

Зайко Олег Александрович

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ
БРЫЖЕЕЧНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ И ПЕЧЕНИ
ПОСЛЕ ПЕРОРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ВЫСОКИХ ДОЗ
СЕЛЕНИТА НАТРИЯ И ПРИ КОРРЕКЦИИ**

14.03.01– анатомия человека

14.03.03 – патологическая физиология

Автореферат диссертации на соискание ученой
степени кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2012

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
Путалова Ирина Николаевна
доктор медицинских наук, профессор
Конвай Владимир Дмитриевич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор
Обухова Лидия Александровна
(Новосибирский государственный университет,
профессор кафедры физиологии факультета
естественных наук)
доктор медицинских наук, профессор
Сафронов Игорь Дмитриевич
(Новосибирский государственный медицинский
университет, профессор кафедры патологической
физиологии и клинической патофизиологии)

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (г. Томск)

Защита состоится «___» _____ 2012 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.05 при Новосибирском государственном медицинском университете по адресу: (630091, Новосибирск, Красный проспект, 52; тел.: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Новосибирского государственного медицинского университета (630091, Новосибирск, Красный проспект, 52)

Автореферат разослан «___» _____ 2012 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

А.В. Волков

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Селен играет ведущую роль в защите организма от оксидативного стресса, особенно в условиях заболеваний сердца и метаболизма ксенобиотиков. Снижение содержания данного микроэлемента в тканях и сопряженное с ним уменьшение адекватной антиоксидантной защиты клеток может спровоцировать цепную реакцию образования токсических метаболитов кислорода с последующим повреждением мембранных структур и развитием морфофункциональных изменений внутренних органов (Голубкина Н.А., Папазян Т.Т., 2006; Марино Пол Л., 2010).

Большинство территорий Российской Федерации по содержанию селена в почве относятся к селенодефицитным. Поэтому предполагается наличие селенодефицита и у проживающих на данных территориях людей (Голубкина Н.А., Папазян Т.Т., 2006). Этим руководствовались при разработке мероприятий по профилактике селенодефицитных состояний (Онищенко Г.Г., 2000, 2004). Однако в ряде случаев предложения по проведению селенизации плохо аргументированы, в них не учитываются различия между истинно селенодефицитным состоянием и пониженным селеновым статусом организма (Bleys J. et al., 2007; Bleys J. et al., 2009). Вместе с тем, в настоящее время широко применяются пищевые добавки, мультивитаминные препараты, содержащие селен, продукты питания, соль, напитки, корма для сельскохозяйственных животных, обогащенные органическими и неорганическими соединениями данного микроэлемента. Вследствие этого увеличивается угроза поступления в организм высоких доз этого вещества. Соединения селена обладают низким терапевтическим порогом, и даже относительно небольшое превышение поступления их в организм способно вызвать отравление (Spallholz J., 1994; Golubkina N.A. et al., 2004; Bleys J. et al., 2007; Bleys J. et al., 2009).

Механизмы развития этого состояния недостаточно изучены, что лимитирует разработку эффективных лечебно-профилактических мероприятий. Повреждающее действие этого вещества может быть связано с нарушением

процессов, в которых селен принимает непосредственное участие: транспорта кислорода кровью, функционирования аэробных и анаэробных систем энергообеспечения, катаболизма пуриновых мононуклеотидов и сопряженной с ним продукции активных кислородных метаболитов, повреждающих ненасыщенные жирные кислоты фосфолипидов мембранных структур. В защите последних от липопероксидации важную роль играет селенсодержащий фермент – глутатионпероксидаза. В состав активного центра этого фермента входит глутатион, играющий важную роль в регуляции антиоксидантной системы защиты клетки от оксидативного стресса, обезвреживании продуктов перекисного окисления липидов (Антоняк Г.Л., 1997; Антоняк Г.Л. и соавт., 1998; Антоняк Г. Л. и соавт., 1999; Антоняк Г.Л. и соавт., 2000; Burc R.F. et al., 1995; Р. Марри и соавт., 2009).

Вместе с тем, до сих пор не проводилось комплексного исследования морфологических и функциональных основ реагирования органов, ответственных за детоксикацию и поддержание гомеостаза внутренней среды организма, брыжеечных лимфатических узлов и печени, на введение высоких доз селена и аминокислот, повышающих уровень глутатиона. Выяснению этих вопросов посвящено настоящее исследование.

Цель исследования. Выявить особенности развития структурных и функциональных преобразований брыжеечных лимфатических узлов и печени в условиях перорального введения высоких доз селенита натрия и после коррекции аминокислотами, участвующими в биосинтезе глутатиона.

Задачи исследования

1. Изучить строение брыжеечных лимфатических узлов и печени у интактных крыс и особенности их морфологических изменений после пятикратного перорального введения селенита натрия в дозе 5 мг/кг.
2. Провести сравнительную оценку процессов антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов в брыжеечных лимфатических узлах, печени и эритроцитах в норме и после воздействия высоких доз селенита натрия.
3. Исследовать особенности морфофункциональных и метаболических

преобразований брыжеечных лимфатических узлов и печени после пятикратного введения аминокислот, участвующих в биосинтезе глутатиона (глутамата натрия, ацетилцистеина и глицина).

4. Изучить морфологические особенности брыжеечных лимфатических узлов и печени при введении аминокислот (глутамата натрия, ацетилцистеина и глицина) на фоне высоких доз селенита натрия.

5. Оценить эффективность влияния аминокислот, участвующих в биосинтезе глутатиона, на метаболические процессы в брыжеечных лимфатических узлах, печени и эритроцитах, связанные с пероральным введением высоких доз селенита натрия.

Научная новизна исследования. Впервые проведено комплексное исследование влияния высоких доз селенита натрия на структурную организацию и метаболические процессы брыжеечных лимфатических узлов и печени. Получены новые данные о том, что даже в норме для брыжеечных лимфатических узлов характерна более низкая эффективность систем антирадикальной и антиперекисной защиты в сравнении с печенью. Пятикратное введение высоких доз селенита натрия в организм крыс вызывает развитие гипоксии, что сопровождается подавлением процессов энергообеспечения, дефицитом фонда глутатиона, уменьшением эффективности функционирования антирадикальной и антиперекисной систем защиты с последующим усилением липопероксидации мембранных структур и появлением структурных и функциональных изменений в брыжеечных лимфатических узлах и печени.

Выявлены синхронные изменения, происходящие в брыжеечных лимфатических узлах и печени на фоне дестабилизирующего воздействия высоких доз селенита натрия. В брыжеечных лимфатических узлах морфологические признаки снижения транспортной и дренажной функций свидетельствуют о развитии лимфостаза в зоне лимфосбора, в печени увеличение площади интерстициальных пространств также является следствием нарушения гемо- и лимфодинамики и развившегося отека

печеночной долики.

Описаны механизмы усиления перекисного окисления липидов в эритроцитах и изменения уровня стандартных биохимических показателей в плазме крови. Установлены пути коррекции развившихся при действии высоких доз селенита натрия структурных и метаболических нарушений, путем использования аминокислот, участвующих в биосинтезе глутатиона (глутамата натрия, ацетилцистеина и глицина). Введение аминокислот на фоне высоких доз селенита натрия уменьшает степень выраженности структурных и метаболических преобразований.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные новые данные о структурных, функциональных и метаболических преобразованиях брыжеечных лимфатических узлов и печени расширяют сложившиеся представления о механизмах непосредственного участия этих органов в ответной реакции организма на воздействия экзогенных и эндогенных факторов.

Проведенное комплексное изучение состояния антиоксидантной, антиперекисной систем в брыжеечных лимфатических узлах, печени и эритроцитах в норме, при введении высоких доз селенита и после коррекции позволяет понять особенности механизмов развития морфологических и функциональных изменений в этих органах. Применяемые в процессе выполнения работы биохимические методы оценки тяжести воздействия на организм высоких доз селенита натрия могут быть использованы для раннего распознавания возможных отравлений, развившихся в условиях массового применения селеносодержащих веществ, наметившегося в последние годы в Российской Федерации. Данные о взаимосвязи метаболических нарушений в брыжеечных лимфатических узлах, печени и эритроцитах свидетельствуют о целесообразности использования анализа последних для выявления избытка селеносодержащих веществ.

Такие исследования позволят не только предотвратить развитие выраженных явлений отравления этими веществами, оптимизировать методы

контроля за проведением селенизации воды, продуктов питания, но и повысить эффективность использования этой процедуры с целью уменьшения распространенности сердечно-сосудистой, онкологической, эндокринной и других видов патологии.

Представленные результаты свидетельствуют о том, что в развитии отравлений высокими дозами селенита натрия важную роль играет нарушение функции антиоксидантной системы, вызванное недостаточным обеспечением организма сульфгидрильными протекторами, в частности глутатионом. Введение животным аминокислот, участвующих в биосинтезе глутатиона: глутамата, ацетилцистеина и глицина, – приводит не только к снижению интенсивности липопероксидации мембранных структур брыжеечных лимфатических узлов и печени, но и уменьшает степень развития в них структурных изменений. Приведенные в исследованиях данные о стимулирующем влиянии аминокислот на метаболические процессы в печени, приводящие к увеличению количества двуядерных гепатоцитов, могут иметь большое значение для обоснования, с точки зрения патофизиологических механизмов и морфологических критериев, возможности использования их в комплексном лечении гепатитов с целью усиления процессов репаративной регенерации.

Совокупность полученных сведений о позитивном влиянии данных аминокислот на процессы трансформации структур брыжеечных лимфатических узлов, оптимизирующих детоксикационную, дренажную, транспортную и иммунную функции, определяют перспективу дальнейшего исследования подобных лечебно-профилактических мероприятий при экзогенных и эндогенных воздействиях.

На защиту выносятся следующие положения:

1. У брыжеечных лимфатических узлов с фрагментированным типом строения в норме – невысокий, по сравнению с печенью, уровень антиоксидантов и активности энзимов антирадикальной защиты, а также меньшая скорость инактивации гидроперекисей, что определяет разную

степень участия этих органов в обеспечении гомеостаза в регионе.

2. Пятикратное пероральное введение высоких доз селенита натрия крысам вызывает неадекватные нагрузке морфофункциональные преобразования брыжеечных лимфатических узлов и печени, что приводит к развитию в организме гипоксии с последующим усилением процессов перекисного окисления липидов в изученных органах, связанных с истощением в них функции антиоксидантной системы и уменьшением фонда глутатиона.

3. Введение в организм интактных животных аминокислот, участвующих в биосинтезе глутатиона: глутамата, ацетилцистеина и глицина, – вызывает увеличение площади коркового вещества брыжеечных лимфатических узлов и количества двуядерных гепатоцитов в печени, что отражает активацию детоксикационной функции этих органов.

4. Восполнение дефицита глутатиона (за счет аминокислот, участвующих в его биосинтезе) у крыс, подвергшихся воздействию высоких доз селенита натрия, снижает интенсивность продукции активных кислородных метаболитов, степень липопероксидации мембранных структур тканей брыжеечных лимфатических узлов и печени, уменьшая, таким образом, развитие структурных преобразований в этих органах.

Апробация работы. Основные материалы исследования доложены на международной конференции «Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии» (Новосибирск, 2008), на Международном симпозиуме «Современные проблемы лимфологии» (Алматы, 2009), на X международной конференции «Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии» (Новосибирск, 2011).

Внедрение результатов в практику. Полученные результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедр анатомии человека, патологической физиологии, кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Омской государственной медицинской академии, кафедры экологии и биологии, кафедры химии Омского государственного аграрного университета им. П.А. Столыпина. Изданы методические рекомендации

«Селенозы: патогенез, диагностика, лечение» (Омск, 2011).

Публикации. По теме диссертации опубликовано всего 28 печатных работ, основные результаты исследования представлены в 12 публикациях, из них – 5 статей в рецензируемых научных журналах, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты исследований.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 197 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, 2 глав результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 17 таблицами и 34 рисунками. Указатель литературы содержит 244 отечественных и 113 иностранных источников.

Личный вклад автора. Весь материал, представленный в диссертации, получен, обработан и проанализирован лично автором.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на 96 крысах-самцах линии Wistar массой 180 – 220, 8-месячного возраста, которых содержали в стандартных лабораторных условиях вивария. Содержание, кормление, уход и выведение из эксперимента крыс осуществляли в соответствии с требованиями санитарных правил № 1045-73 от 06.04.73 г., приказа № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР, правил проведения качественных клинических испытаний в РФ (утвержденными МЗ РФ 29.12.98), положений Хельсинской декларации (2000).

Животные были разделены на 4 группы, по 24 крысы в каждой. Первую из них, контрольную группу, составляли интактные крысы. Животные 2 и 3 групп один раз в день в течение 5 суток перорально получали селенит натрия из расчета 5 мг/кг массы, что соответствует токсической дозе этого соединения (Левшин Б.И., 1973; Рыбкина Т.И., 1999). Крысам 3 группы вместе с селенитом натрия *per os* вводили вещества, из которых синтезируется глутатион: глутамат натрия, ацетилцистеин и глицин в дозах 20, 100, 10 мг/кг массы, что соответствует эквимольным соотношениям этих аминокислот в составе глутатиона, так и терапевтическим дозам данных веществ (Машковский М.Д.,

2000; Справочник Видаль, 2010). Крысам 4 группы вводили перорально только аминокислоты (глутамат натрия, ацетилцистеин и глицин (ГАГ)).

Животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом декапитацией на 6-е сутки исследования. У них забирали кровь, печень и брыжеечные лимфатические узлы – для изучения структурной организации и исследования показателей энергетического обмена, перекисного окисления липидов.

Материал фиксировали в 10-процентном нейтральном забуференном формалине (рН = 7,2-7,4), проводили по спиртам восходящей концентрации, просветляли в ксилолах и осуществляли заливку в парафин-воск по общепринятой прописи (Лили Р., 1969). Серийные срезы, толщиной 7 мкм, изготавливали с использованием ротационного микротомы Microm HM-340E. С целью лучшей визуализации всех структур лимфатического узла срез осуществляли в продольном направлении на уровне ворот. Срезы окрашивали по стандартной методике гематоксилином Майера и эозином, пикрофуксином по методу Ван Гизон, азуром-II-эозином по Нохт-Максимову (Саркисов Д.С., Перова Ю.Л., 1969; Сапожников А.Г., Доросевич А.Е., 2000; Лили Р., 1969). Просмотр и фотографирование микропрепаратов осуществляли с использованием микроскопа Eclipse 400 (Nikon, Япония) и фотокамеры Nikon CollPix 4500.

В настоящей работе проводили морфометрический анализ структурных компонентов печени и брыжеечных лимфатических узлов. С помощью окулярной сетки при увеличении в 32 раза под микроскопом МБС-10 определяли площади основных структурных компонентов органов. В лимфатических узлах определяли площади капсулы, краевого синуса, коркового плато, паракортикальной зоны, мозговых синусов, мозговых тяжей, первичных и вторичных лимфоидных узелков, их количество, площадь герминативных центров. Рассчитывали удельные площади коркового и мозгового веществ, Т- и В- зависимых зон, синусной системы. Вычисляли корково-мозговой индекс (К/М). В печени определяли относительные площади,

занимаемые клетками и внеклеточным пространством. Степень воспалительной инфильтрации, степень выраженности венозного полнокровия, наличие дистрофических изменений, некрозов определяли визуально. Активность репаративных процессов оценивали по процентному содержанию количества двуядерных гепатоцитов на одно поле зрения. Измерения проводили не менее чем в 20 полях зрения на микроскопе ЛОМО МИКМЕД-2 при помощи окулярной сетки, вмонтированной в окуляр 10, под объективом 40 (Автандилов Г.Г., 1984, 1990).

Биохимические методы исследования. Из навесок замороженных печени, брыжеечных лимфатических узлов и эритроцитов готовили липидный экстракт по методу, описанному И.А. Волчегорским (2000). В липидных экстрактах определяли антиокислительную активность липидов (АОАЛ) по J. Glavind (1963), содержание общих липидов по методу J.N. Bragdon (1951), диеновых конъюгатов (ДК) – по И.А. Волчегорскому (2000) и липофусциноподобного пигмента (ЛФПП) – по Е.И. Львовской и соавт. (1991).

В лизатах эритроцитов, гомогенатах печени и брыжеечных лимфатических узлов определяли активность супероксиддисмутазы (СОД) [1.15.1.1] – по Е.Е. Дубининой и соавт. (1992), каталазы [1.11.1.6] – по В.Д. Конваю и А.В. Лукошкину (1988), глутатионпероксидазы (ГлПО) [1.11.1.9] – по К.К. Шульгину (2008), глутатионредуктазы (ГлР) [1.6.4.2] – по А.Н. Пашкову (2005), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) [1.1.1.49] – по М. Cheng et al. (2000), содержание глутатиона (G-SH) – по Н.А. Костромитикову и Е.А. Суменкову (2005), малонового диальдегида (МДА) по С.Н. Селютиной и соавт. (2000). Содержание гликогена в замороженных пробах печени определяли по методу A. Kemp & A.J.M. Kits van Heiningen (1954). В цельной крови исследовали содержание глюкозы и молочной кислоты, а в плазме крови – концентрацию мочевой кислоты, мочевины, холестерина, общего количества белков, альбуминов, глобулинов, билирубина, активность аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы – унифицированными биохимическими методами исследования с

использованием биохимического анализатора Humolizer.

Биометрический анализ осуществляли с использованием пакетов STATISTICA-6, БИОСТАТИСТИКА, возможностей программы Microsoft Excel. Для проверки статистических гипотез применяли t-критерий Стьюдента и непараметрические методы исследования с использованием U-критерий Манна-Уитни, критерия Краскела-Уоллиса (H) [Зайцев В. М. и соавт., 2003; Петри А., Сэбин К., 2003]. Для сравнения качественных данных двух независимых групп использовали метод углового преобразования Фишера (угол ϕ) [Сепетлиев Д., 1968]. Направление и силу связи между признаками определяли с помощью коэффициента корреляции Пирсона (или Спирмена, в случае наличия распределения, отличного от нормального, Мерков А.М., 1974).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На 6-е сутки введения высоких доз селенита натрия площадь сечения брыжеечного лимфатического узла (БЛУ) по сравнению с интактными животными уменьшается, наблюдали выраженные структурно-функциональные преобразования во всех зонах лимфатического узла. Выявлены морфологические признаки активации детоксикационной функции узла и снижения роли транспортной и дренажной функций, что, по-видимому, связано с усилением токсической нагрузки в регионе лимфосбора. Количество вторичных лимфоидных узелков было увеличено (Белянин В. Л., Цыплаков Д. Э., 1999; Майбородина В.И., 2009). Морфотип узла меняется с фрагментированного в норме на компактный, о чем свидетельствует значение К/М индекса ($0,60 \pm 0,04$ – в контроле, $3,01 \pm 0,46$ – в группе Се). Площадь коркового вещества увеличивается на 63,0 %, главным образом, за счет коркового плато и паракортикальной зоны.

Площадь синусной системы уменьшается более чем в 2 раза, как за счет краевого, так и мозгового синусов, что может свидетельствовать о сокращении транспортных и дренажных функций БЛУ по сравнению с группой интактных животных. Это влечет за собой развитие лимфостаза в зоне лимфосбора и, в свою очередь, приводит к развитию деструктивных процессов в стенке кишки

(Путалова И.Н., 2009). Площадь мозгового вещества уменьшилась почти в 3 раза. В его составе уменьшились площади мозговых тяжей и мозговых синусов, но более выражено мозговых тяжей (более чем в 3 раза). В результате указанных преобразований площадь В-зависимой зоны уменьшилась в 2,5 раза, а площадь Т-зависимой зоны, наоборот, возросла на 42 %. Выявленные структурные преобразования косвенно свидетельствуют о снижении роли гуморального звена иммунитета в регионе лимфосбора и о преобладании клеточного звена иммунитета.

Морфологические изменения в печени проявляются нарушением балочного строения. Многообразие повреждающего действия селенита натрия на клетки печени проявляется развитием деструктивных процессов не только в перипортальных клетках, но и в клетках центральной зоны печеночной дольки. Нарушается отток лимфы, желчи из печеночной дольки, приводя к развитию отеков и расширению портальных трактов, межклеточных пространств с последующей их инфильтрацией нейтрофилами и лимфогистиоцитарными элементами. Воспалительный инфильтрат обнаруживали, как в пределах перипортальных зон, так и диффузно.

О нарушении репаративной функции печени свидетельствует существенное уменьшение (на 60,4 %) количества двуядерных гепатоцитов по сравнению с контролем. Структурные изменения печени повлекли за собой функциональные, что отразилось в повышении концентрации билирубина и активности АлАТ (на 133,3%) и АсАТ (на 42 %) в плазме крови. Снижение в ней содержания холестерина, белков (за счет фракции альбуминов) указывает на нарушение и синтетической функции этого органа.

Структурным преобразованиям в тканях, в том числе в печени и брыжеечных лимфатических узлах, предшествуют биохимические изменения, степень выраженности которых возрастает по мере присоединения деструктивных и некротических поражений.

На 6-е сутки в крови животных 2 группы (Се) определяли снижение количества эритроцитов (на 21,3 %) и концентрации гемоглобина (на 25,7 %),

что приводит к развитию гипоксии. Вследствие этого повышается интенсивность реакций анаэробного гликолиза, что выражается в увеличении в крови концентрации молочной кислоты (на 46,4 %). К развитию данного явления, наряду с дефицитом глутатиона, способны привести гипоксия, обусловленная снижением числа циркулирующих эритроцитов, и недостаточность поврежденного селеном гемоглобина транспортировать кислород (Марино Пол Л., 2010).

В связи с тем, что реакции анаэробного гликолиза недостаточно эффективны, последствием их усиления является повышенная потребность в углеводах, проявляющаяся в снижении содержания гликогена в печени (на 52,3 %). Развившаяся в крови животных группы Се гипергликемия является компенсаторным механизмом, направленная на предотвращение развития дефицита углеводов. Свой вклад в увеличение содержания глюкозы в крови вносит интенсификация реакций глюконеогенеза, о чем свидетельствует увеличение содержания мочевины в плазме крови крыс группы Се, которая превышает аналогичный показатель контроля.

Одним из последствий гипоксии является интенсификация анаэробного гликолиза с последующим усилением продукции лактата, приводящим к закислению тканей. Это способствует активации аденилатдезаминазы и аденозиндезаминазы, катализирующих промежуточные реакции расщепления АМФ до гипоксантина, приводя, таким образом, к увеличению уровня последнего в различных органах (Конвай В. Д., Золин П. П., 2009; Марино Пол Л., 2010). Дальнейшее окисление гипоксантина ксантиноксидазой влечет за собой увеличение концентрации мочевой кислоты в крови (на 26,5 %). Свидетельством взаимосвязи этих процессов является наличие резко выраженной корреляционной связи между концентрацией лактата и урата в крови крыс группы Се ($r = 0,796$).

Эти процессы сопряжены с усиленной продукцией ксантиноксидазой активных кислородных метаболитов, что приводит к повышенному расходу фонда антиоксидантов (Конвай В. Д., Золин П. П., 2009). Свидетельством

интенсификации этого процесса в тканях печени и БЛУ у крыс группы Се является уменьшение в них не только содержания глутатиона, водорастворимого антиоксиданта, но и антиокислительной активности липидов (АОАЛ).

Повреждающий эффект АКМ усугубляется из-за недостаточно эффективной их инактивации ферментами антирадикальной защиты. Активность СОД в эритроцитах крыс группы Се даже увеличивается. Тем не менее, снижение активности каталазы и ГлПО приводит к нарушению оптимального соотношения между активностью этих ферментов и СОД, что уже само по себе является неблагоприятным для клетки (Иошина В.И., Камардинов Д.Х., 2005).

При этом активность СОД в печени и в БЛУ животных снижается. Активность каталазы снижается во всех трех исследуемых объектах: печени, брыжеечных лимфатических узлах и эритроцитах. Уменьшение активности антиоксидантных ферментов, водорастворимого антиоксиданта глутатиона, способствует повреждению мембранных структур клеток. С усиленной продукцией АКМ можно связать увеличение в клетках печени, БЛУ и эритроцитов содержания продуктов перекисного окисления липидов: ДК, МДА и ЛФПП. Существенный вклад в увеличение в тканях уровня этих веществ вносит, по-видимому, и недостаточно эффективная инактивация образующихся гидроперекисей липидов. Активность ГлПО, катализирующей данную реакцию, в печени и БЛУ крыс группы Се снижается. К торможению данного фермента *in vivo* может привести и недостаточная обеспеченность его вторым субстратом – глутатионом. Дефициту последнего способствует, как усиленное вовлечение его в реакции связывания селена, инактивации АКМ и продуктов перекисного окисления липидов и других веществ, так и недостаточно эффективное функционирование энзимов, ответственных за поддержание оптимального уровня глутатиона в клетке. Поэтому недостатку этого трипептида принадлежит ключевая роль в эффекте высоких доз селенита натрия.

Нами предпринята попытка коррекции структурных и метаболических нарушений, вызванных этим веществом, путем введения глутамата натрия, ацетилцистеина и глицина. Предварительно мы изучили влияние этих аминокислот на структуру и функцию БЛУ и печени интактных крыс. Введение их не приводит к увеличению общей площади среза БЛУ. Вместе с тем, в структуре узла на 22,6 % возрастает площадь коркового вещества и уменьшается площадь мозгового вещества на 17,4 %. В результате значение К/М индекса ($0,902 \pm 0,024$) увеличилось на 49 % (в контроле – $0,605 \pm 0,044$), что указывает на изменение морфотипа узла на промежуточный (в контроле - фрагментированный). Лимфатические узлы данного типа оптимально сочетают дренажную и детоксикационную функции (Бородин Ю.И., 1968). Микроскопическая картина печени на фоне введения ГАГ соответствует нормальному строению. Структура долек сохранена. Признаков нарушения гемолимфодинамики не выявлено. Наблюдающиеся структурные изменения отражают повышенную функциональную активность. Увеличивается количество двуядерных гепатоцитов, и оно является максимальным для данного эксперимента.

Введение крысам, подвергшимся воздействию высоких доз селенита натрия, аминокислот, участвующих в биосинтезе глутатиона, приводит к снижению дефицита этого трипептида в печени, БЛУ и эритроцитах, что способствует уменьшению повреждающего эффекта вводимого селенита натрия. Вследствие лучшей обеспеченности клеток глутатионом повышается эффективность функционирования ферментов, инактивирующих АКМ и перекисные соединения. Структурные преобразования, отмеченные нами в БЛУ животных группы (Се+ГАГ), свидетельствуют об усилении их детоксикационной функции. Значение К/М индекса указывает на преобладание в структуре узла коркового вещества, в результате БЛУ относится к компактному морфотипу. Увеличивается площадь коркового плато (в 2,1 раза), значение ее превышает показатели у животных группы Се, что косвенно свидетельствует об активации дренажной функции узла. Площадь

паракортикальной зоны уменьшается по сравнению с таковой у животных группы Се и соответствует контрольному значению.

Таким образом, структурные преобразования в БЛУ узлах крыс группы Се+ГАГ свидетельствуют об усилении не только детоксикационной и дренажной функций узлов, но и процессов пролиферации в них клеточных элементов.

Введение крысам ГАГ способствует уменьшению дистрофических и некротических изменений в печени. Они носят локальный характер (до 5-7 клеток) и выявляются как в перипортальной, так и в периферической зонах, с наличием не более 3 фокусов в печеночной дольке. Строение долек печени сохранено. Снижается степень воспалительной инфильтрации и венозного полнокровия на фоне усиления репаративной регенерации. Отмечаются признаки активации ретикулоэндотелиальной системы, выражающиеся в гиперплазии купферовских клеток. В ядрах выявляются множественные, увеличенные в размерах ядрышки. Возрастает количество двуядерных гепатоцитов. Происходит сокращение площади интерстициальных пространств печеночной дольки, которая меньше аналогичных показателей, как у крыс группы Се, так и у интактных животных. Это можно связать со стимулирующим действием глутатиона на дренажные и репаративные процессы в печени.

Введение ГАГ крысам, подвергшимся воздействию высоких доз селенита натрия, предотвращает развитие дефицита глутатиона во всех исследуемых тканях: БЛУ, печени и эритроцитах, что способствует более высокому, чем у крыс группы Се, содержанию в крови эритроцитов (на 17,6 %) и гемоглобина (на 32,7 %). Это приводит к снижению степени гипоксии, выражающейся в уменьшении интенсивности реакций анаэробного гликолиза и связанному с ней концентрации молочной кислоты (на 23,2 %). Вследствие этого уровень гликемии снижается и не отличается от контрольного, а содержание гликогена в печени увеличивается (на 94,1 % по сравнению с уровнем этого показателя у животных группы Се).

Уменьшение степени лактоацидоза предотвращает чрезмерное расщепление пуриновых мононуклеотидов, что выражается в более низком, чем у крыс группы Се, содержании мочевой кислоты в плазме крови (на 14,7 %). Снижению степени явлений гипоксии и сопряженного с ней закисления тканей уменьшает интенсивность продукции АКМ. Это выражается в более высокой, чем у крыс группы Се, АОАЛ в печени и брыжеечных лимфатических узлах. Связывание глутатионом избытка селена уменьшает, вероятно, и степень снижения им в тканях уровня цинка, меди, необходимых для биосинтеза СОД, и железа, входящего в состав гема, каталазы (Зенков Н. К. и соавт., 2001). Это, наряду с защитой от повреждения их апоферментов АКМ глутатионом, способствует лучшей сохранности активности данных ферментов в тканях крыс группы Се + ГАГ.

Комплексное воздействие на клетки описанных выше факторов снижает повреждающий эффект высоких доз селенита натрия, уменьшая степень липопероксидации мембранных структур. Это выражается в более низком, чем у животных группы Се, содержании ДК, МДА и ЛФПП.

Восстановление уровня антиоксидантов и активности ферментов антирадикальной защиты снижает интенсивность деструктивных процессов в печени, что выражается в меньшей степени выраженности биохимических показателей в плазме крови. В результате уменьшается активность АлАТ и АсАТ, концентрация билирубина, увеличивается содержание холестерина и белков в плазме крыс группы Се+ГАГ.

Таким образом, пероральное введение крысам высоких доз селенита натрия приводит к развитию гипоксии с последующим усилением процессов перекисного окисления липидов, сопряженным с торможением функции антиоксидантной системы и уменьшением в тканях брыжеечных лимфатических узлов и печени фонда глутатиона. Восполнение дефицита последнего способствует не только эффективному энергообеспечению в клетках данных органов, уменьшению степени липопероксидации мембранных структур, но и предотвращает развитие в них структурно-функциональных

преобразований.

ВЫВОДЫ

1. Морфофункциональными особенностями брыжеечных лимфатических узлов интактных животных являются: преобладание площадей мозгового вещества, синусной системы и В-зависимой зоны; низкие значения содержания липидных антиоксидантов, глутатиона, активности ферментов антирадикальной и антиперекисной защиты, что свидетельствует о доминировании их транспортного потенциала и отражает низкий токсический и антигенный прессинг в регионе лимфосбора.

2. Пятикратное пероральное введение высоких доз селенита натрия вызывает:

а) в брыжеечных лимфатических узлах: уменьшение общей площади среза и площади их синусной системы, что является морфологическим показателем снижения дренажной, транспортной функций узла, а смена их морфотипа с фрагментированного (в контроле) на компактный указывает на возрастание токсической нагрузки;

б) в печени, преимущественно в перипортальных зонах, развиваются выраженные деструктивные изменения, увеличивается площадь интерстициальных пространств, уменьшается количество двуядерных гепатоцитов; на фоне чего повышается содержание билирубина, АСАТ, АЛАТ, но уменьшается концентрация холестерина, альбуминов и гликогена;

в) в крови уменьшается количество эритроцитов и гемоглобина, возрастает содержание молочной и мочевой кислот, что является проявлением гипоксии.

3. Пероральное введение высоких доз селенита натрия вызывает истощение антиоксидантной системы, в том числе уменьшение фонда глутатиона на фоне усиленной продукции активных кислородных метаболитов; приводит к чрезмерной липопероксидации мембранных структур в брыжеечных лимфатических узлах, печени и эритроцитах, что выражается в увеличении в этих органах уровня продуктов перекисного окисления липидов.

4. Введение интактным животным аминокислот, участвующих в биосинтезе глутатиона, способствует усилению детоксикационной функции брыжеечных лимфатических узлов, о чем свидетельствует увеличение площади коркового вещества (на фоне сохраненной общей площади); и повышению функциональной активности печени, морфологическим показателем этого является увеличение количества двуядерных гепатоцитов.

5. Использование аминокислот, участвующих в биосинтезе глутатиона, на фоне применения высоких доз селенита натрия приводит к снижению токсической нагрузки в регионе, о чем свидетельствует уменьшение площадей паракортикальной и Т-зависимой зон в брыжеечных лимфатических узлах и интерстициальных пространств в печени.

6. Использование аминокислот, участвующих в биосинтезе глутатиона, с целью коррекции изменений, связанных с введением высоких доз селенита натрия уменьшает дефицит фонда антиоксидантов, степень развития процессов перекисного окисления мембранных структур, но полностью его не предотвращает.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Зайко О.А.**, Синдирева А.В., Путалова И.Н., Конвай В.Д. Эколого-токсикологическая оценка действия селена в условиях южной лесостепи Омской области // Современные проблемы элементозов в условиях Западной Сибири : монография. Омск, 2010. С. 5-26, автора – 0,66 п.л.

2. Конвай В.Д., Синдирева А.В., **Зайко О.А.**, Симахов Р.В., Гистологические изменения костной ткани при воздействии на организм селена // **Омский научный вестник**. 2007. № 1(53). С. 34-35, автора – 0,06 п. л.

3. Синдирева А.В., **Зайко О.А.** Влияние повышенного содержания селена в почве на накопление его в рапсе яровом и состояние антиоксидантной активности в печени крыс // **Достижения науки и техники АПК**. 2009. № 3. С. 45-47, автора – 0,19 п.л.

4. Синдирева А.В., Голубкина Н.А., **Зайко О.А.** Селеновый статус населения Омской области // **Медицинская наука и образование Урала**. 2009.

№ 2. С. 66-69, автора – 0,17 п.л.

5. **Зайко О.А.**, Синдирева А.В., Путалова И.Н., Конвай В.Д. Влияние токсических доз селена на процессы перекисного окисления липидов в крови и брыжеечных лимфатических узлах крыс // **Медицинская наука и образование Урала**. 2009. № 2. С. 57-60, автора – 0,13 п.л.

6. **Зайко О.А.**, Путалова И.Н., Конвай В.Д., Морфологические и метаболические преобразования брыжеечных лимфатических узлов крыс в условиях токсических доз селенита натрия и после коррекции // **Вестник новых медицинских технологий**. 2010. Том XVII. № 2. С.20-21, автора – 0,08 п.л.

7. Путалова И.Н., Никитенко О.В., **Зайко О.А.**, Синдирева А.В. Влияние высоких доз селенита натрия на структурно-функциональную организацию лимфоидных органов // Хирургия, морфология, лимфология. 2011. Том 8. № 15. С. 54-57, автора – 0,13 п.л.

8. **Зайко О.А.**, Путалова И.Н., Синдирева А.В., Конвай В.Д. Состояние перекисного окисления липидов в брыжеечных лимфатических узлах в условиях интоксикации селенитом натрия // **Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии : материалы Международной конференции**. Новосибирск, 2008. Том 1. С. 137-139, автора – 0,09 п.л.

9. **Зайко О.А.**, Путалова И.Н., Конвай В.Д. Роль глутатиона в коррекции метаболических нарушений в брыжеечных лимфатических узлах животных, подвергшихся интоксикации селенитом натрия // **Современные проблемы лимфологии : тезисы Международного симпозиума**. Алматы, 2009. С.41, автора – 0,1 п.л.

10. Синдирева А.В., Голубкина Н.А., **Зайко О.А.** Экологические факторы и селеновый статус населения Омской области // **Экономические и экологические проблемы в меняющемся мире : сборник материалов Международной научно-практической конференции**. Омск, 2009. С. 411-413, автора – 0,13 п.л.

11. **Зайко О.А.**, Путалова И.Н., Конвай В.Д. Особенности

функционирования антиоксидантной системы в брыжеечных лимфатических узлах и печени в условиях воздействия высоких доз селенита натрия и при коррекции // Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии : материалы X Международной конференции. Новосибирск, 2011. С. 142-145, автора – 0,13 п.л.

12. Конвай В.Д., Синдирева А.В., **Зайко О.А.**, Талиева Е.Г. Биохимические критерии детоксикационной функции брыжеечных лимфатических узлов при воздействии на организм селена // Естественно-научная составляющая высшего аграрного образования Сибирского федерального округа: современное состояние и перспективы развития; опыт совершенствования и инновации : материалы региональной научно-практической конференции. Омск, 2008. С. 159-161, автора – 0,09 п.л.