

УДК 614.71:617.7-092.9

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРЫ НА МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ГЛАЗА И КРИСТАЛЛОГРАФИЧЕСКУЮ КАРТИНУ СМЫВОВ СКЛЕРЫ ГЛАЗА КРЫС

© 2013 г. Т. И. Оконенко

Новгородский государственный университет им. Ярослава Мудрого,
г. Великий Новгород

В многочисленных эпидемиологических исследованиях в России и за рубежом доказано негативное влияние различных факторов окружающей среды на здоровье населения [3–5, 8]. Основными соединениями, загрязняющими атмосферу, являются оксиды азота, оксид углерода, формальдегид [6]. Названные вещества являются основными компонентами выхлопных газов автомобильных двигателей. Загрязнители атмосферного воздуха оказывают раздражающее действие на орган зрения человека, однако их острые и хронические токсические эффекты до конца не установлены [11].

Целью данной работы явилось изучение патогенетических механизмов действия выхлопных газов дизеля на ткани глаз крыс в условиях эксперимента.

Задачи: 1. Выявить электронно-микроскопические изменения, происходящие в склере и в хориокапиллярном слое подопытных животных под воздействием выхлопных газов дизеля. 2. Изучить кристаллографическую картину склеры глаз крыс, учитывая, что кристаллография является чувствительным и информативным методом исследования биологических субстратов при различных заболеваниях.

Методы

Материалом для экспериментальных исследований послужили 200 беспородных половозрелых белых крыс массой 80–100 г в возрасте 2–3 месяца (из них 100 особей составили контрольную группу).

Опытных животных каждой группы подвергали действию выхлопных газов дизеля (ВГД) в специальных камерах по 6 часов в день 5 дней в неделю в течение четырех месяцев. Камеры емкостью 200 л имели смотровое окно, закрывались герметически и позволяли производить затравливание животных через кожу и органы дыхания. Крысы находились в цельнометаллических клетках из нержавеющей стали, помещавшихся внутрь камеры, в которую подавали смесь атмосферного воздуха и ВГД. Животные, подвергающиеся затравке, занимали не более 5 % объема камер. Для получения ВГД использовали дизельный двигатель Д-21 и стандартное дизельное топливо. Выхлопные газы дизеля вводились через штуцеры в смеситель, где они смешивались с приточным атмосферным воздухом. Дополнительно смешивание газов происходило внутри камеры вентилятором С 4-70. Для предотвращения утечки вредных газов из камеры в ней создавали отрицательное давление 1–2 мм вод. ст. Концентрация в камерах оксида углерода определялась с помощью автоматического газоанализатора ГМК-3 непрерывного действия на самописце ИП-23 и составляла 7 ПДК атмосферного воздуха по угарному газу (21 мг/м^3). Содержание диоксида азота поддерживалось в концентрации $1,54 \text{ мг/м}^3$, диоксида серы — $0,073 \text{ мг/м}^3$. Анализ уровней диоксида азота и диоксида серы

Электронно-микроскопический анализ тканей глаза экспериментальных животных показал, что токсическое действие выхлопных газов дизеля приводит к ангиопатии и повышению проницаемости сосудистой стенки. Параллельно формируются компенсаторно-приспособительные механизмы, такие как изменение структуры эпителия и фибробластов. Менялась и кристаллографическая картина: лучи, отходящие от центра кристаллизации, истончались и фрагментировались.

Ключевые слова: экспериментальные животные, выхлопные газы дизеля, кристаллографическая картина, фибробласты, склера, капилляры

проводился отбором проб воздуха из камеры на твердодопленочные сорбенты с последующим химическим анализом (еженедельно).

Температура воздуха в камерах поддерживалась на уровне 20–22 °С, относительная влажность колебалась в пределах 50–60 %. Контрольных животных содержали в таких же камерах, но без воздействия ВГД, с подачей атмосферного воздуха.

Сроки изучения токсического влияния выхлопных газов дизеля на ткани глаза: 2 недели, 1, 2, 3 и 4 месяца. Эксперименты над животными проводились в соответствии с Европейской конвенцией о защите животных, используемых в экспериментальных целях (директива 86/609 ЕЕС) и «Правилами проведения исследований с использованием экспериментальных животных» Министерства здравоохранения России. Крыс умерщвляли декапитацией в условиях эфирного наркоза в отдельной комнате в отсутствие других животных.

Крысы содержались в одинаковых условиях ухода и пищевого режима, им был обеспечен свободный доступ к пище и воде.

Для электронно-микроскопического исследования глаз крысы фиксировали в 3,5 % глутаральдегиде, отсепааровывали конъюнктиву, рассекали роговицу, удаляли хрусталик, выделяли внутренние оболочки [7], проводили последующую фиксацию в 1 % четырехоксида осмия и обрабатывали по общепринятой методике. Ультратонкие срезы контрастировали цитратом свинца и уранилацетатом.

Для кристаллографического исследования готовился смыв со склеры энуклеированного глаза [10]. Глаз погружали в 2 мл изотонического раствора хлорида натрия на 1,5–2 часа, затем извлекали, а из смыва ткани готовили мазки на предметном стекле в термостате при температуре 37 °С и постоянной влажности, создаваемой динамической системой $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. После испарения жидкости на стекле оставался «соляной налет», который изучали под микроскопом под увеличением в 10 и 56 раз. В качестве контроля в термостат помещали мазок с физиологическим раствором.

Результаты

В эндотелии капилляров конъюнктивы животных через 2 недели после затравки обнаруживалась очаговая дезорганизация органелл, в эпителиальных клетках — увеличение количества рибосом на мембранах эндоплазматической сети.

В последующие периоды эти изменения нарастали. Через 4 месяца после токсического воздействия встречались клетки, содержащие большое количество митохондрий, некоторые из них были разрушены; на месте разрушенных органелл определялись вакуоли. Часть клеток эпителия находилась в состоянии апоптоза.

Выявлено нарушение рельефа сосудистой стенки, появлялись ее выпячивания. Расширились межэндотелиальные стыки.

Среди клеточных элементов склеры у здоровых животных преобладали фибробласты — фиброциты, основная функция которых — регуляция метаболизма и механической стабильности соединительной ткани. Клетки характеризовались крупным ядром и узким поясом цитоплазмы. Цитоплазма бедна органоидами, пластинчатый комплекс и эндоплазматический ретикулум выражены слабо. Спустя 2 недели от начала затравки крыс на мембранах эндоплазматической сети содержалось большое количество рибосом.

В склере животных, подвергшихся 2-месячной затравке, содержится большое количество клеточных элементов, имеющих измененную клеточную структуру. Цитоплазма фибробластов местами просветлена, нередко в ней обнаруживаются запустевшие участки. Характерным признаком было краевое расположение гетерохроматина. Встречаются фибробласты, содержащие большое количество митохондрий, часть из которых в стадии разрушения, их матрикс просветлен (рис. 1). На месте разрушенных жизненно важных органелл определялось большое количество вакуолей, окруженных одноконтурной мембраной. Пространство между вакуолями заполнено мелкогранулярным осмофильным веществом.

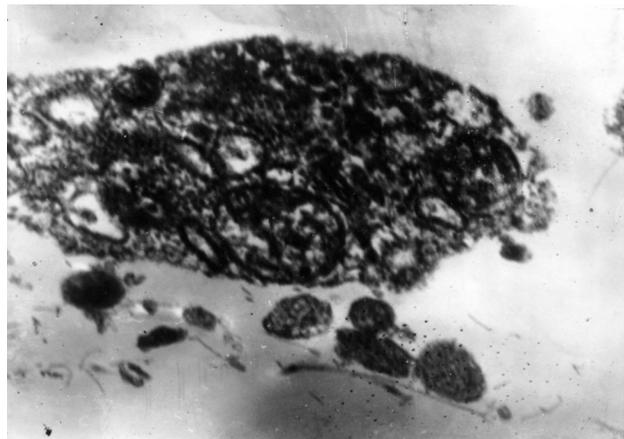


Рис. 1. Фибробласт, содержащий большое количество митохондрий, $\times 100$

Ультраструктурная организация коллагенового каркаса склеры также претерпевала изменения, что характеризовалось неравномерным утолщением и набуханием коллагеновых волокон. В волокнах между фибриллами отмечалось появление увеличенного пространства, как будто раздвигающего их и нарушающего нормальное расположение (рис. 2).

Аналогичное определялось спустя 4 месяца после токсического воздействия. В структуре фибробластов в этот период выявлялись более глубокие изменения. Цитоплазма их просветлена, встречались клетки в состоянии апоптоза. Оболочка ядра фибробласта извилиста, в его кариоплазме располагаются осмофильные глыбки гетерохроматина. Фибробласты, как правило, не контактируют с коллагеновыми волокнами.

В цитоплазме отдельных эндотелиальных клеток хориокапиллярного слоя через 2 недели по-

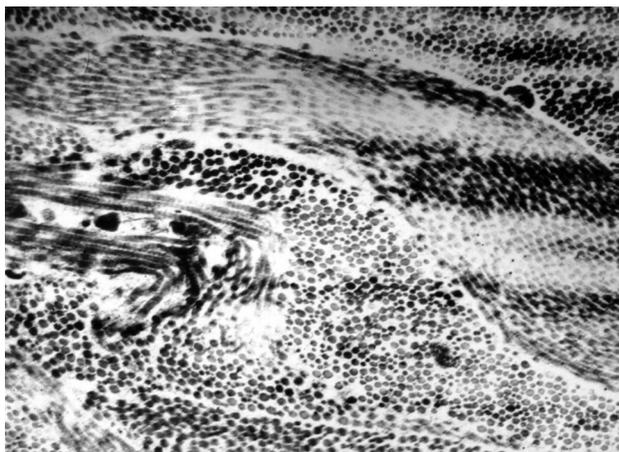


Рис. 2. Разобшение коллагеновых волокон через 2 месяца после затравки крыс, × 100

сле затравки животных определялась выраженная очаговая дезорганизация органелл, формировались скопления разрушенных цитоплазматических структур клетки.

Через 2 месяца после токсического воздействия изменения в хориокапиллярах нарастали. Эндотелиальные клетки сосудов округлялись, в них появлялись миелоноподобные структуры, увеличивалось число митохондрий. Заметны изменения ядер, их укрупнение, приобретение ими неправильной формы, отчего ядерная мембрана становилась высокоскладчатой.

Не оставалась интактной и соединительная ткань, окружающая хориокапилляры. Встречалось беспорядочное расположение волокон, местами с вихревым построением, их фрагментация, на отдельных участках выявились фибриллы, теряющие осмиофильность. В более поздний период, через 4 месяца от начала эксперимента, часть клеток имела осмиофильную цитоплазму с вакуолизацией, обнаруживались микропиноцитозные пузырьки. Изменения ядра характеризовались неравномерным распределением хроматина с преимущественной концентрацией его около ядерной мембраны. В некоторых участках ядерной субстанции имелись просветления. Чаше встречались альтерированные эндотелиальные клетки. Выявлялись нарушения рельефа сосудистой стенки с появлением выпячиваний. Нередко определялся стаз эритроцитов.

Наряду с этим происходило оголение базальной мембраны, свидетельствующее об отторжении эндотелиальных клеток. В зонах, где эндотелий сохранялся, наблюдалось расширение межэндотелиальных стыков с проникновением в них гранул пигмента, что отражает инволютивные изменения.

Нарушение микроциркуляции заключалось и в агрегации эритроцитов.

В последние годы появился ряд работ, свидетельствующих о значительной роли кристаллографии как чувствительного и информативного метода исследования биологических субстратов при различных заболеваниях, так как кристаллические структуры

биожидкостей несут в себе важнейшую информацию о состоянии организма [2, 9].

Представлялось целесообразным изучить кристаллографическую картину биоптата тканей глаз крыс, возникающую под действием выхлопных газов дизеля.

Картина кристаллических налетов биологического субстрата у животных контрольной группы характеризовалась наличием кристаллов с центром кристаллизации и расходящимися от него лучами с дендритными отростками (рис. 3).

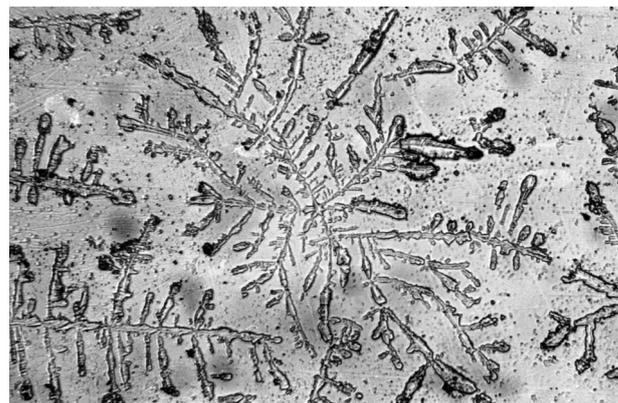


Рис. 3. Кристаллография биоптата глаза здоровых животных, × 10

Через 2 недели после начала эксперимента картина кристаллов несколько менялась. Центр кристаллизации сохранялся, но толщина лучей становилась значительно меньше, количество иголок на лучах увеличивалось, создавалось впечатление, что лучи расходятся в виде густых веток. Спустя 2 месяца кристаллы напоминали морозный рисунок на стекле. Четко выражен ромбовидный центр кристаллизации, уменьшалось количество лучей, отходящих от центра, часть из них становилась короче, отростки лучей были более ветвистыми (рис. 4).

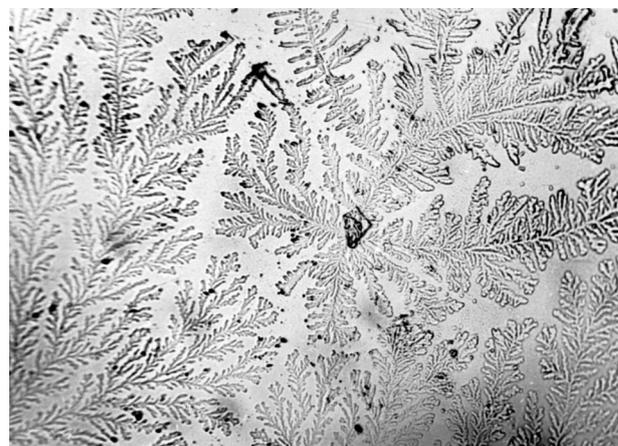


Рис. 4. Кристаллограмма тканей глаза через 2 месяца после воздействия выхлопных газов дизеля, × 10

Через 4 месяца исследования происходило «облысение» лучей, они истончались и фрагментировались.

Обсуждение результатов

Полученные экспериментальные данные выявили изменения в тканях глаза подопытных животных.

Спустя две недели от начала затравки крыс в фибробластах склеры на мембранах эндоплазматической сети содержалось большое количество рибосом, что свидетельствовало об активизации процессов синтеза.

Первые патологические изменения в эндотелии капилляров хориокапиллярного слоя обнаружены также через 2 недели после затравки животных. Увеличение количества клеток с регрессивными признаками в хориокапиллярах через 2 месяца может быть обусловлено повышением их рабочей активности в ответ на действие ксенобиотиков. Такого рода изменения в сочетании с увеличением числа митохондрий, по-видимому, можно оценить как мобилизацию компенсаторно-приспособительных механизмов, обусловленных влиянием повреждающих факторов среды.

Стаз эритроцитов, по-видимому, приводил к извитости сосудов, что, вероятно, ухудшало транскapиллярный обмен из-за накопления продуктов метаболизма в тканях,

Параллельно с этими изменениями формируются компенсаторно-приспособительные механизмы, такие как изменение структуры эпителия и фибробластов.

Изменения кристаллографической картины характерны для воспалительных явлений [9].

Кристаллографическая картина слезы в виде звездообразного расхождения густых кустистых лучей при воспалительных заболеваниях глаз описана А. М. Алешаевым [1].

Выводы:

1. Выхлопные газы дизеля оказывают токсическое воздействие на сосудистую систему глаз подопытных животных, активизируя структуры, выполняющие защитно-компенсаторные реакции.

2. Кристаллографическая картина подтверждает данные электронной микроскопии, и происходящие в ней изменения расцениваются как характерные для воспалительных процессов.

Список литературы

1. Алешаев А. М. Кристаллографическое исследование слезной жидкости у больных с проникающими ранениями глазного яблока : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2003. 22 с.
2. Барер Г. М., Денисов А. Б. Кристаллографический метод изучения слюны. М. : ФГОУ «ВУНМЦ Росздрава», 2008. 240 с.
3. Гичев Ю. П. Здоровье человека и окружающая среда. SOS! М. : РОДП «Яблоко», 2007. 184 с.
4. Государственный доклад о состоянии здоровья населения Российской Федерации в 2001 г. // Здоровоохранение Российской Федерации. 2003. № 4. С. 3–17.
5. Даутов Ф. Ф., Хакимова Р. Ф., Юсупова Н. З. Влияние загрязнений атмосферного воздуха на аллерги-

ческую заболеваемость детей в крупном промышленном городе // Гигиена и санитария. 2007. № 2. С. 10–12.

6. Ежегодник выбросов вредных (загрязняющих) веществ в атмосферный воздух городов и регионов Российской Федерации за 2006 г. / под ред. В. Б. Миляева, М. В. Волкодаевой. СПб. : НИИ Атмосфера, 2007. 319 с.

7. Краснов М. М., Наумиди Л. П., Федоров А. А. Морфологические исследования цилиарного тела при контактной транссклеральной лазерной циклокоагуляции на глазах человека и кролика // Вестник офтальмологии. 1988. № 5. С. 11–13.

8. Мейбалиев П. С. Состояние здоровья детей промышленных городов в связи с загрязнением атмосферного воздуха // Гигиена и санитария. 2008. № 2. С. 31–32.

9. Хафизова Е. Е. Клинико-функциональная характеристика различных вариантов острого обструктивного бронхита у детей раннего возраста : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Иваново, 2005. 24 с.

10. Теодор И. Л., Мороз Л. А., Каликштейн Д. Б., Лесин В. Б., Погосян М. Г., Лященко В. И. Применение метода кристаллографических налетов в диагностике некоторых патологических процессов // Лабораторное дело. 1985. № 5. С. 295–298.

11. Сайфуллина Ф. Р. Особенности глазной патологии у населения промышленного города : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Москва, 2008. 37 с.

References

1. Aleshaev A. M. *Kristallograficheskoe issledovanie sleznoi zhidkosti u bol'nykh s pronikayushchimi raneniyami glaznogo yabloka (kand. dis.)* [Crystallographic study of lachrymal fluid of patients with eyeball penetrating injuries (Candidate Thesis)]. Moscow, 2003, 22 p. [in Russian]
2. Barer G. M., Denisov A. B. *Kristallograficheskii metod izucheniya slyuny* [Crystallographic method of saliva studies]. Moscow, 2008, 240 p. [in Russian]
3. Gichev Yu. P. *Zdorov'e cheloveka i okruzhayushchaya sreda. SOS!* [Human health and environment. SOS]. Moscow, 2007, 184 p. [in Russian]
4. *Gosudarstvennyi doklad o sostoyanii zdorov'ya naseleniya Rossiiskoi Federatsii v 2001 g.* [State report on the state of health of the Russian Federation population in 2001], Zdravookhranenie Rossiiskoi Federatsii [Healthcare of the Russian Federation]. 2003, no. 4, pp. 3-17. [in Russian]
5. Dautov F. F., Khakimova R. F., Yusupova N. Z. *Gigiya i sanitariya* [Hygiene and Sanitation]. 2007, no. 2, pp. 10-12. [in Russian]
6. *Ezhegodnik vybrosov vrednykh (zagryaznyayushchikh) veshchestv v atmosferyni vozdukh gorodov i regionov Rossiiskoi Federatsii za 2006 g.* [Annual emissions of harmful substances (pollutants) in the air of cities and regions of the Russian Federation for 2006], eds. V. B. Milyaev, M. V. Volkodaeva, Saint Petersburg, 2007, 319 p. [in Russian]
7. Krasnov M. M., Naumidi L. P., Fedorov A. A. *Vestnik oftal'mologii* [Ophthalmology Newsletter]. 1988, no. 5, pp. 11-13. [in Russian]
8. Meibaliev P. S. *Gigiya i sanitariya* [Hygiene and Sanitation]. 2008, no. 2, pp. 31-32.
9. Khafizova E. E. *Kliniko-funktsional'naya kharakteristika razlichnykh variantov ostrogo obstruktsionnogo bronkhita u detei rannego vozrasta (avtoref. kand. dis.)* [Clinical and functional characteristics of different variants of acute obstructive bronchitis in infants (Author's Abstract of Candidate Thesis)]. Ivanovo, 2005, 24 p. [in Russian]

10. Teodor I. L., Moroz L. A., Kalikshstein D. B., Lesin V. B., Pogosyan M. G., Lyashchenko V. I. *Laboratornoe delo* [Laboratory Science]. 1985, no. 5, pp. 295-298. [in Russian]

11. Saifullina F. R. *Osobennosti glaznoi patologii u naseleniya promyshlennogo goroda (avtoref. dok. dis.)* [Features of ocular pathology in industrial city population (Author's Abstract of Doctoral Thesis)]. Moscow, 2008, 37 p. [in Russian]

IMPACT OF AIR POLLUTION ON MORPHOLOGICAL STATE OF EYES AND CRYSTALLOGRAPHIC PICTURE OF RATS' EYE SCLERA LAVAGES

T. I. Okonenko

*Novgorod State University named after Yaroslav the Wise
Institute of Medical Education, Veliky Novgorod, Russia*

The electron-microscopic analysis of experimental animals' eye tissues has shown that toxic effects of a diesel engine's

exhaust gases caused angiopathy and increased vascular permeability. In-parallel, there were formed compensatory-adaptive mechanisms, such as changes in the structure of the epithelium and fibroblasts. A crystallographic picture also changed: the rays extending from the center of crystallization became thin and fragmented.

Keywords: experimental animals, diesel engine's exhaust gases, crystallographic picture, fibroblasts, sclera capillaries

Контактная информация:

Оконенко Татьяна Ивановна – доктор медицинских наук, зав. кафедрой общей патологии фармации Института медицинского образования ФГБОУ ВПО «Новгородский государственный университет им. Ярослава Мудрого» Министерства образования и науки Российской Федерации

Адрес: 173003, г. Великий Новгород, ул. Б. Санкт-Петербургская, д. 41

E-mail: tat542@yandex.ru