

С.А.Шерстюк<sup>1</sup>  
С.А.Наконечная<sup>1</sup>  
И.В.Сорокина<sup>2</sup>  
Е.В.Наконечный<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина

<sup>2</sup> Харьковский национальный медицинский университет

<sup>3</sup> ГУ «Институт общей и неотложной хирургии имени В.Т.Зайцева НАМН Украины», г. Харьков

**Ключевые слова:** морфология, печень, почки, надпочечники, селезенка, фенолы, гистозензимы.

Надійшла: 24.02.2016

Прийнята: 26.03.2016

УДК: 612.591.11: 504.5:547.56: 616 - 092.9

## ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВО ВНУТРЕННИХ ОРГАНАХ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНОЛА В ПОДОСТРОМ ОПЫТЕ

*Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы «Закономерности физиолого-биохимической и структурно-функциональной адаптации биологических систем к факторам среды в онтогенезе» (№ государственной регистрации 0109U005083).*

**Реферат.** Целью работы была морфологическая характеристика печени, почек, селезенки, надпочечников, легких, тонкого кишечника, желудка, поджелудочной железы, сердца крыс в условиях токсической нагрузки различными дозами производных фенолов в течение длительного эксперимента. Окрашивание срезов проводилось гематоксилином и эозином по стандартным методикам. Установлено, что в дозе 1/1000 DL<sub>50</sub> морфологические изменения органов не наблюдаются. Введение крысам производных фенолов в пороговых и действующих дозах 1/10 и 1/100 DL<sub>50</sub> вызывает патологические изменения морфологии печени, почек, селезенки и надпочечников. Сделан вывод, что длительная интоксикация производными фенолов является критическим фактором для развития нарушений структурной целостности ткани печени, почек, надпочечников и селезенки с последующей их дисфункцией.

**Morphologia.** – 2016. – Т. 10, № 1. – С. 87-91.

© С.А.Шерстюк, С.А.Наконечная, И.В.Сорокина, Е.В.Наконечный, 2016

✉ svetmedic2015@yandex.ru

Sherstyuk S.A., Nakonechnaya S.A., Sorokina I.V., Nakonechnij E.V. Pathomorphological and histochemical changes in the internal organs of rats after chronic effect of phenols derivatives in the prolonged experiment.

**ABSTRACT. Background.** Neonols are known as ethoxylated phenol derivatives which have surfactant properties and adversely affect the structure and function of organs by changes in biochemical reactions in the body. **Objective.** The purpose of this study was the morphological characteristics of liver, kidneys, spleen, adrenal, lung, small intestine, stomach, pancreas, heart of rats under load with various doses of toxic phenol derivatives for a prolonged experiment. **Methods.** Tissues were fixed in neutral formalin, dehydrated in alcohol and embedded in paraffin. Staining of sections with hematoxylin and eosin was performed according to standard procedures. The 10 μm sections of organs frozen in liquid nitrogen at a temperature of -196°C were prepared in a cryostat at -18 °C. In these sections cytophotometric study determined dehydrogenase by tetrazolium salts. **Results.** It was found that at a dose of 1/1000 DL<sub>50</sub> morphological changes in organs are not observed. The oral administration of aqueous solutions of phenol derivatives in doses of 1/10 and 1/100 DL<sub>50</sub> caused pathological changes in liver morphology, kidney, spleen and adrenal glands. As a result of the long-term experiment the expanded pericapillary spaces of the liver, deformation of the kidney glomeruli, dilatation of lymphoid follicles of the spleen and enlargement of sinusoidal capillaries in adrenal glands were revealed. Histochemically phenol derivatives increased histological enzymatic activity in the liver, kidneys, adrenal glands, spleen or lead to a modification of activity in the structural units of the organ. **Conclusion.** The prolonged intoxication by phenol derivatives is critical factor for the development of disorders in structural integrity of tissues in liver, kidneys, spleen, adrenal glands and their further dysfunction.

**Key words:** morphology, liver, kidneys, adrenal glands, spleen, phenols, histological enzymes.

### Citation:

Sherstyuk SA, Nakonechnaya SA, Sorokina IV, Nakonechnij EV. [Pathomorphological and histochemical changes in the internal organs of rats after chronic effect of phenols derivatives in the prolonged experiment]. *Morphologia*. 2016;10(1):87-91. Russian.

### Введение

В настоящее время возникает необходимость исследований большого количества процессов, которые происходят в живом организме

под действием экзогенных стрессорных факторов, и которые вызывают эндогенные изменения структур и функций. Таким образом формируется стрессовое состояние в организме, которое

модулирует морфологические изменения в связи с вновь создавшимися условиями существования [1]. Уже длительное время человечество живет в неблагоприятных внешних условиях, поэтому представляется необходимым изучать факторы окружающей среды, которые действуют длительно и в малых дозах [2]. Одними из существенных факторов, влияющих на здоровье человека, есть химические, конкретно, поверхностно-активные вещества, которые могут оказывать негативное влияние на здоровье живого организма. К таким факторам относятся неонолы – оксиэтилированные производные фенолов, которые обладают поверхностно-активными свойствами и отрицательно влияют на структуру и функции путем изменений биохимических реакций в организме [3]. Пагубное действие производных фенолов заключается в стимуляции резорбции веществ в желудочно-кишечном тракте, повышении содержания холестерина в крови, изменении экскреторной функции печени, водного и электролитного баланса организма [4]. Изучая действие оксиэтилированных алкил- и изонилфенолов в остром эксперименте А.Я.Цыганенко и соавторы исследовали внутренние органы отдельных животных патогистологически [5]. В результате было найдено выраженное или умеренное полнокровие сосудов, оболочек и вещества головного мозга, сердца, легких, очаговая дистрофия печени, почек, местами кровоизлияния в корковом и интерстициальном слое; желудок, тонкий и толстый кишечник: полнокровие, отек подслизистого слоя, местами некроз, в большей мере выражены изменения в желудке и тонком кишечнике. В связи с чем в данной работе ксенобиотики отравляющего действия вводились животным в течении длительного времени в условиях подострого опыта с целью изучения не только явных признаков нарушения жизнедеятельности организма, но и степени изменения функциональных показателей на разных этапах эксперимента.

**Целью работы** стала морфологическая характеристика печени, почек, селезенки, надпочечников, легких, тонкого кишечника, желудка, поджелудочной железы, сердца крыс в условиях токсической нагрузки различными дозами производных фенолов в течение длительного эксперимента.

#### **Материалы и методы**

Гистологическому исследованию подвергались печень, почки, селезенка, надпочечники, легкие, тонкий кишечник, желудок, поджелудочная железа, сердце. При фиксации, проводке, окраске серийных срезов руководствовались классическими методами [6]. Гистохимическому исследованию подвергались печень, почки, селезенка, надпочечники. Органы замораживались в жидком азоте при температуре  $-196^{\circ}\text{C}$ . После этого материал переносился в криостат, при тем-

пературе  $-18^{\circ}\text{C}$ , готовились срезы толщиной 10 мкм. В этих срезах определялись ЛФГ, СДГ,  $\alpha$ -ГФДГ, Г-6Ф-ДГ, НАДФ. В гистохимических реакциях выявление дегидрогеназ акцепторами электронов служат соли тетразолия, которые при восстановлении приобретают другую окраску [7]. Оценка ферментативного статуса основывалась на подсчете количества гранул продукта реакции, определялась цитофотометрически и выражалась в единицах оптической плотности. В опытных и контрольных группах насчитывалось по 15 животных (белые крысы самцы) линии Вистар. Вещества в виде водных растворов вводились в желудок утром натощак с помощью зонда в течение 45 суток. Испытаны дозы 1/10, 1/100, 1/1000  $\text{DL}_{50}$  (для АФ 9-12  $3,4 \pm 0,8$  г/кг и для АФС 9-6 КМ  $2,2 \pm 1,0$  г/кг массы тела). В подостром опыте использовано 120 белых крыс. Контрольная группа животных получала дистиллированную воду в соответствующем объеме: 1мл на 100 г веса [8]. В качестве модуляторов стресса использовано два поверхностно-активных вещества с определенными свойствами: неонол АФ9-12 – оксиэтилированный алкилфенол на основе тримера пропилена. Общая Формула:  $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{-C}_6\text{H}_4\text{O-(C}_2\text{H}_4\text{O)}_n$ , где n – степень оксиэтилирования 12. Молекулярная масса = 600, водородный показатель 6,5-8,5; неонол АФС9-6КМ представляет собой натриевую соль карбоксиметилированного этоксилата на основе изонилфенола со степенью оксиэтилирования 6. Общая формула:  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{-C}_6\text{H}_4\text{O-(CH}_2\text{CH}_2\text{O)}_6\text{CH}_2\text{COOH}$ . Молекулярная масса = 512, водородный показатель 6,5-8,5.

#### **Результаты и их обсуждение**

По окончании подострого эксперимента (45-е сутки) были определены такие результаты: у животных, получавших неонол АФС9-6КМ, как несколько более токсичный препарат [9], в дозе 1/100  $\text{DL}_{50}$  обнаруживалось, что легкие характеризуются хорошо выраженной альвеолярной структурой, четкой структурой стенок бронхов и сосудов с умеренной лимфоидной инфильтрацией. Сердце хорошо сохраняет лентовидно-сетевидный рисунок миокарда. В желудке определялась умеренная гипертрофия складок, преобладание обкладочных и слизистых клеток на протяжении тела желудка с просветленной цитоплазмой, наблюдалась отечность подслизистой.

В тонком кишечнике сохранялась хорошо выраженная структура ворсинок и крипт. Отношение длины ворсинок и крипт приближалось к 1:1, хотя часть ворсинок была с разрушенными апикальными отделами. Печень – с хорошо выраженной трабекулярной структурой и расширенными межбалочными и прикапиллярными пространствами, усилением рисунка.

В поджелудочной железе наблюдалась незначительная гипертрофия ацинусов и расширенные оксифильного полюса панкреатитов. В тол-

стом кишечнике определялась умеренная гипертрофия крипт, расположенных в разрыхленной соединительной ткани собственной пластинки.

Почки были с увеличенными и разрыхленными клубочками, расширенными канальцами, нефроциты канальцев набухшие с десквамированными апикальными полюсами. Наиболее выражено расширены субкапсулярные канальцы, а также собирательные трубочки пирамид.

Селезенка с умеренно расширенными реактивными центрами лимфоидных фолликулов, которые расположены среди богатой кровью красной пульпы. Надпочечники с несколько утолщенным клубочковым слоем и увеличенными клетками пучковой зоны, расширением синусоидных капилляров, вакуолизацией и гипертрофией кортикоцитов.

Сходные изменения гистоморфологической структуры внутренних органов обнаружены под воздействием дозы 1/100 DL<sub>50</sub>, однако были менее выражены. Используемые в работе модуляторы стресса – производные фенолов в дозе 1/1000 DL<sub>50</sub> не оказывали влияния на функционально-структурные единицы внутренних органов. В целом выявленные изменения под воздействием 1/10, 1/100 DL<sub>50</sub> соответствуют повышению функционального напряжения организма и в большей степени печени, почек, надпочечников

и селезенки [10].

Гистохимически в печени, почках, надпочечниках, селезенке определялась активность ферментов Г-6Ф-ДГ, ЛДГ, СДГ, α-ГФДГ, НАДФ. В большинстве случаев производные фенолов в дозе 1/100 DL<sub>50</sub> повышали активность гистоэнзимов или вели к перераспределению их активности в структурных единицах органа. Изменения активности ферментов биохимических реакций отрицательно влияют на структуру органа и модулирует морфологические изменения в течение длительного времени воздействия [11].

Следует отметить повышение активности лактатдегидрогеназы как в тельце, так и в канальцах почек, в печени и коре надпочечников в обоих случаях воздействия (табл.1), α-ГФДГ в селезенке (табл.2), Г-6Ф-ДГ в канальцах и тельце почек, коре надпочечников, печени (табл.3), НАДФ в почках и коре надпочечников (табл.4), сукцинатдегидрогеназы в печени, почечных канальцах, надпочечниках, селезенке (табл.5); отмечалось снижение α-ГФДГ в печени. В остальных случаях наблюдалось как повышение, так и снижение активности гистоферментов в единичных случаях воздействия, что подтверждает различия в ионогенных свойствах данных веществ [12]. Доза 1/1000 DL<sub>50</sub> не оказывала влияния на динамику содержания ферментов в органах.

Таблица 1  
Влияние производных фенолов на активность ЛДГ после 45 суток воздействия в дозе 1/100 DL<sub>50</sub> (ед. опт. плотн.)

Вещество	Органы					
	Печень	Почки Тельце	Канальцы	Надпочечники		Селезенка
				Кора	Мозговое вещество	
АФ9-12	70,1±0,5*	30,3±0,2*	58,2±2,2*	60,3±5,1*	40,2±1,0	40,1±5,3*
АФС9-6КМ	93,3±1,1*	51,2±1,8*	69,9±2,2*	73,3±2,1*	40,3±1,8*	24,7±2,8
Контроль	60,0±2,1	10,1±0,9	39,8±2,2	50,2±1,1	19,8±2,0	20,1±1,7

Примечание: \* - различия достоверны по отношению к контролю, P < 0,05

Таблица 2  
Влияние производных фенолов на динамику активности α-ГФДГ после 45 суток воздействия в дозе 1/100 DL<sub>50</sub> (ед. опт. плотн.)

Вещество	Органы					
	Печень	Почки Тельце	Канальцы	Надпочечники		Селезенка
				Кора	Мозговое вещество	
АФ9-12	30,4±1,2*	20,2±2,3	68,4±1,8	40,2±2,5	10,0±1,0*	20,2±2,2*
АФС9-6КМ	58,8±1,1*	10,1±1,7*	39,9±3,5*	50,4±5,5*	20,3±3,7	19,9±1,8*
Контроль	70,3±1,8	20,0±2,0	70,1±2,7	40,3±1,2	20,0±2,4	10,1±3,3

Примечание: \* - различия достоверны по отношению к контролю, P < 0,05

Таблица 3

Влияние производных фенолов на активность Г-6Ф-ДГ после 45 суток воздействия в дозе 1/100 DL<sub>50</sub> (ед. опт. плотн.)

Вещество	Органы					
	Печень	Почки Тельце	Канальцы	Надпочечники		Селезенка
				Кора	Мозговое вещество	
АФ9-12	68,2±0,2*	39,7±0,7*	40,1±2,1*	40,1±4,1*	10,0±1,1	10,3±1,5
АФС9-6КМ	72,0±0,1*	60,4±1,4*	80,1±4,2*	80,2±2,2*	40,3±2,3*	40,4±2,4*
Контроль	59,9±0,9	10,1±0,1	70,3±3,3	49,9±2,0	10,1±1,8	20,2±3,2

Примечание: \* - различия достоверны по отношению к контролю, P < 0,05

Таблица 4

Влияние производных фенолов на активность НАДФ после 45 суток воздействия в дозе 1/100 DL<sub>50</sub> (ед. опт. плотн.)

Вещество	Органы					
	Печень	Почки Тельце	Канальцы	Надпочечники		Селезенка
				Кора	Мозговое вещество	
АФ9-12	62,2±2,0	40,0±1,7*	60,1±1,2*	50,0±5,1*	20,2±1,8	10,1±0,9
АФС9-6КМ	98,1±2,2*	60,2±3,2*	90,3±3,1*	80,4±7,1*	40,4±4,4*	60,3±2,3*
Контроль	60,0±0,8	20,2±0,2	40,0±2,0	60,4±2,2	20,2±1,9	20,1±2,6

Примечание: \* - различия достоверны по отношению к контролю, P < 0,05

Таблица 5

Влияние производных фенолов на активность СДГ после 45 суток воздействия в дозе 1/100 DL<sub>50</sub> (ед. опт. плотн.)

Вещество	Органы					
	Печень	Почки Тельце	Канальцы	Надпочечники		Селезенка
				Кора	Мозговое вещество	
АФ9-12	60,2±0,8*	19,9±1,8*	70,2±3,1*	47,8±4,8*	20,1±3,4*	20,2±2,3*
АФС9-6КМ	60,3±2,3*	10,1±2,3	56,4±4,2*	58,2±2,7*	20,1±5,0*	20,2±3,0*
Контроль	30,3±3,3	10,0±0,8	30,3±0,3	20,1±0,5	10,0±0,5	10,0±1,9

Примечание: \* - различия достоверны по отношению к контролю, P < 0,05

#### Выводы

Таким образом, по результатам подострого опыта в условиях длительного воздействия можно сделать следующие выводы: использованные в работе производные фенолов обладают политропным действием, способны в определенных дозах нарушать морфологическую структуру почек, печени, надпочечников, селезенки и других органов, что подтверждается гистохимическими изменениями в этих органах.

#### Перспективы дальнейших исследований

Результаты работы открывают новые перспективы для изучения влияния химических агентов на внутренние органы животных, поиска последовательности биохимических реакций, происходящих в органах экспериментальных животных, установления сроков приспособления органов к существованию в условиях малой интоксикации.

#### Літературні джерела References

1. Filaretova LP. [Stress in physiological studies]. Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova. 2010 Sep;96(9):924-35. Russian.
2. Shcherban NG. [Structural and functional state of membranes in the assessing of homeostasis

- in conditions of influence of xenobiotics on the body]. Eksperymentalna i klinichna medytsyna. 2006;3:70-5. Russian.

3. Zhukov VI, Stetsenko SA, Piven VI. [The biological activity of detergents - nonilbenzols

derivatives in connection with the problem of the protection of water bodies]. Belgorod: Belvitaminy; 2005. 237 p. Russian.

4. Sirenko EV, Vashchuk NA. [Experimental determination of the acute toxicity parameters of multicomponent glycol-based mixtures]. *Ekspyrymentalna i klinichna medytsyna*. 2005;1:31-4. Russian.

5. Tsyganenko AY. [Systems of biogenic monoamines and cyclic nucleotides in animals with synthetic detergent induced immunosuppression]. *Ekspyrymentalna i klinichna medytsyna*. 2001;1:18-20. Russian.

6. Volkova OV, Eletsii JK. [Fundamentals of histology with histological technique]. Moscow: Meditsina; 1982. 304 p. Russian.

7. Dixon M, Webb E. [Enzymes]. Moscow: Mir; 1982. 392 p. Russian.

8. Elizarova ON, Jidkova LV, Kochetkova TA. [Toxicology Handbook for laboratory]. Moscow: Meditsina; 1974. 168 p. Russian.

9. Voloshchenko OI, Mudryi IV. [Hygienic value of surfactants]. Kyiv: Zdorovya; 1991. 174 p. Russian.

10. Pashinyan GA. [Forensic science: the textbook for students of dental faculties of medical schools]. Moscow: GEOTAR-MED; 2001. 320 p. Russian.

11. Trakhtenberg IM. [Book on poisons and poisonings]. Kyiv: Naukova Dumka; 2000. 368 p. Russian.

12. Zolotarevskaya LA, Zhukov VI, Zovsky VN. [The biological activity of the detergents in the issue of the protection of water ecosystems]. Kharkiv: Original; 1998. 178 p. Russian.

**Шерстюк С.О., Наконечна С.А., Сорокіна І.В., Наконечний Є.В. Патоморфологічні та гістохімічні зміни у внутрішніх органах щурів при хронічному впливі похідних фенолу в підгострому досліді.**

**Реферат.** Метою роботи була морфологічна характеристика печінки, нирок, селезінки, наднирників, легень, тонкого кишечника, шлунку, підшлункової залози, серця щурів в умовах токсичного навантаження різними дозами похідних фенолу протягом довготривалого експерименту. Фарбування зрізів проводилось гематоксиліном та еозином за стандартними методиками. Встановлено, що в дозі 1/1000 DL<sub>50</sub> морфологічні зміни органів не спостерігаються. Введення щурам похідних фенолу в порогових та діючих дозах 1/10 й 1/100 DL<sub>50</sub> викликає патологічні зміни морфології печінки, нирок, селезінки й наднирників. Ключовим є розширення прикапілярних просторів печінки, деформація клубочків нирок, розтягнення лімфоїдних фоликулів селезінки й розширення синусоїдних капілярів наднирників. Гістохімічно в печінці, нирках, наднирниках, селезінці неонали підвищували активність гістоензимів, або приводили до перерозподілу активності у структурних одиницях органу. Зроблений висновок, що довготривала інтоксикація похідними фенолів є критичним фактором для розвитку порушень структурної цілісності тканини печінки, нирок, наднирників та селезінки з наступною їх дисфункцією.

**Ключові слова:** морфологія, печінка, нирки, наднирники, селезінка, феноли, гістоензими.