

О.В. Линчак

аспірант

О.В. Іващенко

аспірант

Н.О. Карпезо

к. б. н.

Г.В. Островська

д. б. н.

В.К. Рибальченко

д. б. н.

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка

МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК ТА СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ТОНКОЇ КИШКИ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ 2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИОЦТОВОЇ КИСЛОТИ

Досліджено вплив гербіциду 2,4-Д на морфо-функціональний стан нирок та слизової оболонки тонкої кишки щурів. Показано, що гербіцид призводить до значних морфо-функціональних змін як у нирці, так і у слизовій оболонці тонкої кишки. Пошкоджуюча дія 2,4-Д на клубочки нирок варіює від незначного пошкодження до майже повної їх деградації. Проксимальний відділ нефрону більш чутливий до впливу гербіциду, ніж дистальний. У слизовій оболонці тонкої кишки найбільших змін зазнає кровоносна система (застійні явища, тромбоз судин).

Постановка проблеми

Одними з основних забруднювачів довкілля є пестициди, що широко застосовуються у сільському господарстві. Пестициди є небезпечним фактором впливу на організм людини [1, 2]. На сьогоднішній день в Україні зареєстровано і дозволено до використання ряд гербіцидів на основі 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти (2,4-Д) [3-5].

Виявлено, що першими “мішенями” для дії даного гербіциду є печінка [6], нирки, легені, пошкоджуються також тиреоїдна та нервова системи [7], тонка кишка. Останніми роками інтенсивно вивчають біохімічно-біофізичні ефекти 2,4-Д. Це стосується АТФ-азних активностей транспортних АТФ-аз плазматичних мембран гепатоцитів [8]. Найменш дослідженими внутрішніми

органами під впливом 2,4-Д є нирки та тонка кишка. Вивчення структурних і функціональних змін у нирках при дії гербіциду 2,4-Д мають величезне значення для розуміння механізмів їх детоксикаційної активності. Оскільки всмоктування ксенобіотиків відбувається, в основному, через епітелій тонкої кишки [8], то дослідження морфо-функціонального стану слизової оболонки тонкої кишки після впливу гербіциду 2,4-Д є актуальним і важливим.

Виходячи з викладеного, гістологічне дослідження нирок та слизової оболонки тонкої кишки при впливі гербіциду 2,4-Д є актуальним питанням не тільки у плані науково-обґрунтованого використання пестицидів у сільському господарстві та інших галузях, але й з погляду вивчення механізмів впливу ксенобіотиків на клітини і тканини в цілому.

Метою даної роботи стало гістологічне та морфометричне дослідження характеру морфо-функціональних змін нирок та тонкої кишки щурів під впливом гербіциду 2,4-Д.

Об'єкти та методика досліджень

Дослідження проводили на безпорідних білих щурах-самцях масою 150–200 г. Щурів утримували в умовах віварію на стандартному харчовому раціоні при нормальному світловому дні. Досліджувану речовину вводили у дозі 10 мг/кг маси тіла протягом 1 місяця інтрагастрально в 1 мл дистильованої води щодня зранку до годування. Контрольна група тварин отримувала дистильовану воду.

Для морфологічних досліджень брали сегмент середнього відділу тонкої кишки, нирку. Зразки тканин фіксували у суміші Буена та обробляли за традиційними гістологічними методами для виготовлення парафінових зрізів. Виготовлені зрізи зразків тканин забарвлювали двома методами: гематоксиліном Бюмера з дофарбуванням еозином та оранжем G, а також реактивом Шиффа з дофарбуванням гематоксиліном Бюмера. Гістологічні препарати аналізували на світлооптичному рівні за допомогою мікроскопів Biolam та Olympus BX-41. Морфометричні вимірювання проводили за допомогою мікроскопа Olympus BX-41, з використанням програми Olympus DP-Soft.

Експериментальні дані обробляли, використовуючи загальноприйняті методи варіаційної статистики з урахуванням t-критерію Стюдента. У тексті роботи представлено середнє арифметичне (M), та його стандартну похибку (m): $M \pm m$. Статистично достовірними вважали відмінності між середніми значеннями порівнюваних показників при $p < 0,05$.

Результати досліджень

Нирки. У контролі нирка має типову будову. Структурно-функціональною одиницею нирки є нефрон. Стінка нефрону побудована з одношарового епітелію, клітини якого (у залежності від функцій) є відмінними у різних відділах нефрону. У проксимальному відділі нефрон вистелений одношаровим циліндричним епітелієм. Епітелій дистального відділу низький призматичний, розташований на добре вираженій базальній мембрані. Ядра мають чітко

окреслені межі. Нирковий судинний клубочок має типову будову. При забарвленні реактивом Шиффа на препаратах контрольної групи шурів специфічне забарвлення глікогену практично відсутнє як у клубочках, так і у канальцях нирок.

Ниркові нефрони залежно від структурно-функціональних особливостей поділяють на підкапсулярні, кіркові та юкстамедулярні. Вимірювання та аналіз площі просвіту та площі поперечного перетину канальців у цих відділах проводили окремо для кожної зони. Водночас, гістологічна картина у кірковій та юкстамедулярній зонах не відрізняє від такої у підкапсулярній.

Площа поперечного перетину ниркових клубочків у підкапсулярній (ПКЗ), кірковій (КЗ) та юкстамедулярній (ЮКМЗ) зонах становить $4473,26 \pm 252,69$ мкм², $4608,60 \pm 219,37$ мкм² та $5730,80 \pm 360,90$ мкм² відповідно. Площа просвіту ниркових канальців проксимального відділу у ПКЗ склала $205,95 \pm 21,56$ мкм², у КЗ – $345,12 \pm 32,10$ мкм², а у ЮКМЗ – $219,78 \pm 27,74$ мкм².

Тоді як площа поперечного перетину проксимальних канальців у ПКЗ склала $1706,03 \pm 90,96$ мкм², у КЗ – $1834,19 \pm 110,04$ мкм², а в ЮКМЗ – $1868,05 \pm 122,35$ мкм². Площа просвіту ниркових канальців дистального відділу склала у ПКЗ $707,35 \pm 60,52$ мкм², у КЗ – $710,13 \pm 57,12$ мкм², а в ЮКМЗ – $754,29 \pm 67,16$ мкм². Площа поперечного перетину ниркових канальців дистального відділу у ПКЗ склала $2109,92 \pm 123,71$ мкм², у КЗ – $2024,84 \pm 174,37$ мкм², а в ЮКМЗ – $2218,49 \pm 149,61$ мкм². Площа поперечного перетину ядер епітеліоцитів ниркових канальців проксимального відділу нефрону у ПКЗ склала $21,42 \pm 0,54$ мкм², у КЗ – $23,58 \pm 0,38$ мкм², а в ЮКМЗ – $21,61 \pm 0,73$ мкм². Площа поперечного перетину ядер епітеліоцитів ниркових канальців дистального відділу нефрону у ПКЗ склала $20,65 \pm 0,42$ мкм², у КЗ – $20,79 \pm 0,42$ мкм², а в ЮКМЗ – $18,98 \pm 0,71$ мкм².

Після впливу гербіциду 2,4-Д на організм експериментальної групи шурів у нирках тварин розвиваються запальні процеси, що особливо чітко проявляються у проксимальному відділі нефрону. Це пов'язано з тим, що проксимальний каналець (порівняно з дистальним відділом нефрону), є більш чутливим до ушкодження, тому що містить велику кількість лізосом, більш сприйнятливий до активації реакцій перекисного окислення ліпідів, ішемії, перевантаження нефрону білком [10]. Пошкоджуюча дія гербіциду 2,4-Д на клубочки нирок піддослідних тварин сильно варіює від незначної до майже повної їх дегенерації.

У багатьох випадках пошкоджуюча дія гербіциду 2,4-Д проявляється появою осередків речовини, що нагадують жирові скупчення. Можливо, ці осередки є початком жирової дистрофії нирки [11]. Морфологічним проявом порушення обміну глікогену у нирках є позитивна реакція при забарвленні за Шиффом. Після дії 2,4-Д спостерігається значне потовщення базальної мембрани, що добре помітно при забарвленні йодною кислотою. Висока інтенсивність забарвлення характерна також для просвіту проксимальних канальців, що скоріше за все пов'язано з перевантаженням останніх при токсичному впливі гербіциду.

У дистальних відділах, навпаки, навантаження майже відсутнє, що виражається у практично повній відсутності в них забарвлення.

Після впливу 2,4-Д на організм щурів у великій кількості епітеліоцитів каналців проксимального відділу нефрону наявні некротичні ядра. Цікавим є той факт, що у каналцях дистального відділу нефрону некротичних ядер взагалі не виявлено.

Площі поперечного перетину ядер епітеліоцитів проксимального відділу нефрону вірогідно збільшилися: до $25,40 \pm 0,39$ мкм² у ПКЗ, до $25,06 \pm 0,43$ мкм² у КЗ та до $23,58 \pm 0,52$ мкм² в ЮКМЗ. Площа поперечного перетину ядер епітеліоцитів дистальних каналців збільшується менше, що пов'язано з меншою чутливістю цього відділу до пошкодження та, як наслідок, нижчого рівня синтетичних процесів у них. У ПКЗ вона складає $23,39 \pm 0,32$ мкм², у КЗ – $22,49 \pm 0,45$ мкм, в ЮКМЗ – $20,93 \pm 0,57$ мкм².

Площа просвіту каналців проксимального відділу нефрону після впливу 2,4-Д вірогідно збільшується у ПКЗ ($303,39 \pm 18,33$ мкм²) та в ЮКМЗ ($278,17 \pm 16,96$ мкм²). У КЗ відбувається зменшення площі просвіту проксимальних каналців до $303,99 \pm 26,94$ мкм².

Площа поперечного перетину каналців проксимального відділу нефрону після впливу 2,4-Д вірогідно збільшується лише у ПКЗ ($1933,35 \pm 64,53$ мкм²). У КЗ та ЮКМЗ відбувається зменшення площі поперечного перетину проксимальних каналців ($1754,19 \pm 57,76$ мкм² та $1656,95 \pm 60,67$ мкм² відповідно), що, ймовірно, можна пов'язати з некрозом проксимальних каналців внаслідок токсичного впливу гербіциду 2,4-Д [12].

Площа просвіту каналців у дистальному відділі нефрону після дії гербіциду 2,4-Д зменшилася у всіх зонах, тоді як площа поперечного перетину дистальних каналців нефрону збільшилась у ПКЗ ($2235,91 \pm 24,72$ мкм²) та КЗ ($2261,79 \pm 40,03$ мкм²) і незначно зменшилась в ЮКМЗ ($2136,71 \pm 94,58$ мкм²).

Отже, дія гербіциду 2,4-Д на клубочки нирки варіює від незначної до майже повної їх дегенерації. Пошкоджуюча дія на проксимальні каналці більш виражена і проявляється у великій кількості некротичних ядер в епітеліоцитах проксимальних каналців. У нирках тварин розвиваються запальні процеси, що особливо чітко проявляються у проксимальному відділі нефрону.

Тонка кишка. У контролі слизова оболонка стінки тонкої кишки щурів має типову будову. Ворсинки – основні структурно-функціональні одиниці слизової оболонки. Вони мають пальцеподібну форму та фестончасті краї. Ворсинки вистелені одношаровим призматичним облямованим епітелієм. Їх довжина становить $673,5 \pm 18,0$ мкм, а діаметр – $73,4 \pm 1,2$ мкм. Строма ворсинки представлена пухкою волокнистою сполучною тканиною, яка належить до власної пластинки слизової оболонки. У стромі ворсинки містяться кровоносні капіляри вісцерального типу, що містять формені елементи крові, лімфатичні капіляри. Діаметр строми ворсинок складає $21,0 \pm 0,7$ мкм. Абсорбційні клітини є найбільш численною популяцією кишкових епітеліоцитів. Це стовбчасті клітини з вузькою основою, які локалізовані на базальній мембрані, і більш широкою верхівкою, оберненою до просвіту кишки. Їх ядра лежать в один ряд ближче до базальної мембрани та мають овальну форму. Висота абсорбційних

клітин становить $29,6 \pm 0,8$ мкм, площа поперечного перетину їх ядер – $28,2 \pm 1,0$ мкм². Між ентероцитами розміщені келихоподібні клітини, вони продукують слиз, який захищає слизову оболонку від пошкоджень. Відносна кількість келихоподібних клітин у контролі складає $11,6 \pm 0,4$ %. Площа їх поперечного перетину складає $56,3 \pm 2,5$ мкм².

Після впливу гербіцидом 2,4-Д протягом місяця загальні закономірності будови слизової оболонки тонкої кишки зберігаються. Довжина ворсинок збільшується відносно контролю і складає $734,9 \pm 23,2$ мкм. Більшість ворсинок слизової оболонки середнього відділу тонкої кишки щура під впливом 2,4-Д змінюють свою форму. Частина ворсинок мають декілька різних звужень та розширень по своїй довжині, нижня третина ворсинки нормальна, а верхні 2/3 – гантелеподібної форми, частина ворсинок не має другого розширення, кінець ворсинки тонкий та видовжений, не містить кровоносних та лімфатичних судин. Діаметр ворсинок достовірно змінюється: у місці звуження становить $59,8 \pm 3,7$ мкм, а у місці розширення – $116 \pm 6,7$ мкм.

Після впливу 2,4-Д у стромі ворсинок виражений набряк та повнокрів'я. У місці звужень ворсинок у капілярах спостерігається гемостаз та тромбоз судин. Діаметр стромі становить $18,5 \pm 1,5$ мкм, достовірно не відрізняється від контролю. У місцях розширення спостерігається застій лімфи та повнокрів'я судин. Діаметр стромі у місці розширень достовірно збільшується і становить $42,9 \pm 1,7$ мкм.

Після впливу 2,4-Д у окремих ворсинках спостерігається значний підепітеліальний набряк. Помітно збільшується кількість лейкоцитів, що проникають у епітеліальний шар. Висота абсорбційних клітин не змінюється і становить $29,1 \pm 0,9$ мкм. Під впливом 2,4-Д ядра абсорбційних клітин втрачають базальне розташування і знаходяться ближче до центру клітини. Це свідчить про підвищення швидкості оновлення епітеліального шару, але ентероцити не встигають дозрівати. Площа поперечного перетину ядер ентероцитів достовірно збільшується і становить $32,0 \pm 0,8$ мкм².

Відносна кількість келихоподібних клітин під впливом 2,4-Д зростає у 2 рази і становить $23,7 \pm 1,0$ %. Площа їх поперечного перетину також достовірно збільшується і становить $97,3 \pm 3,9$ мкм², що свідчить про накопичення у них секрету. Збільшення кількості келихоподібних клітин та площі їх поперечного перетину можна вважати проявом реакції адаптації слизової оболонки до впливу 2,4-Д.

Отже, гербіцид 2,4-Д призводить до значного пошкодження слизової оболонки тонкої кишки щурів, в якій відбуваються істотні структурні та функціональні зміни. Значних змін зазнає кровоносна система слизової оболонки тонкої кишки (застійні явища, тромбоз судин), водночас спостерігається запуск захисно-приспосувальних процесів (збільшення продукції слизу келихоподібними клітинами) [13, 14].

Висновки

1. Пошкоджуюча дія гербіциду 2,4-Д на клубочки нирок варіює від незначного пошкодження до майже повної їх деградації. Проксимальний

відділ нефрону більш чутливий до пошкоджуючого впливу гербіциду 2,4-Д, ніж дистальний.

2. Гербіцид 2,4-Д призводить до значних морфофункціональних змін у слизовій оболонці тонкої кишки щурів. Про такий вплив свідчать застійні явища у стромі ворсинок, тромбоз судин, підепітеліальний набряк. Про наявність захисно-приспосувальних процесів свідчить різке збільшення кількості келихоподібних клітин.

Перспектива подальших досліджень

Доцільним є вивчення впливу 2,4-дихлорфеноксоцтової кислоти на стан мунних органів контрольної групи тварин.

Література

1. Фосфорорганические пестициды: общее введение // Гигиенические критерии состояния окружающей среды. Под ред. Лисенко М. А. – М.: Практика. – 1990. – №63. – 456 с.
2. Добрик О.О., Няньковський С.Л., Скунда М.О. Фактори, що сприяють розвитку нефрологічних захворювань у дітей // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2000. – №6. – С. 69.
3. Ваикулат Н.П. Прогнозирование качества окружающей среды и здоровья детского населения в зонах интенсивного сельскохозяйственного производства Украины // Довкілля і здоров'я. – 1998. – Т. 4. – № 1. – С. 21–24.
4. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. – К.: Юнівест маркетинг, 2001. – 221 с.
5. Доповнення до переліку пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. – К.: Юнівест маркетинг, 2002. – 132 с.
6. Морфо-функціональні зміни у печінці щурів під впливом гербіциду 2,4-Д та стимулятора росту івіну / Н.О. Карпезо, О.М. Гурняк, Г.В. Островська та ін. // Совр. пробл. токсикологии. – 2004. – №4. – С. 48–51.
7. Морфо-функціональні зміни у гіпоталамо-гіпофізарній системі щурів при дії гербіциду 2,4-Д та стимулятору росту рослин івіну / Н.О. Карпезо, О.М. Гурняк, О.С. Мацюх та ін. // Совр. пробл. токсикологии. – 2005. – № 4. – С. 86–90.
8. The influence of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the rat hepatocyte plasma membrane Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase activity in vivo and in vitro / G. Ostrovska, S. Yablonska, T. Rybalchenko et al. // Annales universitatis Mariae Curie-Sklodowska. – 2004. – Vol.17. – №2. – P. 331–333.
9. Куценко С.А. Основы токсикологии. – СПб., 2002. – 354 с.
10. Пикалюк В. С. Кількісні характеристики в морфології. – Луцьк: Вежа, 1999. – 108 с.
11. Аллазов С. Особенности острых инфекционно-воспалительных заболеваний почки при воздействии пестицидов // Урология и нефрология – 1994. – №2. – С. 14–16.

Вісник
ДАЕУ

Функціональна морфологія органів та систем
під впливом екологічних чинників

№ 1 (21)
т. 1
2008

12. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
13. Структура и функции слизистого слоя тонкой кишки / Под общ. ред. И.А.Морозова. – М.: Темпус, 1998. – 282 с.
14. *Парфенов А.И.* Энтерология. – М.: Триада-Х, 2002. – 744 с.