

Выявлено 23 вида растений (8 %), внесенных в Красную книгу Республики Казахстан и в Зеленую книгу Западно-Казахстанской области.

#### Список литературы

1. *Абдулина С.А.* Список сосудистых растений Казахстана. — Алматы, 1999. — 187 с.
2. Флора Казахстана. — Алма-Ата, 1956–1966. — Т. 1–9.
3. Красная книга Казахской ССР. Ч. 2. Растения. — Алма-Ата, 1981. — 260 с.
4. *Черепанов С.К.* Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). — СПб., 1995. — С. 991.

УДК 502:7. 925.21

### Оценка дыхательной системы экспериментальных животных при хроническом воздействии гексана

Бекеева С.А.

*Евразийский национальный университет им. Л.Н.Гумилева, Астана*

Мақалада гистологиялық өзгеріске ұшырауын гексанның үзіліссіз тәжірибе жасау жағдайында егеуқұйрықтардың тыныс алу жолдарына және өкпе бөліктеріне әсер етуінің жолы көрсетілген. Төрт ай бойынша егеуқұйрықтарды гексанмен мөлшері  $300 \text{ мг/м}^3$  ( $\text{МБК}_{\text{в.р.з.}}$ ) үзіліссіз уландыру жүргізілді. Патоморфологиялық өзгерістер өкпе ұлпалары дәрімектерінің көрінуі, токсикологиялық альвеолит байқалуы, негізінен келтірілген токсиканттың теріс қимылын тыныс алу жүйесінің іс-әрекеттерін тәжірибелік жануарлар арқылы көруге болады.

In article was studied histological change of aerostation ways and respirator division of lung of the rats at influence of the hexane in condition of the chronic experiment. Inhaber pickling with hexane in dose  $300 \text{ mg/m}^3$  was conducted for 4 months. It is installed that pathomorphological change in preparation of lung tissue are development of toxic alveolitis, that is indicative of abilities given toxic have a negative influence respiratory system of animals.

Одним из наиболее распространенных токсикантов является гексан и его производные. Гексан, эндогенный углеводород, содержится в выдыхаемом воздухе. При ингаляционном поступлении гексана у человека степень задержки при дыхании составляет 15–25 % [1]. Из организма гексан выводится легкими и почками. Легкими человека удаляется 50–60 % от поступившего количества [2]. Считается, что нейротоксическое действие гексана оказывает за счет его превращения в организме в нейротоксин 2,5-гександиол [3].

В условиях возрастания техногенного загрязнения окружающей среды алифатическими углеводородами, низкой производственной и бытовой культуры случаи профессиональной и экологически обусловленной интоксикации гексаном можно рассматривать как самостоятельное антропогенное явление с высоким риском ущерба здоровья работающих и населения. Недостаточность информации о токсическом воздействии гексана, относительно невысокая эффективность существующих методов реабилитации определяют необходимость изучения механизмов развития патологических процессов в ткани легких как на ранних стадиях токсического повреждения, так и в течение относительно длительного периода. Поражение легких при длительном воздействии токсикантов с выраженными нарушениями кровообращения является благоприятной почвой для развития патологических состояний. Известно, что длительное нарушение микроциркуляции в легких ведет к застою, уменьшению общей массы циркулирующей крови и к гипоксии [4]. По острой токсичности гексан значительно превосходит низшие члены этого ряда. При воздействии больших концентраций гексана на животных наблюдаются наркоз, кома, остановка дыхания. Концентрация  $627000 \text{ мг/м}^3$  уже при 3-минутной экспозиции вызывает гибель 50 % крыс [5]. В смывах из легких крыс, подвергавшихся

ся ингаляции гексана на протяжении 4 недель по 6 часов в день (5 дней в неделю) в концентрациях 1700–5900 мг/м<sup>3</sup>, возрастает содержание липидов, повышается активность кислой (КФ) и щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), глюкозы-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), что свидетельствует о повреждении альвеол. При еще более высоких концентрациях (10500 мг/м<sup>3</sup> в течение 8 дней по 8 часов в день) развивается жировая дегенерация эпителиальных клеток, она отделяется от базальной мембраны и т.п. [6, 7], также в легких у кроликов обнаруживаются эмфизема, рассеянные микрокровоизлияния, очаги ателектазов, внутриальвеолярного и интерстициального отека [8].

С учетом изложенного выше целью данной работы явилось изучение воздухоносных путей и респираторного отдела легких крыс при хроническом воздействии гексана.

#### Материалы и методы

Была проведена хроническая затравка гексаном в дозе 300 мг/м<sup>3</sup> (ПДКв.р.з.) в течение 16–17 недель (4 месяца), по 4 часа ежедневно 5 дней в неделю. Затравка проводилась в стандартных 200-литровых камерах Курляндского на половозрелых белых крысах-самцах массой 170–210 гр. Животные были разделены на 2 группы: 1 группа — интактные крысы; животные 2-й группы подвергались статическому ингаляционному воздействию гексана. В течение эксперимента проводили наблюдения за динамикой изменения веса тела.

По окончании срока эксперимента крыс забивали мгновенной декапитацией. Извлекали бронхи и легкие для определения морфологических показателей. Материал фиксировали при t+5°C в растворе 10 %-ного формалина в течение 10–14 сут и обезвоживали. Затем удаляли обезвоживающую жидкость и пропитывали специальной средой (парафином). После этапов пропитки и заливки материала изготавливали тканевые срезы. При этом блок располагали относительно микротомного ножа таким образом, чтобы в плоскости определялись просвет бронхов и их стенка послойно. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином.

Для идентификации крупных, средних и мелких бронхов использовали морфологические критерии классификации Э.Р.Вейбеля [9], согласно которой бронхи 1–5 порядка считаются крупными, 6–10 — средними, 11–15 порядка — мелкими. Морфометрическим методом точечного счета Г.Г.Автандилова [10] и с помощью окулярной стереометрической сетки из 100 точек проводили подсчет числа клеточных элементов реснитчатых, бокаловидных клеток в стенке бронхов различных генераций в 5 полях зрения при увеличении x90, определяли площадь данных объектов. Окулярным микрометром измеряли ширину эпителиального пласта.

Статистическая обработка анализируемого материала проводилась на персональном компьютере Pentium IV с использованием пакета прикладных программ Excel. Проводился вариационный анализ; коэффициент достоверности (P) оценивали по таблице значений критерий (t) по Стьюденту.

#### Результаты и их обсуждение

У животных 2-й группы морфометрическое и стереометрическое исследования слизистой оболочки бронхов различных генераций, отражающих количественно-качественный состав клеточных элементов эпителиальной выстилки воздухоносных путей и респираторного отдела легких при ингаляционном воздействии гексана в условиях хронического эксперимента, показали результаты, представленные в таблице 1.

Т а б л и ц а 1

#### Морфометрическая характеристика слизистой оболочки бронхов крыс в хроническом эксперименте (%)

Клеточные элементы	Генерация бронха	1 группа контроль	2 группа (опыт) «Г»
Реснитчатые клетки	<i>крупные хрящевые</i>	15,7±0,02	11,1±0,02*
	<i>средние</i>	18,1±0,13	14,7±0,14*
	<i>мелкие</i>	10,1±0,03	5,3±0,01*
Бокаловидные клетки	<i>крупные хрящевые</i>	5,1±0,39	6,5±0,41*
	<i>средние</i>	3,9±0,31	5,3±0,39*
	<i>мелкие</i>	2,5±0,26	2,0±0,21*

Примечание: \* — достоверные различия по сравнению с контролем (p < 0,05).

Как видно из таблицы, количество реснитчатых клеток крупного бронха у животных 2-й группы достоверно снижалось на 70 %, среднего — до 81 % и мелкого — до 52 % по сравнению с показателями животных контрольной группы. Выявлялась тенденция к увеличению количества бокаловидных клеток. Так, количество бокаловидных клеток крупного бронха у крыс опытной группы возрастало в 1,2 раза, среднего дистального отдела — в 1,3 раза по сравнению с фоновыми значениями, тогда как количество бокаловидных клеток бронхов мелкой генерации достоверно значительно снижалось на 80 % по сравнению с показателями животных контрольной группы.

Стереометрические показатели при измерении ширины эпителиального покрова слизистой оболочки бронхов у животных 2-й группы имели аналогичную картину (рис. 1).

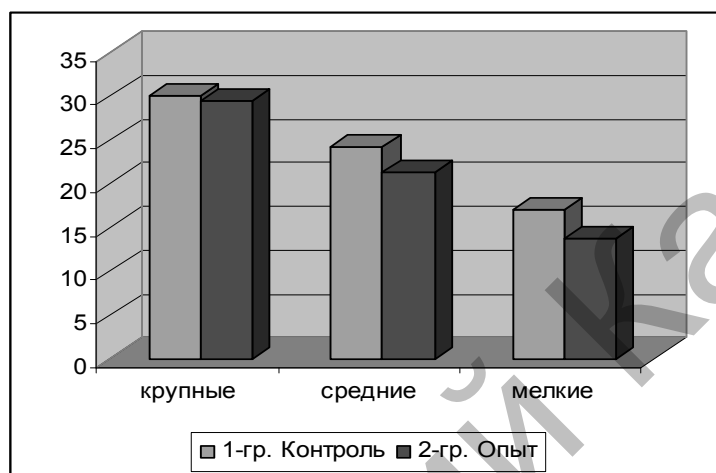


Рис. 1. Стереометрическая характеристика высоты покровного эпителия бронхов различных генераций крыс (мкм)

Так, высота покровного эпителия крупных бронхов была без значимых изменений, средних — снижалась на 88 %, мелких — достоверно снижалась на 80 % по сравнению с контрольной группой.

Следовательно, по показаниям морфометрического и стереометрического анализа (табл. 1, рис. 1) у животных 2-й группы достоверное снижение количества клеток мерцательного эпителия происходило, по-видимому, за счет их десквамации. В мелких и средних бронхах эпителий сохранялся в виде островков. Отмечалась гиперплазия бокаловидных клеток, нарастали дистрофические изменения в клетках мерцательного эпителия.

При гистологических исследованиях препаратов ткани легких крыс 2-й группы в сроки 4 месяца в воздухоносных путях морфологические признаки поверхностного катарального бронхита и бронхиолита, как показали предыдущие исследования в сроки 2 месяца [11], сменялись катарально-десквамативным, с явными атрофическими изменениями в слизистой оболочке бронхов всех генераций (рис. 2).

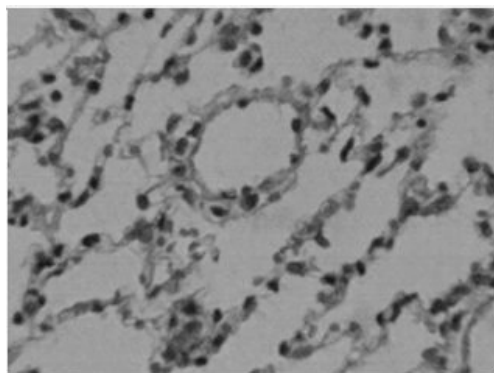


Рис. 2. Лимфоцитарная инфильтрация стенки мелкого бронха с атрофическими изменениями покровного эпителия. Увеличение: объектив 10, окуляр 40; окраска: гематоксилин с эозином

В собственной пластинке на фоне полнокровия и отека усиливалась воспалительная клеточная инфильтрация, которая захватывала иногда все слои стенки бронхов, усиливались признаки коллагеногенеза (рис. 3). Наблюдалась гиперплазия секреторных желез подслизистого слоя. Снижалась высота эпителиального пласта. Клетки мерцательного эпителия уплощались.

Возможно, полученные морфологические данные говорят о начальных атрофических изменениях в слизистой оболочке бронхов животных опытной группы.

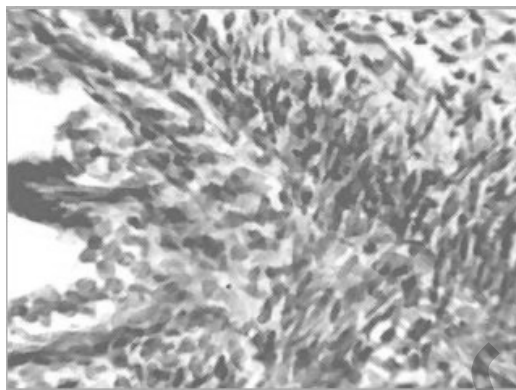


Рис. 3. Воспалительно-клеточная инфильтрация, отек, полнокровие сосудов в стенке бронха. Разрастание коллагенных волокон в стенке бронха и крупного кровеносного сосуда. Увеличение: объектив 10, окуляр 40; окраска: гематоксилин с эозином

Проведенное морфометрическое исследование респираторного отдела легких показало дальнейшее усиление расстройства гемодинамики легких (табл. 2). Как видно из таблицы, наблюдалось существенное снижение объемной доли капиллярного русла в легочной ткани у животных 2-й группы — на 86 %, отмечалась незначительная тенденция к снижению объемной доли альвеолярного эпителия — на 69 % по сравнению с контрольной группой.

Т а б л и ц а 2

**Морфометрические показатели респираторного отдела легких крыс при воздействии гексана (M±m)**

Группа животных	Объемная доля альвеолярного эпителия	Объемная доля капиллярного русла	Объемная доля клеток инфильтрата альвеолярной перегородки	Объемная доля соединительной ткани
1 группа контроль	19,1±0,24	69,4±1,1	11,1±1,1	0,15±0,01
2 группа (опыт) Г»	13,19±0,08*	59,4±1,3*	14,9±1,13*	3,1±0,6**

Примечания: \*) — достоверные различия по сравнению с контролем (p < 0,05).

Также наблюдалось нарастание количества клеток в интерстиции альвеолярной перегородки в 1,3 раза, а объемная доля соединительной ткани достоверно возросла в 21 раз по сравнению с фоновыми значениями.

Стереометрические показатели при измерении диаметра капилляров легких у животных 2-й группы имели тенденцию к сужению (рис. 4). Так, диаметр капилляров легких крыс достоверно сузился на 81 % по сравнению с контрольной группой.

Существенное снижение объемной доли капиллярного русла в легочной ткани, видимо, происходит за счет уменьшения диаметра. Образованию склеротических изменений в их стенках, а также их сдавливанию препятствуют нарастания количества клеток воспалительного инфильтрата в интерстиции альвеолярных перегородок. Нарастающие дистрофические изменения в эндотелиоцитах и, как следствие, усиление альтеративных изменений в альвеолярной выстилке (рис. 5) свидетельствуют о токсическом действии гексана.

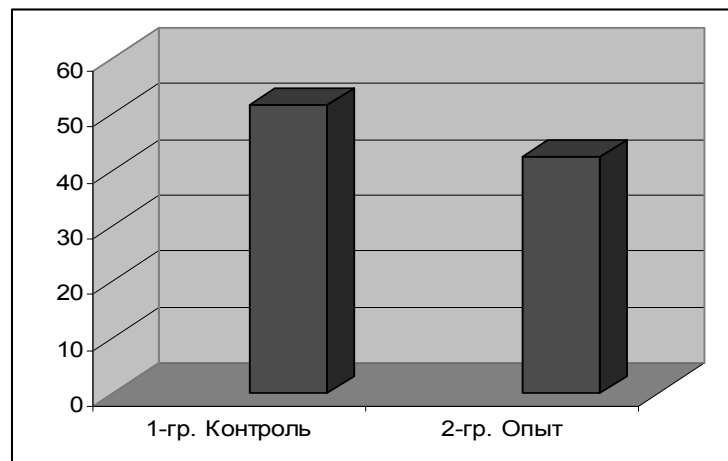


Рис. 4. Диаметр капилляров легких крыс при ингаляционном воздействии гексана (мкм)

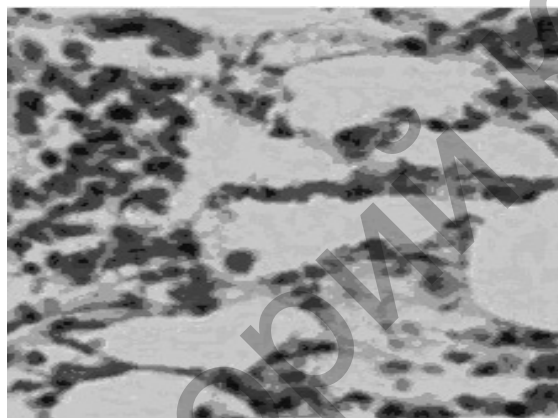


Рис. 5. Склерозирование и воспалительно-клеточная инфильтрация стенки кровеносного сосуда с деформацией и выраженным сужением просвета. Эозинофильный экссудат и десквамированный альвеолярный эпителий в просвете альвеол. Увеличение: объектив 10, окуляр 40; окраска: гематоксилин с эозином

Таким образом, у животных 2-й группы в хроническом эксперименте (4 месяца) усиливалась десквамация альвеолоцитов (рис. 6).

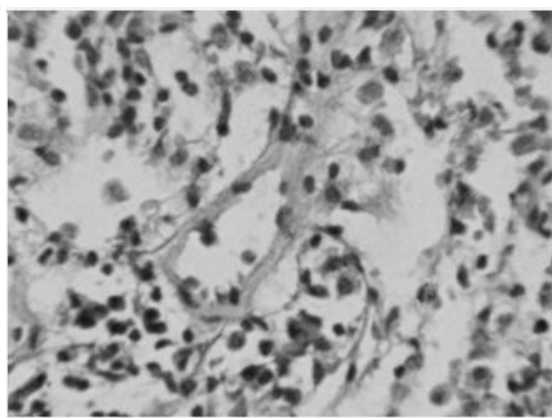


Рис. 6. Атрофические изменения альвеолярного эпителия и склерозирование интерстициальной ткани альвеолярных перегородок. Увеличение: объектив 10, окуляр 40; окраска: гематоксилин с эозином

В полости отдельных альвеол появлялся белковой эозинофильный экссудат, иногда содержащий примесь эритроцитов, что формировало морфологическую картину токсического альвеолита. Вместе с этим усиливается пролиферация септальных фибробластов, моноцитов, альвеолярных макрофагов и, как показал морфометрический анализ, нарастает количественный показатель объемной доли соединительной ткани в интерстиции легких.

#### Выводы

1. В воздухоносных путях животных опытной группы выявлены атрофические изменения в слизистой оболочке бронхов всех генераций.
2. В респираторном отделе легких отмечались склеротические изменения в их стенке, воспалительная инфильтрация в альвеолярных перегородках, дистрофические изменения в эндотелиоцитах и, как следствие, усиление альтернативных изменений в альвеолярной выстилке.
3. Все указанное выше формирует морфологическую картину токсического альвеолита, что подтверждает выраженное токсическое воздействие гексана.

#### Список литературы

1. *Mutti A. et al.* // J. Intern. Arch. Occup. Environ. Health. — 1982. — Vol. 51. — № 1. — P. 45–54; *Brit. J. Ind. Med.* — 1984. — Vol. 41. — № 4. — P. 533–538.
2. *Baker T.S., Rickart D.E.* // *Toxicol. a. Appl. Pharmacol.* — 1981. — Vol. 61. — № 3. — P. 414–422.
3. *Iwasaki K., Tsuruta H.* // *Ind. Health.* — 1984. — Vol. 22. — № 3. — P. 177–187.
4. *Карнаух Н.Г., Филиппенко Л.Л., Ковальчук Т.А.* и др. Морфологические изменения при перегревании (экспериментальные исследования) // *Медицина труда и промышленная экология.* — 2004. — № 5. — С. 17–20.
5. *Jorgenson H., Cohr W.* // *Scand. J. Work, Environ. and Health.* — 1981. — Vol. 7. — N 3. — P. 129–168.
6. *Вуазен С., Тоннель А.Б., Лафит Ж.Ж.* Диагностическая ценность вариантов клеточных популяций нижних воздухоносных пространств, полученных при бронхоальвеолярном лаваже // *Содержимое бронхов при хроническом бронхите.* — М., 1981. — С. 82–85.
7. *Бекеева С.А.* Характер изменения мембранного метаболизма клеток — мишени при воздействии гексана // *Вестн. ЕНУ. Сер. Биология.* — Астана, 2009. — № 6 (67). — С. 76–79; *Тихонова Г.Т.* О токсичности, биотрансформации и характере биологического действия гексана (обзор лит-ры). — *Женская гигиена труда.* — 1984. — № 3. — С. 38–40.
8. *Lungarella G. et. al.* // *Res. Commun. Chem. Pathol. A. Pharmacol.* — 1980. — Vol. 29. — № 1. — P. 129–139.
9. *Вейбель Э.Р.* Морфометрия легких человека. — М.: Медицина, 1970. — 176 с.
10. *Автандилов Г.Г., Неврозов В.Н., Неврозова О.Ф.* Системный стереометрический анализ ультраструктур клетки. — КИШИНЕВ: ШТИИЦА, 1984. — 186 с.
11. *Бекеева С.А.* Воздействие гексана на состояние воздухоносных путей и респираторного отдела легких крыс в подостром эксперименте // *Вестник науки КАТУ.* — № 2 (53). — Астана, 2009. — С. 285–291.