

Лебедев С.В., Барышева Е.С., Сизова Е.А., Малышева Н.В., Полякова В.С.\*, Гречушкин А.И.  
Институт биоэлементологии Оренбургского государственного университета,  
\*Оренбургская государственная медицинская академия

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РЕОРГАНИЗАЦИЯ ОРГАНОВ-МИШЕНИЙ ЖИВОТНЫХ ПРИ РАЗЛИЧНОЙ МИКРОНУТРИЕНТНОЙ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ РАЦИОНОВ

Представлены результаты комплексных исследований по изучению влияния токсичных (Cd, Pb) и эссенциальных (I, Se, Zn) элементов на организм животных. Установлены специфические особенности действия оцениваемых веществ, в том числе корректирующее влияние эссенциальных микроэлементов на фоне воздействия токсических на микроструктуры печени, щитовидной железы и яичников.

Воздействие микроэлементов на системы и органы неоднозначно. По своим биологическим эффектам группы химических элементов способны выступать как эссенциальные, так и токсические. Дестабилизирующим фактором в обмене эссенциальных элементов является избыточное поступление в организм тяжелых металлов, что усугубляется наличием дефицита этих веществ, обладающих способностью нивелировать вредное действие последних. Такое действие выражается в проявлении эффектов токсичности, затрагивающих основные функции живых организмов, а степень их влияния оценивается на основании функциональных изменений в органах-мишенях, такими как печень, щитовидная железа и яичники.

Печень является главным органом биотрансформации и депонирования основных нутриентов поступающих в организм с пищей в ходе которой включается значительное количество клеточных ферментных систем. Для нормальной деятельности последних необходимо поступление в организм оптимального количества эссенциальных микроэлементов (цинка, селена, йода и т. д.). Недостаток последних в пищевом рационе приводит к нарушению деятельности ферментных систем клеток, а вместе с тем на перераспределение веществ по органам и тканям.

Деятельность яичника как эндокринного органа зависима от функциональной активности как центрального, так и периферического звеньев эндокринной системы. Так, щитовидная железа, по мнению Т.Г. Боровой (1996) – модулятор гистофизиологии яичников. Недостаток или избыток в рационе йода, являющегося активной составля-

ющей тиреоидных гормонов, сказывается на деятельности щитовидной железы. В литературе имеются сведения, касающиеся морфо-функциональной реорганизации яичников при недостатке или избытке в рационе животных йода [3, 6, 7]. Известно, что в метаболизме последнего принимает участие селен [2]. При недостатке селена ингибируется активность дийодиназы и появляются симптомы снижения функциональной активности щитовидной железы, приводящие к нарушению фертильности [5]. В условиях эксперимента на крысах при гипоселенозе выявлено нарушение фолликулогенеза, деструктивные изменения фолликулов, очаги микронекрозов в желтых телах [4].

Цель исследований – изучить морфо-функциональные особенности эндокринных и паренхиматозных органов при воздействии токсичных и эссенциальных микроэлементов.

### Материалы и методы исследований

Исследования проведены в условиях экспериментально-биологической клиники (вивария) Оренбургского государственного университета на крысах – самках линии Вистар. Для проведения эксперимента было отобрано 80 двухмесячных крыс, которых в течение трех недель содержали на рационе с использованием специально приготовленного полированного риса (варка в течение 15 мин в дистиллированной воде с последующим удалением отвара и промывкой). Для профилактики авитаминозных состояний у животных, в соответствии с рекомендациями Института питания РАМН, в рацион вводили комплекс витаминов. Поение осуществлялось бидистиллированной водой.

После периода выравнивания, животные методом пар-аналогов были разделены на четыре группы: одна контрольная и три опытных (n=20)

Различия между группами заключались в том, что в условиях основного учетного периода, подопытным крысам I опытной группы в полусинтетический рацион, разработанный Институтом питания РАМН (2001) вводили свинец в виде его сернокислой соли – 0,004 мг/гол · сут, и сернокислый кадмий – 3 мг/гол · сут. В рацион II группы помимо перечисленных токсикантов вводили комплекс эссенциальных элементов – йод в виде йодистого калия в дозе 0,332 мкг/гол · сут, селен – в виде селенопирана – 0,0001 г/гол · сут и цинк – в виде сернокислого цинка – 0,042 мг/гол · сут [9]. В рацион III группы вводили комплекс эссенциальных элементов в том же количестве. Контролем была группа животных, которая получала полнорационный комбикорм.

Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР №179 от 10.10.1983).

Биологическое действие изучаемых микроэлементов оценивали на основе гистологических показателей. Для этого выделялась щитовидная железа вместе с гортанью, печень и яичники. Для световой микроскопии объекты помещали в 10% нейтральный формалин и фиксировали при комнатной температуре в течение суток. После стандартной гистологической проводки материал заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Для выявления гликогена и гликопротеинов печени использовали гистохимическую ШИК – реакцию. Материал исследован с помощью методов световой микроскопии. С помощью окуляр-микрометра измеряли величину фолликулов щитовидной железы, высоту тироцитов, диаметр их ядер. С помощью окулярной точечной сетки определяли относительный объем основных тканевых компонентов щитовидной железы (эпителий, коллоид, строма), количество фолликулов на условной единице площади,

относительный объем фолликулов средних размеров и крупных кистоподобных, относительную объемную плотность стероидпродуцирующих структур яичника [8].

Для определения функционального состояния щитовидной железы исследовали гормоны трийодтиронин (Т3) и тетрайодтиронин (Т4) методом иммуноферментного анализа (ИФА) при помощи наборов фирмы «Иммунотех» (г. Москва).

Все количественные показатели обрабатывали методом вариационной статистики с использованием Т-критерия Стьюдента.

### **Результаты и их обсуждение**

Наши исследования показали, что у контрольной группы животных в печени распределение гликогена, выявляемого ШИК-реакцией и подтверждаемого контрольным окрашиванием после обработки амилазой, мало зависимо от внутренней локализации гепатоцитов. Реакция оказывается различной как среди центрлобулярных так и периферических гепатоцитов. Расположение клеток богатых гликогеном мозаичное.

Поступление в организм экспериментальных животных солей тяжелых металлов (свинца и кадмия) при использовании сбалансированного рациона с минимизированным количеством эссенциальных микроэлементов в гепатоцитах исчезает гликоген, в отдельных долях наблюдается вакуолизация и некроз центрлобулярных гепатоцитов. Местами обнаруживаются значительные по размерам зоны некроза. Капилляры внутри печеночных долек расширены. В центрлобулярной зоне увеличивается количество двуядерных клеток, составляющих в ней  $5,7 \pm 0,6\%$ , что достоверно отличается от их числа у контрольной группы животных, составляющих  $1,35 \pm 0,5\%$ . В сосудах, входящих в состав печеночных триад наблюдается стаз. В соединительной ткани вокруг печеночных триад наблюдается лимфоидная инфильтрация.

Для образцов печеночной ткани полученных от животных II опытной группы характерно отсутствие гликогена в клетках, в результате его мобилизации, что является результатом протективной роли эссенциальных элементов. В гепатоцитах на месте вы-

шедшего гликогена обнаруживаются большое количество вакуолей. Если учесть участие гликогена в анаэробном гликолизе, а также в образовании метаболитов типа глюконовой кислоты, участвующей в детоксикации, то данный феномен следует рассматривать как проявление механизма адаптации. Синусоидные капилляры расширены. Структура печеночных балок не нарушена. Зоны некроза в печеночных дольках не обнаруживаются.

При введении в рацион комплекса эссенциальных микроэлементов цитоплазма большинства гепатоцитов обогащается гликогеном. ШИК-реакция более выражена, чем в контроле особенно среди периферических гепатоцитов. Хотя в центрлобулярных гепатоцитах реакция менее выражена, резко выраженной разницы в окраске между центрлобулярными и периферическими клетками не наблюдается. По сравнению с контролем среди гепатоцитов увеличивается число клеток с средними и большими по объему ядрами, увеличивается в них число ядрышек, что свидетельствует об интенсификации структурно-метаболических процессов в клетках. Структура печеночных балок не нарушена.

В щитовидной железе при поступлении в организм животных токсичных доз Cd и Pb наблюдается умеренное расширение капилляров, приводящее к увеличению относительной объемной плотности стромы. Между фолликулами много тучных клеток и лимфоцитов, а так же идет активная пролиферация интерфолликулярных клеток. В мелких фолликулах много полостей резорбции. Значительно изменена форма фолликулов от округлых до вытянутых структур. Большинство фолликулов содержит коллоид разной степени плотности. Достоверно увеличивается относительная плотность крупных кис-

топодобных фолликулов по сравнению с группой контроля ( $p < 0,05$ ). Высота тироцитов и объем их ядер ниже показателей контрольных животных в большинстве фолликулов железы ( $p < 0,05$ ). В отдельных фолликулах повреждается базальная мембрана, происходит некроз и слушивание тиреоидного эпителия. В просвете фолликулов появляются лимфоциты.

При введении в рацион комплекса эссенциальных микроэлементов на фоне поступления тяжелых металлов уменьшается относительный объем крупных кистоподобных фолликулов по сравнению с I группой ( $p < 0,05$ ). Структурная характеристика основной массы тироцитов свидетельствует об умеренной функциональной активности органа, что подтверждается уровнем в крови йодсодержащих гормонов (табл.1).

В III опытной группе тироциты в большинстве фолликулов кубические. Морфометрические показатели клеток приближаются к показателям контрольных животных. В просвете фолликулов много резорбционных полостей. Структурная реорганизация щитовидной железы при добавлении к сбалансированному рациону комплекса микроэлементов свидетельствует о повышении функциональной активности органа, что подтверждается достоверно повышенным в крови по сравнению с контролем уровнем йодсодержащих гормонов, особенно более активного – трийодтиронина.

В яичниках животных контрольной группы, находящихся в фазе диэструса, обнаружены несколько генераций желтых тел в разных фазах их деятельности, являющихся преобладающими среди всех стероидпродуцирующих структур. Среди фолликулов доминирует пул растущих и антральных. В отдельных фолликулах мембраны разрыхляются, контуры их становятся нечеткими, в

Таблица 1. Средние значения тиреоидных гормонов у обследованных групп животных

Показатели	Группы			
	Контрольная	I опытная (ПР+Cd,Pb)	II опытная (ПР+Cd,Pb+I,Se,Zn)	III опытная (ПР+I,Se,Zn)
T4 (нмоль/л)	20,24±1,9	24,9±0,3*	20,54±4,3	24,9±3,9*
T3 (нмоль/л)	3,35±0,27	6,64±1,6*	4,02±1,03	6,9±0,2*

Примечание: \* – различия с показателями контроля достоверны при  $p < 0,05$ .

фолликулярном эпителии возрастает число клеток с пикнотизированными ядрами и он отделяется от theca interna, т. е. начинается атрезия.

При добавлении к полусинтетическому рациону свинца и кадмия в яичниках животных I опытной группы выявляется полнокровие, отек интерстиция. В органе выявляются кистоподобные структуры, относительная плотность которых составляет  $19,5 \pm 3,1\%$  (табл. 2), идет активный процесс атрезии фолликулов. Этот процесс в основной массе фолликулов начинается от их базальной мембраны и распространяется к центру. В процессе происходящей атрезии в фолликулах на фоне базальной мембраны, не утратившей своей целостности, происходит лютеинизация клеток фолликулярного эпителия – образование лютеинподобных клеток.

Обращает на себя внимание тот факт, что описанные изменения с фолликулами происходят на фоне преобладающего количества в органе желтых тел, а их относительная плотность среди всех стероидпродуцирующих структур на  $24,1\%$  меньше, чем в контрольной группе. Достоверное увеличение у этой экспериментальной группы атретических тел, уменьшение количества растущих и антральных фолликулов с признаками лютеинизации фолликулярных клеток, увеличение стромы за счет полнокровия и отека свидетельствует не только о нарушении стромально-фолликулярных ауто- и паракринных связей, но следует полагать и о нарушении центрального звена регуляции, т. к., кадмий и свинец обнаруживается не только в тканях гонад, но и в гипоталамусе и в гипофизе [10].

В яичнике II опытной группы животных достоверно, по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ) и с I группой ( $p < 0,05$ ), увеличивается относительная плотность растущих фолликулов на  $6,9\%$  и  $3,6\%$  и атретических тел на  $27,5\%$  и  $12,7\%$  соответственно. Кистоподобные образования не обнаруживаются. Наряду с процессами атрезии активизируется и процесс овуляции, о чем свидетельствует факт достоверного увеличения на  $7\%$  ( $p < 0,01$ ) по сравнению с I группой, и нередкое обнаружение половых клеток в рядом расположенных срезах яйцевода. В яичнике обнаруживаются тела в стадии пролиферации и васкуляризации.

Добавление к полусинтетическому рациону III опытной группы комплекса эссенциальных микроэлементов – приводит к увеличению плотности желтых тел и фолликул. Относительная плотность растущих и антральных фолликулов приближается к показателям контрольной группы животных. Оптимальное соотношение перечисленных стероидпродуцирующих структур яичника, безусловно, сказывается на выполнении им герминативной и эндокринной функций.

Таким образом, из результатов комплексных исследований по изучению влияния токсических и эссенциальных минеральных веществ, при различном их содержании в рационе на морфо-функциональную характеристику печени, щитовидной железы и яичников следует:

1. Поступление в организм животных токсических элементов приводит к обеднению гепатоцитов гликогеном, или полному его исчезновению; к наступлению вакуолизации и некроза в них и изменении диа-

Таблица 2. Относительная объемная плотность стероидпродуцирующих структур яичников крыс в конце эксперимента, %

Группа животных	Желтые тела	Фолликулы	Атретические тела	Интерстиций	Кистозные полости
контрольная	$65,3 \pm 3,2$	$2,23 \pm 1,8$	$2,15 \pm 0,5$	$10,35 \pm 3,1$	0
I опытная (PP+Cd,Pb)	$41,2 \pm 1,8^{***}$	$5,6 \pm 0,7^{***}$	$16,9 \pm 2,1^{***}$	$16,8 \pm 2,1$	$19,5 \pm 3,1$
II опытная (PP+Cd,Pb+I,Se,Zn)	$48,2 \pm 1,2^{***}$ (**)	$9,2 \pm 1,1^{***}$ (*)	$29,6 \pm 4,2^{***}$ (*)	$14,8 \pm 1,4$	0
III опытная (PP+I,Se,Zn)	$77 \pm 4,7$	$10,2 \pm 1,6^{***}$	$5,1 \pm 1,2$	$6,8 \pm 0,9$	0

Примечание: \* обозначена достоверная разница  $p < 0,05$ ,

\*\* –  $p < 0,01$ ,

\*\*\* –  $p < 0,001$  с контрольной группой, в скобках – I и II опытных групп

метра сосудов микроциркуляторного русла. В щитовидной железе увеличивается относительная плотность крупных кистоподобных фолликулов и уменьшается высота тироцитов и объем их ядер. В яичниках замедляется процесс овуляции, способствуя развитию кистоподобных полостей на месте фолликулов. Увеличивается относительная плотность атретических тел и интерстиция, при уменьшении числа фолликулов. Выявленные структурно-функциональные сдвиги в тканях яичника, вероятно, связаны с включением в адаптационный процесс гормонов переднего гипоталамуса, регулирующих деятельность яичника.

2. Введение комплекса эссенциальных микроэлементов на фоне воздействия токсических доз кадмия и свинца проявляется ва-

куолизацией гепатоцитов, отсутствием в них гликогена в результате его мобилизации, активизацией процессов овуляции, уменьшением количества кистозных полостей яичника, уменьшением относительного объема крупных кистоподобных фолликулов щитовидной железы.

3. Исключение из рациона солей тяжелых металлов приводит к повышению функциональной активности органов, что подтверждается их структурной реорганизацией: значительным обогащением гликогеном периферических гепатоцитов, возрастанием объема их ядер и количества ядрышек, увеличением высоты тироцитов и объема их ядер, повышением уровня йодсодержащих гормонов, повышением плотности желтых тел, растущих и антральных фолликулов яичника.

**Список использованной литературы:**

1. Боровая Г.Т., Волкова О.В., Косаревиц С.Б. Щитовидная железа как модулятор развития и гистофизиологии яичников // Успехи физиологических наук, 1996. – Т. 27. – №1. – С. 47-59.
2. Боярский К.Ю. Фолликулогенез и современная овариальная стимуляция // Проблемы репродукции, 2002. – Т. 8. – №3. – С. 36-43.
3. Волкова О.В. Функциональная морфология женской репродуктивной системы. – М.: Медицина, 1983.
4. Золотухина В.Н. Половая дифференцировка мозга и наследственная гиперандрогения у самок крыс. – В кн.: Тезисы докладов III Всесоюзной конференции по нейроэндокринологии. – Ленинград, 1988. – С. 284.
5. Ковальский Г.Б., Китаев Э.М., Рыжовский Б.Я., Мельникова Л.М. Структурные основы генеративной и эндокринной функций яичников в норме и патологии. – СПб, 1996. – 326 с.
6. Розен В.Б. Основы эндокринологии. – М.: Изд.-во МГУ, 1994.
7. Рыжаковский Б.Я., Смиренина И.В., Шапиро Е.П. Сравнительная морфо-функциональная характеристика яичников женщин репродуктивного возраста в норме и при хроническом ановуляторном бесплодии // Морфология, 2003. – №6. – С. 73-77.
8. Стефанов С.Б. Окулярная вставка для полных стереологических измерений. 1974, Т. 16. – №11. – С. 1439-1442.
9. Эмсли Дж. Элементы. – М.: Мир, 1993.
10. Miller R.K, Bellinger D. Metals. In: Occuhat. Environ. Reprod. Hazards. Baltimore, Williams and Wilkins, 1993 – 232-252.