

Н.Ф. Воробьева

РЕАКЦИЯ КРОВИ И ПОДКОЖНОЙ РЫХЛОЙ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ОБЩЕМ ПЕРЕГРЕВАНИИ ОРГАНИЗМА И ПРИ ПЕРЕГРЕВАНИИ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ПРИРОДНЫХ ЦЕОЛИТОВ

ГУ НИИ физиологии СО РАМН, Новосибирск

Памяти проф. В.В. Виноградова посвящается

Исследовали состояние крови и клеточный состав подкожной рыхлой соединительной ткани крыс линии Вистар при длительном поступлении в организм природных цеолитов в норме и при однократном общем перегревании. Показано, что природные цеолиты обладают протективным эффектом и повышают резистентность организма к воздействию высокой внешней температуры.

Ключевые слова: кровь, подкожная рыхлая соединительная ткань, перегревание, цеолит

Из литературы известно, что природные цеолиты (ПЦ) обладают ионообменными и молекулярно-ситовыми свойствами, которые позволяют им адсорбировать ряд токсических веществ [14, 15]. В свою очередь, экзогенное гипертермическое воздействие, нарушающее температурный гомеостаз, приводит к морфо-функциональным изменениям во всех органах, к глубоким нарушениям водно-солевого баланса и общего метаболизма [7, 11, 13, 14]. Изучение клеточного состава подкожной соединительной ткани (ПКСТ), ее морфологических, цитохимических и ультраструктурных изменений в ситуациях голодания, дегидратации, гипергидратации, перегревания, гормонального дисбаланса [1, 2, 3, 10] позволило сформулировать представление о системных реакциях соединительной ткани в механизмах поддержания гомеостаза внутренней среды организма [4]. Показана существенная роль гистиоцитарного аппарата ПКСТ в коррекции нарушений осмотического равновесия внутренней среды организма при дегидратации и перегревании [1, 3, 14]. Несмотря на многочисленные данные об эффектах включения в пищевой рацион ПЦ не предпринималось попыток исследовать их действие на реакцию крови и ПКСТ при экзогенном высокотемпературном воздействии.

Поэтому была поставлена задача исследовать состояние крови и клеточный состав ПКСТ при длительном энтеральном поступлении в организм ПЦ в норме и при однократном общем перегревании организма

Методика

Для оценки степени целесообразности и безвредности длительного энтерального поступления

в организм ПЦ экспериментальные животные (половозрелые крысы — самцы линии Вистар в количестве 240 особей массой 160-180 г) получали *per os* природные цеолиты Шивиртуйского месторождения в количестве 6% от массы корма; использовалась фракция 0,25-0,5 мм дробленной цеолитсодержащей породы с 60% содержанием клиноптилолита. Полнота поедания корма контролировалась. Был установлен оптимум длительности поступления ПЦ — 30 дней. Животные содержались в условиях относительно стабильной комнатной температуры (20-22 °С). Контрольные животные содержались в этих же условиях и получали стандартный пищевой рацион без добавок. Животных перегревали по одному в течение 45 мин. в проветриваемой сухо-воздушной термокамере при температуре 42,5 °С. Контрольные и подопытные группы были сопоставимы по возрасту. Проводилось взвешивание животных и регистрировалась ректальная температура. Животные забивались под эфирным наркозом в утренние часы методом декапитации. Содержание, питание и уход за животными, выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977г. №755). Из полнослойных кусочков кожи спины, фиксированных в 12% нейтральном формалине в течение 24 часов, готовили пленочные препараты, которые окрашивали железным гематоксилином Вейерта в модификации Лилли [8], а затем изучали их на световом микроскопе Jenamed-2-Histology Zeiss при увеличении x1000. Подсчитывалось процентное содержание всех клеточных элементов подкож-

ной соединительной ткани, а также относительное содержание гистиоцитов на 1000 фибробластов — гистиоцитарно-фибробластический индекс (ГФИ) при методе случайной выборки в межсосудистых участках пленки (на каждое животное подсчитывалось не менее 1000-2000 клеток). У животных измеряли осмотическую концентрацию плазмы крови криоскопическим методом на осмометре ОМКА 1Ц-01; на спектрофотометре СФ-26 определяли токсичность плазмы по Н.И. Габриэлян; проводился подсчет общего лейкоцитоза гемокситометром кондуктометрическим ГЦМК-3; лейкоцитарную формулу и лейкоцитарный профиль определяли на мазках периферической крови, фиксированных в метаноле с последующей окраской азур-эозином по Романовскому-Гимза, после чего подсчитывалось 200 клеток в мазке. Материал обрабатывали статистически с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Показано, что при всех сроках кормления цеолитами не было случаев гибели экспериментальных животных, также не наблюдалось объективных признаков ухудшения их общего состояния. Животные, получавшие с пищей ПЦ, опередили в весе остальные группы. Различие достигало своего максимума к 30 суткам от начала кормления. Кормление ПЦ увеличивало массу тела на $40,3 \pm 2,6\%$ по сравнению с контролем — $19,8 \pm 2,1\%$. Это согласуется с данными Л.Е. Панина с соавт. [9] о некотором повышении содержания соматотропного гормона в крови у птиц, потребляющих с кормом цеолиты Шивиртуйского месторождения. Осмотическая концентрация плазмы крови в этом случае достоверно не отличалась от таковой в контроле: $277,6 \pm 4,1$ — $281,6 \pm 4,9$ ммоль/кг (в опыте) по сравнению с $281,2 \pm 4,0$ — $272,5 \pm 5,0$ ммоль/кг (в контроле). Ректальная температура тела также достоверно не отличалась от контрольных величин: $37,3 \pm 0,1$ — $37,9 \pm 0,1$ °C (в опыте), $37,1 \pm 0,1$ — $37,6 \pm 0,1$ °C (в контроле). При определении содержания молекул средней массы (МСМ) в плазме крови обнаружено, что при поступлении в организм ПЦ концентрация МСМ снижалась: в контроле она составляла $0,281 \pm 0,07$, а в опыте — $0,248 \pm 0,008$ единиц оптической плотности.

Изменения лейкоцитарного состава периферической крови находились в пределах признанных границ нормы [6]. В работах, опубликованных ранее, отмечалось, что состав клеточной популяции ПКСТ достаточно стабилен для каждого вида

животных [4]. У животных, получавших с пищей ПЦ, наблюдались умеренно выраженные, но достоверно значимые изменения содержания основных клеточных элементов ПКСТ: снижалось процентное содержание гистиоцитов, повышалось процентное содержание фибробластов, уменьшался гистиоцитарно-фибробластический индекс: 354 ± 10 — в опыте и 393 ± 9 — в контроле (Таблица 1). Клеточные элементы ПКСТ животных цеолитной группы по своим морфологическим критериям не отличались от клеток ПКСТ контрольной группы.

Таким образом, мы видим, что длительный прием ПЦ не вызывает каких-либо серьезных изменений в организме в целом, и в частности, в развитии гистиоцитарного аппарата ПКСТ крыс линии Вистар.

Из литературы известно, что при однократном общем перегревании в организме развивается неспецифическая стрессовая реакция, активируется система «гипоталамус-гипофиз-надпочечники» [12]. Используемый в наших экспериментах режим гипертермии являлся экстремальным для контрольной группы животных, содержащихся на общем рационе, что подтверждалось повышением температуры тела в среднем на $4,4$ °C или на $11,8\%$ от исходного уровня. Многих животных тепловое воздействие приводило к гибели, наступающей либо в конце экспозиции, либо спустя 1-2 часа. В среднем по всем сериям экспериментов постгипертермическая летальность животных контрольной группы составила $26,7\%$. Животные цеолитной группы значительно легче переносили предъявленную нагрузку. Это проявлялось и почти вдвое меньшим подъемом ректальной температуры — в среднем на $6,0\%$ от исходного уровня. Значительно меньше была среди них и летальность — в среднем по всем сериям экспериментов этот показатель составил $17,3\%$. У животных контрольной группы после перегрева осмоларность плазмы крови увеличилась до $115,4\%$ от исходного уровня, сохраняясь повышенной в течение всего 7-дневного периода наблюдений (наблюдения велись сразу, через 3 и 7 дней после перегрева). У животных цеолитной группы осмоларность крови увеличивалась только сразу и через 1 час после воздействия на $4,8\%$ от исходного уровня; в дальнейшем она достоверно не изменялась. У контрольных животных на общем рационе после перегрева прогрессивно возрастала концентрация маркеров

Таблица 1

Клеточный состав ПКСТ у белых крыс при 30-дневном приеме ПЦ (% содержание) ($M \pm m$)

Группа	n	Фибробласты	Гистиоциты	Тучные клетки	Лейкоциты	ГФИ
Цеолит	30	$73,1 \pm 0,5^*$	$25,8 \pm 0,6^*$	$0,1 \pm 0,03$	$0,9 \pm 0,1$	$354 \pm 10^*$
Общий рацион	30	$71,2 \pm 0,4$	$27,9 \pm 0,4$	$0,2 \pm 0,05$	$0,7 \pm 0,1$	393 ± 9

Примечание: * - различие между соответствующими показателями цеолитной и контрольной групп при $P < 0,05$

эндогенной интоксикации — МСМ, оставаясь на уровне, достоверно превышающем интактный, в течение 7-дневного периода наблюдений после перегревания. Концентрация МСМ достигает на 7 сутки после перегревания $0,494 \pm 0,005$ по сравнению с исходной $0,398 \pm 0,006$ единиц оптической плотности. В цеолитной группе концентрация МСМ после перегревания возрастает в меньшей степени по сравнению с контролем, достигая максимума увеличения через 1 час после воздействия с $0,3850,006$ до $0,480 \pm 0,006$ единиц оптической плотности. К 7 суткам после перегревания в цеолитной группе содержание МСМ снижалось, достоверно не отличаясь от исходной величины.

В лейкоцитарном составе периферической крови контрольных животных в ответ на перегревание наблюдалось значительное возрастание общего числа лейкоцитов: в лейкоцитарной формуле отмечалось снижение числа лимфоцитов и повышение числа нейтрофилов; заметно выражена разница в степени прироста количества клеток лейкоцитарного профиля к 100% исходной величины: если число лимфоцитов и моноцитов выросло в среднем на 83,3%, то нейтрофилов — на 140,6%.

Лейкоцитарная реакция в ответ на перегревание у животных, предварительно получавших ПЦ, отличалась своеобразием: степень прироста общего числа лейкоцитов была достоверно меньшей, чем в контрольной группе на общем рационе; вместо нейтрофилии отмечалась относительная нейтропения, вместо лимфопении — увеличение относительного содержания лимфоцитов и моноцитов; отмечен преимущественный рост числа лимфоцитов в среднем на 64,2% от исходного уровня (нейтрофилов — в среднем на 43,3%). По классификации Л.Х. Гаркави с соавт. [5], подобный характер изменений (лимфоцитоз и нейтропения) отражает адаптационную реакцию активации на стрессирующий раздражитель средней силы и сопровождается длительным повышением резистентности организма.

Изменения в ПКСТ после перегревания у контрольных животных на общем рационе достигали максимума к 7 суткам после воздействия. На пле-

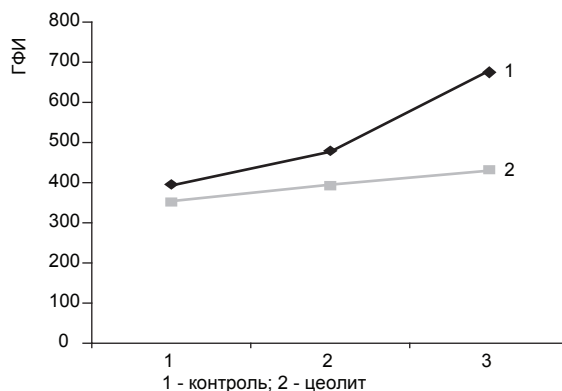


Рис. Динамика ГФИ в ПКСТ белых крыс линии Вистар после перегревания (контроль — 1) и после перегревания на фоне введения природных цеолитов (цеолит — 2).

По оси X: 1 — интактные крысы; 2 — ГФИ через 3 суток; 3 — ГФИ через 7 суток

ночных препаратах чаще встречались двухядерные гистиоциты, было много молодых форм с бобовидным ядром. Процентное содержание гистиоцитов возрастало, достигая к 7 суткам 1,3 кратного увеличения, а фибробластов снижалось, достигая 1,2 кратного уменьшения (Таблица 2); увеличивался ГФИ (Рис.). Увеличение числа гистиоцитов, как и тучных клеток, свидетельствовало об их вовлеченности в поддержание гомеостаза внутренней среды организма (причем первыми реагировали тучные клетки, а затем уже гистиоциты). Рост количества гистиоцитов коррелировал с увеличением содержания в крови токсических метаболитов.

В ПКСТ животных, получавших ПЦ, в ответ на общее перегревание также развивалась гистиоцитарная реакция (Рис., таблица 2), выраженная в меньшей степени и не столь длительная. Снижение относительного содержания фибробластов и увеличение относительного содержания гистиоцитов отмечалось лишь на 3 сутки после воздействия, к 7 суткам происходило частичное или полное восстановление их значений. ГФИ отличался от контрольных величин только на 3 сутки, возрастая на 14% без достоверного отличия от контроля на 7 сутки (Рис.). Несомненно, что эти особенности реакции основных клеточных элементов ПКСТ на фоне приема цеолитов объясняются меньшей вов-

Таблица 2

Клеточный состав ПКСТ у белых крыс на фоне введения с пищей ПЦ до, через 3 и 7 суток после перегревания (% содержание) ($M \pm m$)

Группа	Сроки забоя	Фибробласты	Гистиоциты	Тучные клетки	Лейкоциты
Общий рацион	Интактные	71,2±0,4	27,9±0,4	0,2±0,05	0,7±0,1
	3 суток после t°	67,7±0,5*	30,4±0,4*	0,6±0,1*	1,3±0,3*
	7 суток после t°	58,8±0,3*	39,9±0,3*	0,3±0,03	1,0±0,1*
Цеолит	Интактные	73,1±0,5**	25,8±0,6**	0,1±0,03	0,9±0,1
	3 суток после t°	70,9±0,6***	25,8±0,5***	0,1±0,03***	0,9±0,1***
	7 суток после t°	71,7±0,5***	26,7±0,4***	0,3±0,04	1,2±0,1

Примечание: во всех группах n=30; * — достоверные отличия перегревания по сравнению с интактными; ** — достоверные отличия интактных при цеолите от общего рациона; *** — достоверные отличия перегревания при цеолите от перегревания общего рациона. При $P < 0,05$.

леченностью подкожной рыхлой соединительной ткани животных этой группы в механизмы поддержания гомеостаза внутренней среды организма животных при действии высокой температуры. На фоне длительного приема ПЦ в меньшей степени нарушается гомеостаз внутренней среды, что позволяет ПКСТ не в полную силу участвовать в адаптационных реакциях организма. В совокупности с результатами других использованных методов и со снижением постгипертермической летальности животных цеолитной группы это говорит о менее тяжелом состоянии организма в экстремальных условиях перегревания.

Все вышеизложенное свидетельствует о том, что длительное энтеральное поступление ПЦ не имело отрицательных последствий. Для животных цеолитной группы воздействие высокой температуры было не таким тяжелым, как для животных контрольной группы. Предварительное поступление ПЦ, очевидно, позволило организму адаптироваться к перегреванию без серьезных потерь и повреждений. Более того, отмеченный протективный эффект не отменяется при прекращении получения пищевых добавок ПЦ за сутки до воздействия.

Заключение

Таким образом, было доказано, что природные цеолиты при длительном поступлении в организм животного (в течение 30 дней) оказывают протективный эффект, снижают летальность и повышают резистентность организма к экстремальным факторам, в частности, к воздействию высокой внешней температуры, снижают содержание токсических продуктов метаболизма и способствуют их элиминации из организма; отмечено более «спокойное» состояние ПКСТ, а лейкоцитарный состав периферической крови не выходит за пределы границ нормы. В ответ на однократное общее перегревание при предварительном приеме ПЦ участие ПКСТ в поддержании гомеостаза внутренней среды организма выражено в меньшей степени; в лейкоцитарной формуле отмечались изменения, свидетельствующие о лучшей переносимости организмом гипертермии.

REACTION OF BLOOD AND HYPODERMIC CONNECTIVE TISSUE OF WHITE RATS AT TOTAL OVERHEATING OF AN ORGANISM AND AT OVERHEATING ON THE BACKGROUND OF NATURAL ZEOLITES INTRODUCTION

N.F. Vorobjyova

State blood and cellular structure of hypodermic friable connective tissue of Wistar rats at prolong introduction of natural zeolites in norm and at single total overheating was studied. It has been shown that natural zeolites possessed the protective effect and

increased organism resistance to influence of high external temperature.

Литература

1. *Виноградов, В.В.* Реакция соединительной ткани на дегидратацию, голодание и водную нагрузку / В.В. Виноградов, Г.Е. Акулинин, Н.Ф. Воробьева // Механизмы адаптации и компенсации в экстремальных условиях. — Томск, 1977. — С. 51.
2. *Виноградов, В.В.* Структура рыхлой соединительной ткани и функция почек как взаимодополняющие звенья механизма осмотического гомеостаза / В.В. Виноградов, Н.Ф. Воробьева // Онтогенез почки: сборник научных трудов. — Новосибирск, 1984. — №5. — С. 6-10.
3. *Виноградов, В.В.* Реакция подкожной соединительной ткани на однократное и повторное перегревание организма / В.В. Виноградов, Н.С. Пермитина, Н.Ф. Воробьева // Гистогенез и регенерация: Тезисы докладов. — Л., 1986. — С. 16.
4. *Виноградов, В.В.* О роли ГФИ в трактовке изменений клеточного состава рыхлой соединительной ткани / В.В. Виноградов, Н.Ф. Воробьева // Бюлл. СО АМН СССР. — 1989. — №3. — С. 68-69.
5. *Гаркави, Л.Х.* Адаптационные реакции и резистентность организма / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, М.А. Уколова. — Ростов, 1990. — 224 с.
6. *Западнюк, И.П.* Лабораторные животные. Разведение, содержание и использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария. — Киев, 1983. — 383 с.
7. *Козлов, Н.Б.* Гипертермия: биохимические основы патогенеза, профилактики, лечения / Н.Б. Козлов. — Воронеж, 1990. — 104 с.
8. *Лили, Д.* Патологическая техника и практическая гистохимия / Р.Д. Лили. — М., 1969. — 645 с.
9. *Панин, Л.Е.* Влияние хонгурина, использованного в качестве кормовой добавки, на показатели обмена / Л.Е. Панин, Т.А. Третьякова, А.А. Разуменко // Теоретические и прикладные проблемы внедрения природных цеолитов в народное хозяйство: Тезисы докладов. — Кемерово, 1988. — С. 57.
10. *Правоторов, Г.В.* Изменение ультраструктуры гистиоцитов подкожной соединительной ткани при обезвоживании и голодании / Г.В. Правоторов // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 1979. — Т. 87. — №4. — С. 366-369.
11. *Султанов, Ф.Ф.* Физиологические механизмы адаптации организма к условиям аридной зоны / Ф.Ф. Султанов. — Ашхабад. — 1982. — 364 с.
12. *Султанов, Ф.Ф.* Кровообращение при гипертермии / Ф.Ф. Султанов, Б.И. Ткаченко, Г.Ф. Султанов // Под ред. Амманесова К. — Ашхабад, 1988. — 344 с.
13. *Dahm, A.* Ultra-stable zeolites — a tool for in — cell chemistry / A. Dahm, H. Eriksson // J. Biotechnol. — 2004. — Vol. 111. — №3. — P. 279-290.
14. *Wright, J.K.* Thermal injury resulting from application of a granular mineral- hemostatic agent / J.K. Wright, J. Kalns, E.A. Wolf // J. Trauma. — 2004. — Vol. 57. — №2. — P. 224-230.
15. *Zarkovic, N.* Anticancer and antioxidative effects of micronized zeolite clinoptilolite / N. Zarkovic, K. Zarkovic, M. Kralj // Anticancer Res. — 2003. — Vol. 23. — №2B. — P. 1589-1595.