

УДК: 591.44:57.044

© Ковешніков В.Г., Лузін В.І., Волошин В.М., 2013

## ЕФЕКТИ ІНГАЛЯЦІЙНОГО ВПЛИВУ ЕПІХЛОРОГІДРИНУ НА ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ СЕЛЕЗІНКИ СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ

### Ковешніков В.Г., Лузін В.І., Волошин В.М.

ДЗ «Луганський державний медичний університет»

**Ковешніков В.Г., Лузін В.І., Волошин В.М.** Ефекти інгаляційного впливу епіхлоргідрину на гістоморфометричні показники селезінки статевозрілих щурів // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 1. – С. 87-90.

У роботі наведені результати вивчення гістологічної будови селезінки статевозрілих білих лабораторних щурів-самців після інгаляційної дії епіхлоргідрину у концентрації 10 мг/м<sup>3</sup>. Інгаляційний вплив епіхлоргідрину викликає активацію імунної системи, що характеризується вираженою гіперплазією білої пульпи селезінки зі збільшенням кількості та розмірів вторинних лімфатичних вузликів та розширенням гермінативних центрів останніх. Збільшення площі, яку займає біла пульпа, спостерігається у щурів з різним терміном після припинення дії вказаного чинника – з 1-го по 60-й день. При цьому різниця зазначеного показника є статистично вірогідною при рівні значущості  $p < 0,05$ . Під дією епіхлоргідрину у лімфатичних вузликах відмічається збільшення кількості лімфобластів. Відносна площа мантійної зони лімфатичних вузликів зменшується за рахунок збільшення площі гермінативного центру. Після інгаляційного впливу епіхлоргідрину у селезінці відмічається значне збільшення кількості сидерофагів.

**Ключові слова:** селезінка, біла пульпа, епіхлоргідрин.

**Ковешніков В.Г., Лузін В.І., Волошин В.Н.** Эффекты ингаляционного влияния эпихлоргидрина на гистоморфометрические показатели селезенки половозрелых крыс // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 1. – С. 87-90.

В работе приведены результаты изучения гистологического строения селезенки половозрелых белых лабораторных крыс-самцов после ингаляционного действия эпихлоргидрина в концентрации 10 мг/м<sup>3</sup>. Ингаляционное влияние эпихлоргидрина вызывает активацию иммунной системы, характеризующуюся выраженной гиперплазией белой пульпы селезенки с увеличением количества и размеров вторичных лимфатических узелков и расширением герминативных центров последних. Увеличение площади, которую занимает белая пульпа, наблюдается у крыс с разным сроком после прекращения действия указанного фактора - с 1-го по 60-й день. При этом разница указанного показателя является статистически достоверной при уровне значимости  $p < 0,05$ . Под действием эпихлоргидрина в лимфатических узелках отмечается увеличение количества лимфобластов. Относительная площадь мантимальной зоны лимфатических узелков уменьшается за счет увеличения площади герминативного центра. После ингаляционного воздействия эпихлоргидрина в селезенке отмечается значительное увеличение количества сидерофагов.

**Ключевые слова:** селезенка, белая пульпа, эпихлоргидрин.

**Koveshnikov V.G., Luzin V.I., Voloshin V.N.** Effects of inhaled epichlorohydrin on histomorphometric values of splenic tissue in adult rats // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 1. – С. 87-90.

The article represents data obtained from histological study of splenic tissue in adult male rats under influence of inhaled epichlorohydrin in concentration of 10 mg per cubic meter. Epichlorohydrin activates immunity processes manifested as marked hyperplasia of white pulp with increase of size and number of the secondary lymph nodules and widening of the germinative centers of the latter. Widening of the white pulp area is observed in different observation terms after cessation of experimental influence – from the 1<sup>st</sup> to the 60<sup>th</sup> days. Above mentioned index is statistically significant with significance level of  $p < 0,05$ . Epichlorohydrin also causes increase of lymphoblasts number in lymphatic nodules. Area of mantle zone in lymph nodules decreases due to widening of germinative center. Epichlorohydrin inhalation also results in marked increase of siderophages in spleen.

**Key words:** spleen, epichlorohydrin, histology.

Структура органів імунної системи організму є досить вразливою до дії різних чинників. Це доведено у багатьох працях вітчизняних [2, 3, 4] та закордонних [8] дослідників. Більшість класів хімічних речовин (важкі метали, бензол, пентахлорфенол, поліциклічні ароматичні вуглеводні, діоксини і пестициди), які забруднюють навколишнє середовище, залучаються до модуляції функції імунної системи. Результати великої кількості наукових праць представляють цінні дані, що стосуються небезпеки та механізмів дії екополотантів на організм людини та тварин.

Поряд з тим, що будова органів імунної системи в нормі висвітлена досить широко [1, 7], літературних даних щодо морфології лімфоїдних органів за умов дії хімічних речовин відносно мало.

Однією з поширених в хімічній промисловості сполук, що відноситься до II класу небезпеки, є епіхлоргідрин (ЕХГ) або 1-хлор-2,3-епоксіпропан (CAS RN 106-89-8). Спочатку він вивчався як потенційний анестетик, але був визнаний непридатним до цього через його по-разномуючі властивості. У теперішній час ЕХГ

разом з бісфенолами широко застосовується під час синтезу епоксидних смол. У 1970-х роках у деяких дослідженнях були показані канцерогенні ефекти ЕХГ. Згодом це припущення було підтверджене у дослідах з інгаляційного впливу ЕХГ. У щурів ЕХГ викликає безпліддя так само, як і альфахлорогідрин, що використовується для стерилізації щурів. Існують дані, що у людини ЕХГ може викликати пошкодження на рівні генів. Незважаючи на досить тривале та масштабне використання цієї хімічної сполуки у багатьох країнах світу [6], вивченню її інгаляційного впливу на організм в цілому та на органи імунної системи зокрема, з нашої точки зору, уваги приділялося мало.

**Метою** презентованого дослідження стало вивчення в динаміці морфогенезу селезінки після інгаляційного впливу на організм ЕХГ. Презентована робота виконана у відповідності з планом наукових досліджень ДЗ «Луганський державний медичний університет» та є частиною наукової теми кафедри анатомії людини «Морфогенез органів ендокринної, імунної та кісткової систем під хронічним впливом летучих компонентів епоксидних смол» (номер державної реєстрації – 0109U004615).

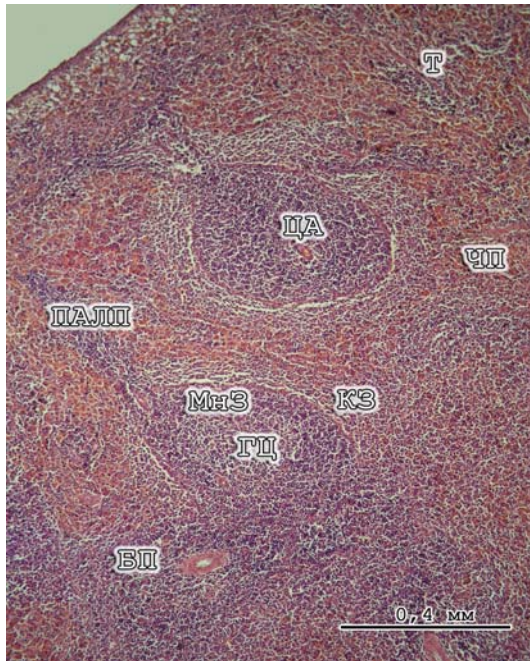
**Матеріал і методи дослідження.** Робота виконана на 60 білих лабораторних статевозрілих щурах-самцях з початковою масою тіла 130-150 г. Тварин отримували з віварію ДЗ «Луганський державний медичний університет». Дослідження проводилося у відповідності до етичних норм та рекомендацій щодо гуманізації роботи з лабораторними тваринами, які відображені у «Європейській конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших цілей» (Страсбург, 1985). Тварини були розділені на дві серії (по 30 тварин в кожній). Щури І серії зазнавали впливу ЕХГ у концентрації 10 мг/м<sup>3</sup> протягом 60 днів (5 годин/добу, 5 днів/тиждень). Такі умови створювалися за допомогою спеціальної установки, яка складається з затравочної камери, камери, у якій створювалася необхідна концентрація діючої речовини, датчика ЕХГ та допоміжного оснащення. Після закінчення вказаного терміну тварин виводили з експерименту шляхом дислокації шийних хребців під ефірним наркозом через 1, 7, 15, 30 та 60 днів (1, 2, 3, 4 та 5 групи відповідно), дотримуючись «Методичних рекомендацій з виведення лабораторних тварин з експерименту». Контрольну серію склали щури, яким створювалися такі ж умови, що і тваринам І серії, за виключенням контакту з ЕХГ. Фіксацію селезінки та виготовлення парафінових блоків з розміщеними в них частинами органу виконували у відповідності до загальноприйнятих методик. Виготовляли поперечні зрізи селезінки в ділянці воріт органу товщиною 4-5 мкм. Для вивчення структурних компонентів селезінки (біла (БП) та червона (ЧП) пульпи, лімфатичні вузлики (ЛВ), періартеріальна лімфоїдна піхва (ПАЛП), гермінативні центри (ГЦ), мантийна зона (МнЗ) та

крайова зона (КЗ) вузликів, центральна артерія (ЦА), трабекули (Т)) гістологічні зрізи забарвлювали гематоксином та еозинном. Деталі гістологічної будови органу вивчали за допомогою цитоморфологічного комплексу на базі мікроскопа Olympus BX 41. Разом з фотознімками гістологічних об'єктів здійснювали фотозйомку об'єкт-мікрометра. Площі різних структурних компонентів селезінки визначали за допомогою програми «ImageJ 1.46j», а кількісні показники обробляли з застосуванням методів варіаційної статистики за допомогою програми «Statistica 6.0». Достовірною вважали статистичну похибку менше 5% ( $p < 0,05$ ). Критичним вважали  $t$ -критерій Ст'юдента – 2,23.

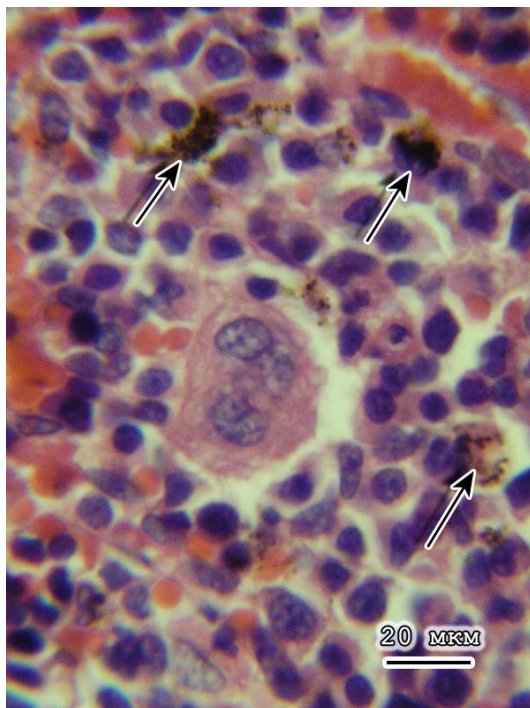
**Результати дослідження та їх обговорення.** Процеси перебудови в селезінці щурів, які зазнавали впливу ЕХГ, мали певну динаміку. Якщо в ранні терміни після припинення дії чинника були зареєстровані гіперпластичні прояви, що супроводжуються збільшенням площі структурних компонентів функціональних ділянок БП, то пізніше різниця з даними відповідних груп контрольної серії дещо зменшувалася. На гістологічних препаратах селезінки щурів, які зазнавали впливу ЕХГ, подібно до таких у щурів контрольної серії, добре видно розподіл органу на білу пульпу, червону пульпу та сполучнотканинні структури – капсулу та трабекули. БП представлена ПАЛП і ЛВ, що оточені досить широкою крайовою зоною. БП виглядає більш темною у порівнянні з ЧП завдяки тому, що вона переважно представлена скупченням лімфоцитів (рис. 1). У порівнянні з контрольними даними відзначається більша кількість лімфатичних вузликів на зрізах селезінки щурів І серії. Більшу частину вузликів складають вторинні вузлики з гермінативним центром. У гермінативних центрах лімфатичних вузликів збільшується кількість лімфоцитів і великих лімфоцитів. Це – клітини лімфоїдного ряду розміром 12-15 мкм з круглим або дещо овальним ядром. Цитоплазма цих клітин базофільна з гарно вираженою перинуклеарною зоною. На периферійних ділянках ГЦ зустрічаються відростки фолікулярних дендритних клітин. Гермінативні центри оточені мантийною зоною, що представлена переважно малими лімфоцитами та макрофагами. У складі всіх зон лімфатичних вузликів переважають лімфоцити, в меншій кількості спостерігаються ретикулярні та плазматичні клітини.

Більше макрофагів виявляється у ГЦ та у крайовій зоні ЛВ (рис. 2). При чому в кожній зоні співвідношення цих клітин дещо відрізняються. В У щурів І серії спостерігається збільшення кількості сидерофагів. Найбільше число лімфоцитів зустрічається в періартеріальній зоні, а найменше – в крайовій; ретикулярні клітини в максимальній кількості містяться в ГЦ, інші зони містять приблизно однакову їх кількість. У щурів, які зазнавали впливу ЕХГ, відмічається підвищена макрофагальна реакція. В

макрофагах знаходяться фагоцитовані часточки лімфоцитів, що загинули. Наявність досить великої кількості макрофагів у різних ділянках БП приводе до «поїденого міллу» вигляду пульпи.



**Рис. 1.** Зріз селезінки щура 1 групи серії I; По-значення – в тексті. Зabarвлення - гематоксилін та еозин.



**Рис. 2.** Зріз селезінки щура 1 групи серії I; Стрілки вказують на макрофаги. Зabarвлення - гематоксилін та еозин.

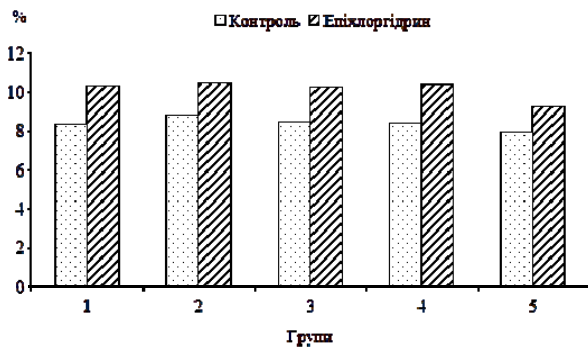
Лімфатичні вузлики БП, подібні до півкуль, розташовані переважно у місцях біфуркації центральної артерії. Останні безпосередньо оточені ПАЛП, серед клітинного компоненту

якої знаходяться концентрично розташовані шари ретикулярних волокон та ретикулярних клітин. Остання складається з внутрішнього (більш темного за рахунок наявності тут переважно малих лімфоцитів) та зовнішнього (складається з малих, середніх Т-лімфоцитів та В-лімфоцитів) шарів. Площа БП селезінки щурів, які зазнавали впливу ЕХГ, перевищувала значення контролю в усіх групах тварин. Щури, які були виведені з експерименту через 1 та 7 днів після припинення дії ЕХГ, мали площу БП на рівні 57,54% та 62,39%, що на 36,54% ( $p < 0,001$ ) та 38,03% ( $p < 0,001$ ) відрізнялося від показників контролю. У тварин 3 та 4 груп ця різниця була зареєстрована на рівні 33,78% ( $p < 0,001$ ) і 27,17% ( $p < 0,001$ ) відповідно. В 5 групі тварин зазначений показник виявився на рівні 61,14%, що на 31,23% ( $p < 0,001$ ) відрізнявся від значень контролю. Частка, що належала ЧП, була нижче даних контролю у всіх групах тварин, які зазнавали впливу ЕХГ. Площа ЧП в 1 та 2 групах тварин I серії складала відповідно 35,77% та 30,62%, що на 30,46% ( $p < 0,001$ ) та 26,20% ( $p < 0,001$ ) нижче контролю. Через 15 та 30 днів після припинення дії ЕХГ відносна площа ЧП становила відповідно 31,39% та 34,29%, що відрізнялося від контрольних значень на 33,45% ( $p < 0,001$ ) та 27,47% ( $p < 0,001$ ). В 5 групі тварин було зафіксовано статистично вірогідну різницю між даними контрольної та I серії стосовно зазначеного показника. Вона складала 31,51% ( $p < 0,001$ ).

Індекс БП/ЧП у щурів, які зазнавали впливу ЕХГ, підвищувався. Якщо в контрольній серії він становив від 0,82 (в 1 групі) до 0,99 (в 3 та 5 групах), то в I серії він був на рівні 1,62, 2,04, 2,00, 1,73 та 1,92 в 1-5 групах відповідно. У всіх цих випадках різниця між даними відповідних груп контрольної та експериментальної серій була статистично вірогідною ( $p < 0,001$ ), що дозволяє підтвердити альтернативну гіпотезу. Площа сполучної тканини на зрізах селезінки через 1 та 15 днів після припинення дії ЕХГ виявився на рівні 6,69% та 7,30%, що було вище контрольних значень на 4,21% ( $p = 0,122$ ) та 4,29% ( $p = 0,262$ ).

Відносна площа ГЦ в структурі лімфатичного вузлика (рис. 3) селезінки щурів, які зазнавали впливу ЕХГ збільшувалася. В 1, 2 та 3 групах тварин експериментальної серії зазначений показник було зафіксовано на рівні 10,32%, 10,46% та 10,29% відповідно. Це на 23,59% ( $p < 0,001$ ), 18,33% ( $p < 0,001$ ) та 21,06% ( $p = 0,001$ ) вище значень контролю. Через 30 та 60 днів після припинення дії ЕХГ відносна площа ГЦ в структурі лімфатичного вузлика щурів серії II складала вже 10,40% та 9,28%, що перевищувало контроль на 23,96% ( $p < 0,001$ ) та 16,73% ( $p < 0,001$ ) відповідно. Відносна площа мантійної зони ЛВ в 1 та 3 групах тварин I серії складала 31,52% та 31,72%, що нижче контрольних даних на 25,18% ( $p < 0,001$ ) та 24,53% ( $p < 0,001$ ) відповідно. Крайова зона лімфатичних вузликів зростала. Зростала також і її відносна площа у структурі

ЛВ. Через 1 та 30 днів після припинення дії ЕХГ зазначений показник був на рівні 58,17% та 57,94%, що на 17,47% ( $p=0,001$ ) та 14,19% ( $p=0,001$ ) вище показників відповідних груп контрольної серії.



**Рис. 3.** Вплив епіхлоргідрину на показники частки ГЦ у структурі лімфатичних вузликів статевозрілих щурів.

**Висновок:** Інгаляційний вплив епіхлоргідрину викликає активацію імунної системи, що характеризується вираженою гіперплазією білої пульпи селезінки зі збільшенням вторинних лімфатичних вузликів та розширенням гермінативних центрів останніх. Збільшення площі, яку займає біла пульпа, спостерігається у щурів з різним терміном після припинення дії вказаного чинника – з 1-го по 60-й день. При цьому різниця зазначеного показника є статистично вірогідною при рівні значущості  $p<0,05$ . В лімфатичних вузликах відмічається збільшення кількості лімфобластів. Відносна площа мантийної зони лімфатичних вузликів зменшується за рахунок збільшення площі гермінативного центру. Після інгаляційного впливу епіхлоргідрину відмічається значне збільшення кількості сидерофагів у селезінці.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вивченні змін у селезінці на ультрамікроскопічному рівні за умов дії епіхлоргідрину.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Волошин Н.А. Тимус новорожденных / Н.А. Волошин, Е.А. Григорьева. – Запорожье, 2011. – 154 с.
2. Кащенко С.А. Морфометрические показатели селезенки крыс после введения циклофосфана / С.А. Кащенко, М.В. Золотаревская // Украинський морфологічний альманах. – 2011. – Т.9, №2. – С. 31-33.
3. Ковешніков В.Г. Влияние настойки эхинацеи пурпурной на показатели органометрии селезенки крыс, находившихся в условиях воздействия толуола / В.Г. Ковешніков, В.И. Лузін, В.Н. Волошин [и др.] // Матеріали докладов XI Конгресса Международной ассоциации морфологов (г. Самара, 29-31 мая 2012 г.). – Морфология. – 2012. – Т.141, №3. – С.78.
4. Сікора В.З. Уразливість органів імунної системи гризунів до експозиції токсикантів протягом онтогенезу / В.З. Сікора // Украинський

морфологічний альманах. – 2012. – Т.10, №2. – С. 133-136.

5. Шепітько В.І. Морфофункціональна характеристика селезінки щура в нормі / В.І. Шепітько, В.В. Кацай, Є.В. Степук // Світ медицини та біології. – 2010. – № 3. – С. 99–101.

6. Шевченко А.М. Профилактика профинтоксикаций при производстве и применении эпоксицидных смол / А.М. Шевченко, А.П. Яворовский // К.: Здоров'я, 1985. – 96 с.

7. Cesta Mark F. Normal structure, function, and histology of the spleen / Mark F. Cesta // Toxicol. Pathol. – 2006. – № 34. – P. 455-465.

8. Rats with a glucocorticoid-induced catabolic state show symptoms of oxidative stress and spleen atrophy: the effects of age and recovery / A. Orzechowski, P. Ostaszewski, J. Wilczak [et al.] // Journal of veterinary medicine. A, physiology, pathology, clinical medicine. – 2002. – Vol.49(5). – P. 256-263.

Надійшла 17.01.2013 р.  
Рецензент: проф. С.А.Кащенко