**В.І.Літус<sup>1</sup>**  
**Ю.Б.Чайковський<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика

<sup>2</sup> Національний медичний університет імені О.О.Богомольця

**Ключові слова:** тимус, хлорид ртуті, мікромеркуріалізм, „Тіотриазолін”, „Мілдронат”.

*Надійшла: 29.07.2007*

*Прийнята: 27.08.2007*

УДК: 611.821-018:615.9:546.49:612.084:615.27

## **МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ТИМУСУ ЩУРІВ ЗА УМОВ МІКРОМЕРКУРІАЛІЗМУ І ВИКОРИСТАННЯ МЕТАБОЛІЧНОЇ ТА ДЕЗІНТОКСИКАЦІЙНОЇ ТЕРАПІЇ**

**Резюме.** Метою проведеного дослідження було встановлення особливостей структурних змін паренхіми тимусу під впливом малих доз сполук ртуті та за умов дії препаратів „Тіотриазолін” і „Мілдронат” в хронічному експерименті. В дослідках на білих щурах, за умов мікромеркуріалізму та його корекції „Тіотриазоліном” та „Мілдронатом” вивчали різні морфофункціональні компартменти тимусу за допомогою морфометричного аналізу. Визначення клітинного вмісту паренхіми тимусу проводили за допомогою комп’ютерної системи цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина). Вивчали загальноприйняті морфофункціональні зони часточок: субкапсулярну, внутрішню кортикальну та мозкову. За умов мікромеркуріалізму в різних морфофункціональних компартментах тимусу спостерігаються як прояви інтоксикації, так і компенсаторно-адаптаційні зміни. Профілактичні введення препаратів нівелювали токсичні прояви металу на лімфоїдну популяцію тимусу. Цей вплив був більш виражений при довготривалому (10 тижнів) введенні малих доз хлориду ртуті.

**Litus V.I., Chaikovsky Yu.B. Morphological changes of rats' thymus in conditions of micromercurialism and use of metabolic and antitoxic therapy.**

**Summary.** The purpose of the research was an establishment of features of structural changes of the thymus's parenchyma under influence of small doses of mercury's connections and under condition of action of preparations "Thiotriazolinum" and "Mildronatum" in chronic experiment. In researches on white rats, in conditions of micromercurialism and with use of "Thiotriazolinum" and "Mildronatum" thymus was studied with the help of the morphometrical analysis. Definition of cellular contents of the thymus's parenchyma spent with the help of computer system of the digital analysis of image VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Germany). Studied standard morphologies and functional zones of particles: subcapsillary, internal cortical and medullar. Under conditions of the micromercurialism in various morphologies and functional compartments of the thymus compensatory and adaptable changes are observed both displays of an intoxication, and. Preventative use of "Thiotriazolinum" and "Mildronatum" improved morphometrical parameters of thymus lymphoid population. At long (10 weeks) administration of mercury chloride small doses this influence was more expressed.

**Keywords:** spinal cord, mercury chloride, micromercurialism, "Thiotriazolinum", "Mildronatum".

### **Вступ**

Інтенсивне забруднення довкілля солями важких металів негативно позначається на стані здоров'я населення (Сердюк А.М. и соавт., 2004; Трахтенберг І.М. та співавтор., 2004). Відповідно все більшої актуальності набуває розробка та наукове обґрунтування методів лікування та профілактики інтоксикації солями важких металів, особливо ртуттю і, зокрема, - малими дозами сполук ртуті (мікромеркуріалізм). З цією метою використовують сірковмісні („Унітіол”, „Тіотриазолін”) (Гордієнко В.В., 2004) або метаболічні препарати, такі, як „Мілдронат” – протектор з антиоксидантною дією, що здатний захистити мембрану клітини, покращити функцію мітохондрій і сприяти зменшенню ендогенної токсемії, зумовленої впливом сполук металів (Barbier O. et al., 2005). З'ясовано морфологічний субстрат протекторної дії „Мілдронату” на деякі

органи нервової системи (Сокурєнко Л.М., Чайковський Ю.Б., 2006). Вивчається механізм дії тіолових сполук на органи імунної системи (Mondal T.K. et al., 2005). Однак, механізм спільної фармакологічної дії „Тіотриазоліну” та „Мілдронату” на імунну систему за умов мікромеркуріалізму не досліджений.

### **Мета дослідження**

Метою проведеного дослідження було встановлення особливостей структурних змін паренхіми тимусу під впливом малих доз сполук ртуті та за умов дії препаратів „Тіотриазолін” і „Мілдронат” в хронічному експерименті.

### **Матеріали та методи**

Експериментальні дослідження проведені на 50 білих щурах лінії Вістар масою 150–200 г, що були розподілені на 5 серій. У першій серії показники, що досліджувались, вивчали на інтактних тваринах (контрольна серія). У другій серії – при

введенні хлориду ртуті в дозі  $1/100$  ЛД<sub>50</sub> внутрішньочеревним шляхом у кількості 10 введеннь протягом 2 тижнів (короткотривала інтоксикація). У третій серії – при введенні хлориду ртуті в дозі  $1/100$  ЛД<sub>50</sub> внутрішньочеревним шляхом у кількості 50 введеннь протягом 10 тижнів (довготривала інтоксикація). У четвертій серії здійснювали короткотривалу інтоксикацію з наступним застосуванням препаратів „Тіотриазолін” та „Мілдронат”. У п’ятій серії здійснювали довготривалу інтоксикацію з наступним введенням препаратів „Тіотриазолін” та „Мілдронат”. Препарати вводили внутрішньочеревним шляхом у кількості 10 введеннь (протягом 2 тижнів) щоденно за два тижні до забою – „Тіотриазолін” у дозі 100 мг, а „Мілдронат” у дозі 50 мг на 1 кг маси тіла.

Всіх тварин утримували у стандартних умовах віварію. Матеріал у експериментальних тварин отримували через 2 тижні після закінчення моделювання мікромеркуріалізму. Перед забором матеріалу тваринам вводили надлишкову дозу гексеналу (200мг/кг).

Тимус фіксували в розчині Ліллі та заливали у парафін. Гістологічні зрізи виготовлялись на мікротомі НМ – 360 фірми “Zeiss”. Зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином та вивчали на світлооптичному рівні.

Визначення клітинного вмісту паренхіми тимусу проводили за допомогою комп’ютерної системи цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина). Вивчали загальноприйняті морфофункціональні зони часточок: субкапсулярну, внутрішню кортикальну та мозкову. Отримані числові дані порівнювали за допомогою критерію Вілкоксона-Манна-Уїтні, використовуючи програму Statistica v. 5.0.

#### Результати та їх обговорення

Щільність розташування клітин лімфоїдної популяції у контролі у субкапсулярній зоні складала – 13940,8; внутрішній кортикальний – 18169,9; мозковій речовині – 15830,3 клітин/мм<sup>2</sup>. Відсотковий вміст лімфоїдних клітин різних класів, що вивчалися, у контролі у субкапсулярній зоні складав: лімфобласти – 2,53±0,44%, лімфобласти з ознаками деструкції – 0,33±0,15%, великі лімфоцити – 17,56±1,23%, великі лімфоцити з ознаками деструкції – 1,14±0,24%, середні лімфоцити – 21,77±1,25%, середні лімфоцити з ознаками деструкції – 3,68±0,63%, малі лімфоцити – 38,16±1,63%, малі лімфоцити з ознаками деструкції – 14,12±1,00%, апоптичні тільця – 0,71±0,21%. У внутрішній кортикальній зоні аналогічні показники склали: лімфобласти – 2,7±0,38%, лімфобласти з ознаками деструкції – 0,17±0,1%, великі лімфоцити – 15,77±0,8%, великі лімфоцити з ознаками деструкції – 1,75±0,36%, середні лімфоцити – 26,00±0,79%, середні лімфоцити з ознаками деструкції – 2,71±0,4%, малі лімфоцити – 34,36±1,08%, малі лімфоцити з ознаками деструкції – 15,76±0,9%, апоптичні тільця – 0,78±0,19%. У мозковій речовині аналогічні показники склали: лімфобласти – 2,26±0,32%,

лімфобласти з ознаками деструкції – 0,16±0,08%, великі лімфоцити – 16,1±1,02%, великі лімфоцити з ознаками деструкції – 1,81±0,32%, середні лімфоцити – 22,62±1,06%, середні лімфоцити з ознаками деструкції – 3,26±0,41%, малі лімфоцити – 35,99±1,38%, малі лімфоцити з ознаками деструкції – 16,87±1,09%, апоптичні тільця – 0,94±0,28%.

За умов короткотривалої дії хлориду ртуті в тимусі спостерігалися як прояви інтоксикації, так і компенсаторно-адаптаційні зміни. До перших відносяться: статистично достовірне збільшення відсоткового вмісту великих лімфоцитів з ознаками деструкції до 2,05±0,35%, середніх лімфоцитів з ознаками деструкції до 3,76±0,42 у внутрішній кортикальній зоні, збільшення вмісту лімфобластів з ознаками деструкції до 2,95±0,34% у мозковій речовині.

Як наслідок останнього явища, у внутрішній кортикальній зоні зменшився вміст середніх лімфоцитів до 18,29%, а у мозковій речовині зменшився вміст лімфобластів до 0,11±0,07% та малих лімфоцитів до 28,89±0,93%. До компенсаторно-адаптаційних змін відносяться: збільшення відсоткового вмісту лімфобластів до 3,46±0,4% у субкапсулярній зоні, лімфобластів до 3,84±0,41%, великих лімфоцитів до 20,84±1,02% у внутрішній кортикальній зоні, збільшення вмісту великих лімфоцитів до 20,51±0,99% та середніх лімфоцитів до 25,75±1,04% у мозковій речовині. Щільність клітин лімфоїдної популяції у субкапсулярній зоні зросла до 18353,4; у внутрішній кортикальній зоні – зменшилась до 16630,7; у мозковій речовині значно збільшилась – до 20344,7 клітин/мм<sup>2</sup>. При цьому спостерігалось статистично достовірне збільшення щільності лімфобластів з ознаками деструкції (з 34,37±16,62 клітин/мм<sup>2</sup> у контролі до 585,58±64,63 клітин/мм<sup>2</sup> за умов мікромеркуріалізму) та збільшення щільності великих лімфоцитів (з 2503,07±217,1 клітин/мм<sup>2</sup> у контролі до 4103,33±252,66 клітин/мм<sup>2</sup> за умов мікромеркуріалізму) у мозковій речовині. Це дозволяє говорити про збільшення їх абсолютної кількості у даному компартменті.

За умов короткотривалої інтоксикації хлоридом ртуті та застосування препаратів у субкапсулярній зоні спостерігалось подальше помірне зростання щільності клітин лімфоїдної популяції (19532,5 кл/мм<sup>2</sup>), у внутрішній кортикальній зоні та мозковій речовині щільність клітин лімфоїдної популяції суттєво не змінювалась (відповідно 16979,7 та 19830,3 кл/мм<sup>2</sup>). У субкапсулярній зоні порівняно з контролем підвищувався відсотковий вміст великих лімфоцитів до 18,63±0,95 кл/мм<sup>2</sup>. У внутрішній кортикальній зоні вміст лімфобластів зменшувався до 3,43±0,4%, що достовірно не відрізнялося від контролю. В той же час вміст великих лімфоцитів і середніх лімфоцитів з ознаками деструкції (відповідно 20,4±1,04% та 4,35±0,39%) перевищував аналогічні показники в контролі, а відсотковий вміст малих лімфоцитів з

ознаками деструкції ( $13,96 \pm 0,84\%$ ) був менший, ніж у контролі. У мозковій речовині відносний вміст великих лімфоцитів ( $19,02 \pm 0,8\%$ ) був більший, ніж у контролі.

Таким чином, застосування „Тіотриазоліну” та „Мілдронату” за умов короткотривалої інтоксикації хлоридом ртуті приводило до подальшого збільшення щільності розташування клітин лімфоїдної популяції в субкапсулярній зоні тимусу. Підвищення відсоткового вмісту великих лімфоцитів у субкапсулярній та внутрішній кортикальній зонах і мозковій речовині, нормалізація вмісту лімфобластів у внутрішній кортикальній зоні, свідчить про подальші компенсаторно-адаптаційні процеси, зміни у міграції та диференціюванні клітин лімфоїдної популяції тимусу за даних експериментальних умов. Прояви інтоксикації в значній мірі нівелюються. Залишається підвищеним лише вміст середніх лімфоцитів з ознаками деструкції у внутрішній кортикальній зоні.

За умов довготривалої інтоксикації хлоридом ртуті у субкапсулярній, внутрішній кортикальній зонах і мозковій речовині щільність клітин лімфоїдної популяції зросла відповідно до  $21556,5$ ;  $23595,4$  та  $17357,0$  клітин/мм<sup>2</sup>. У субкапсулярній зоні спостерігалось статистично достовірне збільшення процентного вмісту середніх лімфоцитів до  $24,00 \pm 1,08\%$  та зменшення кількості малих лімфоцитів до  $32,19 \pm 1,11\%$ . У мозковій речовині спостерігалось збільшення вмісту великих лімфоцитів до  $21,88 \pm 1,11\%$  та зменшення кількості середніх і малих лімфоцитів відповідно до  $19,3 \pm 1,18$  та  $31,56 \pm 1,37\%$ . До проявів інтоксикації в цій серії експериментів відноситься: статистично достовірне збільшення відсоткового вмісту великих лімфоцитів з ознаками деструкції до  $2,78 \pm 0,2\%$  і малих лімфоцитів з ознаками деструкції до  $17,85 \pm 0,85\%$  у внутрішній кортикальній зоні.

ній зоні.

За умов довготривалої інтоксикації хлоридом ртуті та застосування препаратів щільність клітин лімфоїдної популяції в усіх компартментах тимусу значно зменшувалась (до  $16567,7$  у субкапсулярній,  $21078,9$  у внутрішній кортикальній зонах та  $16416,5$  кл/мм<sup>2</sup> у мозковій речовині), але залишалась дещо вищою, ніж у контролі. У субкапсулярній зоні нормалізувався відсотковий вміст середніх лімфоцитів ( $21,53\%$ ). У внутрішній кортикальній зоні вміст малих лімфоцитів перевищував даний показник у контролі та третій серії дослідів. У мозковій речовині вміст середніх лімфоцитів ( $22,54\%$ ) нормалізувався, а великих – зменшувався ( $19,38\%$ ), але все ж не досягав рівня контролю.

Таким чином, застосування „Тіотриазоліну” та „Мілдронату” за умов довготривалої інтоксикації хлоридом ртуті приводило до нормалізації відсоткового вмісту багатьох клітин лімфоїдної популяції тимусу. Лише вміст малих лімфоцитів у внутрішній кортикальній зоні та мозковій речовині перевищував даний показник у контролі.

#### Висновки

1. За умов мікромеркуріалізму в різних морфологічних компартментах тимусу спостерігаються як прояви інтоксикації, так і компенсаторно-адаптаційні зміни.

2. Запобіжне введення „Тіотриазоліну” та „Мілдронату” нівелює токсичні прояви металу на морфометричні показники лімфоїдної популяції тимусу. Цей вплив більш виражений за тривалого (10 тижнів) надходження в організм щурів малих доз хлориду ртуті.

#### Перспективи подальших досліджень

В подальших дослідженнях буде проведено аналіз морфологічних змін тимусу під впливом інших фармакологічних препаратів.

#### Літературні джерела

Гордієнко В.В. Нейропротекторна дія тіотриазоліну за кадмієвої інтоксикації в щурів різного віку / Клінічна та експериментальна патологія.- 2004.- Т.3, №4.- С.10-15

Тяжелые металлы внешней среды и их влияние на репродуктивную функцию женщин / А.М.Сердюк, Э.Н.Белицкая, Г.Г.Паранько и др.- Днепропетровск: Арт-Пресс, 2004.- 147 с.

Сокурченко Л.М., Чайковський Ю.Б. Морфологічні зміни спинного мозку щурів за умов мікромеркуріалізму та використання терапії, що стимулює метаболічні процеси // Світ медицини та біології.- 2006.- Т.1.- С.52-57.

Експериментальне дослідження дії важких металів – ртуті, свинцю та марганцю – на розвиток адаптаційних реакцій у щурів різних вікових груп. / Трахтенберг І.М., Тичинін В.А., Короленко Т.К. та ін. // Тези доп. 2 з'їзду токсикологів України.- К., 2004.- С.33.

Effect of heavy metals on, and handling by, the kidney / Barbier O., Jacquillet G., Tauc M. et al. // Nephron. Physiol.- 2005.- Vol.99, №4.- P.105-110.

Mercury impairment of mouse thymocyte survival in vitro: involvement of cellular thiols / Mondal T.K., Li D., Swami K. et al. / J. Toxicol. Environ. Health.- 2005.- Vol.68, №7.- P.535-556.

**Литус В.И., Чайковский Ю.Б. Морфологические изменения тимуса крыс в условиях микромеркуриализма и использования метаболической и дезинтоксикационной терапии.**

**Резюме.** Целью проведенного исследования было установление особенностей структурных изменений паренхимы тимуса под влиянием небольших доз соединений ртути и при условии действия препаратов “Тиотриазолин” и “Милдронат” в хроническом эксперименте. В исследованиях на белых крысах, в условиях микромеркуриализма и его коррекции “Тиотриазолином” и “Милдронатом”, изучали различные морфофункциональные компартменты тимуса с помощью морфометрического анализа. Определение клеточного содержимого паренхимы тимуса проводили с помощью компьютерной системы цифрового анализа изображения VIDAS- 386 (Kontron Elektronik, Германия). Изучали общепринятые морфофункциональные зоны долек: субкапсулярную, внутреннюю кортикальную и мозговую. При условиях микромеркуриализма в различных морфофункциональных компартаментах тимуса наблюдаются как проявления интоксикации, так и компенсаторно-адаптационные изменения. Профилактические введения препаратов нивелировали токсические проявления металла на лимфоидную популяцию тимуса. Это влияние было более выраженным при длительном (10 недель) введении малых доз хлорида ртути.

**Ключевые слова:** тимус, хлорид ртути, микромеркуриализм, “Тиотриазолин”, “Милдронат”.