

***ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МАЗКОВ-
ОТПЕЧАТКОВ ОРГАНОВ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ КАК
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ МЕТОД ОЦЕНКИ ТОКСИЧЕСКОГО
ВЛИЯНИЯ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ***

Грибова Ю.В., Сахаутдинова Р.Р., Клинова С.В.

**ФБУН «Екатеринбургский медицинский — научный центр
профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий»
Роспотребнадзора**



Основным сырьем медеплавильных предприятий являются медно-сульфидные руды и продукты их обогащения, в состав которых входит кадмий, свинец, мышьяк и другие металлы.

По данным многочисленных исследований кадмий и свинец относятся к крайне токсичным элементам, оказывающим отрицательное влияние на работающих, проявляющееся в повышенных показателях общей и первичной заболеваемости.

Выявлена связь между воздействием этих металлов и последующим развитием заболеваний органов мочевыделительной системы, желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой и нервной системы человека.

Цель исследования

- ПОИСК НОВЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ВОПРОСОВ, СВЯЗАННЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ИЗУЧЕНИЕМ ВЛИЯНИЯ КАДМИЯ И СВИНЦА, КАК ФАКТОРОВ МЕДЕПЛАВИЛЬНОГО ПРОИЗВОДСТВА; РАССМОТРЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЦИТОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА МАЗКОВ-ОТПЕЧАТКОВ С МОРФОМЕТРИЧЕСКИМ АНАЛИЗОМ В КАЧЕСТВЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОГО ЭКСПРЕСС-МЕТОДА ДИАГНОСТИКИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВОЗДЕЙСТВИЯ СВИНЦА И КАДМИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ.

Материалы и методы

- Объект исследования - органы и брыжеечные лимфоузлы (БЛУ) аутбредных крыс-самцов (24 особи), начальный вес 220-225 гр., возраст - 3,5 месяца после субхронической интоксикации повторными внутрибрюшинными инъекциями $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$ в дозе 5,5 мг/кг, $CdCl_2 \cdot 2,5H_2O$ в дозе 0,38 мг/кг и их комбинации 3 раза в неделю (всего 18 введений).
- Исследованы 72 цитологических препарата мазков-отпечатков органов (печень, почки) и БЛУ крыс.
- Мазки окрашивали готовым раствором краски Лейшмана.

Материалы и методы

- Цитологические признаки изучены в световом бинокулярном микроскопе Carl Zeiss Primo Star с системой визуализации видеокамерой USCMOS при увеличении 100x и 1000x.
- При морфометрии печени и почек подсчет осуществлен на 200 клеток с каждого препарата, БЛУ на 100 клеток.
- Различия между среднегрупповыми количественными результатами обрабатывали с помощью критериев Стьюдента с использованием компьютерной программы Excel.
- Различия между средними величинами считалось статистически значимым, если вероятность возникновения случайного различия не превышала 5% ($P < 0,05$).

Таблица 1.

Некоторые цитологические характеристики тканевых отпечатков печени в % к общему числу подсчитанных клеток в препарате после субхронического воздействия раствора 2.5-водного хлорида кадмия, раствора 3-водного ацетата свинца и их комбинации в процентах от общего количества клеток, ($\bar{X}_{cp} \pm S_x$)

Показатели	Контроль	Раствор 2.5-водного хлорида кадмия	Раствор 3-водного ацетата свинца	Комбинация
Дегенеративно-измененные гепатоциты	5,83±0,60	18,00±2,08*	14,17±0,60*	18,17±1,14*
Дегенеративные клетки проксимальных канальцев, почки	7,00±0,73	12,83±0,60*	18,17±0,98*	17,33±1,02*
Дегенеративные клетки дистальных канальцев, почки	5,33±0,3 3	6,67±0,49*	8,83±0,79*	10,50±0,43*

Примечание: * – статистически значимое различие с группой «контроль» (при $p < 0,05$ по t-критерию Стьюдента).

Некоторые цитологические характеристики тканевых отпечатков печени в % к общему числу подсчитанных клеток в препарате после субхронического воздействия раствора 2.5-водного хлорида кадмия, раствора 3-водного ацетата свинца и их комбинации

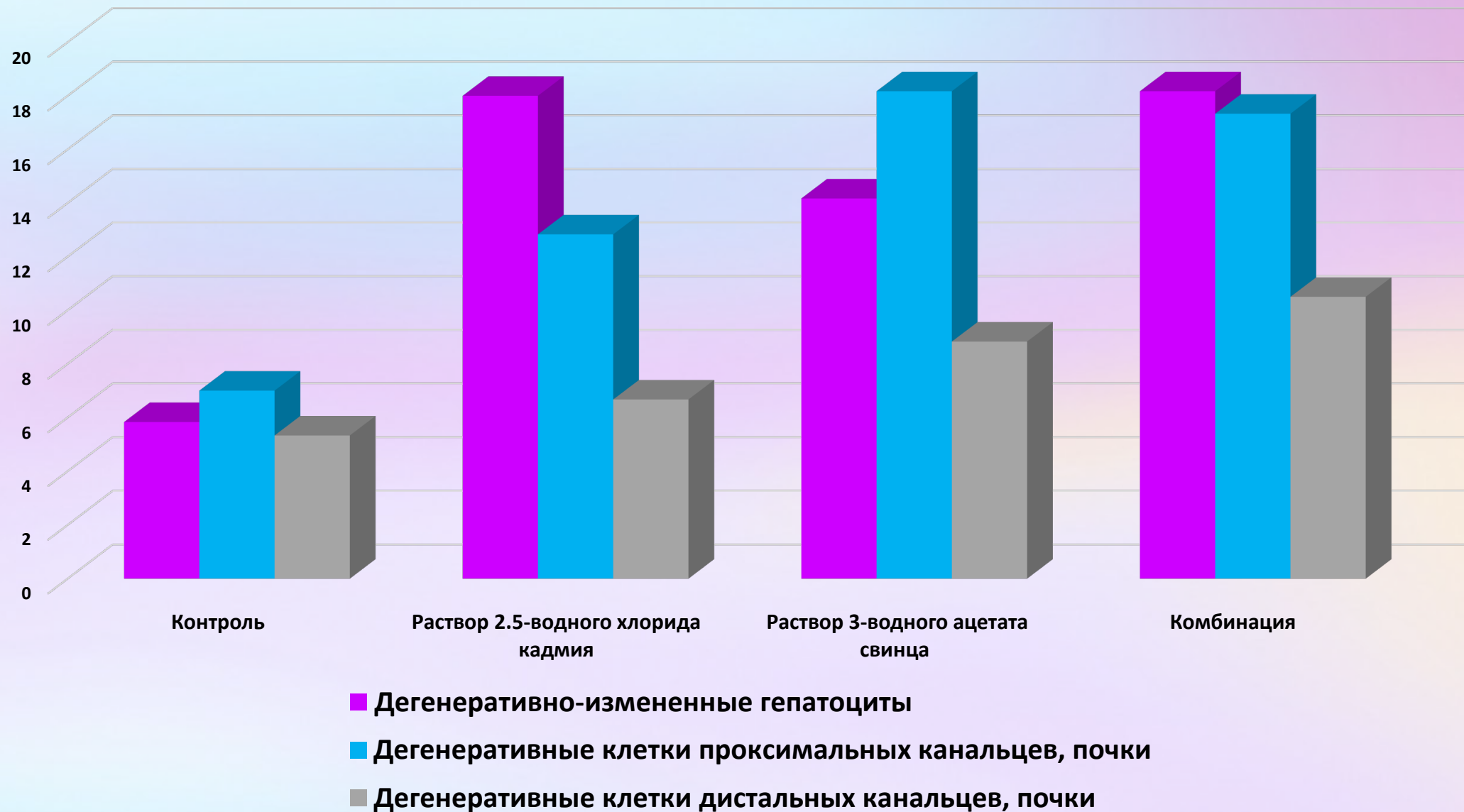


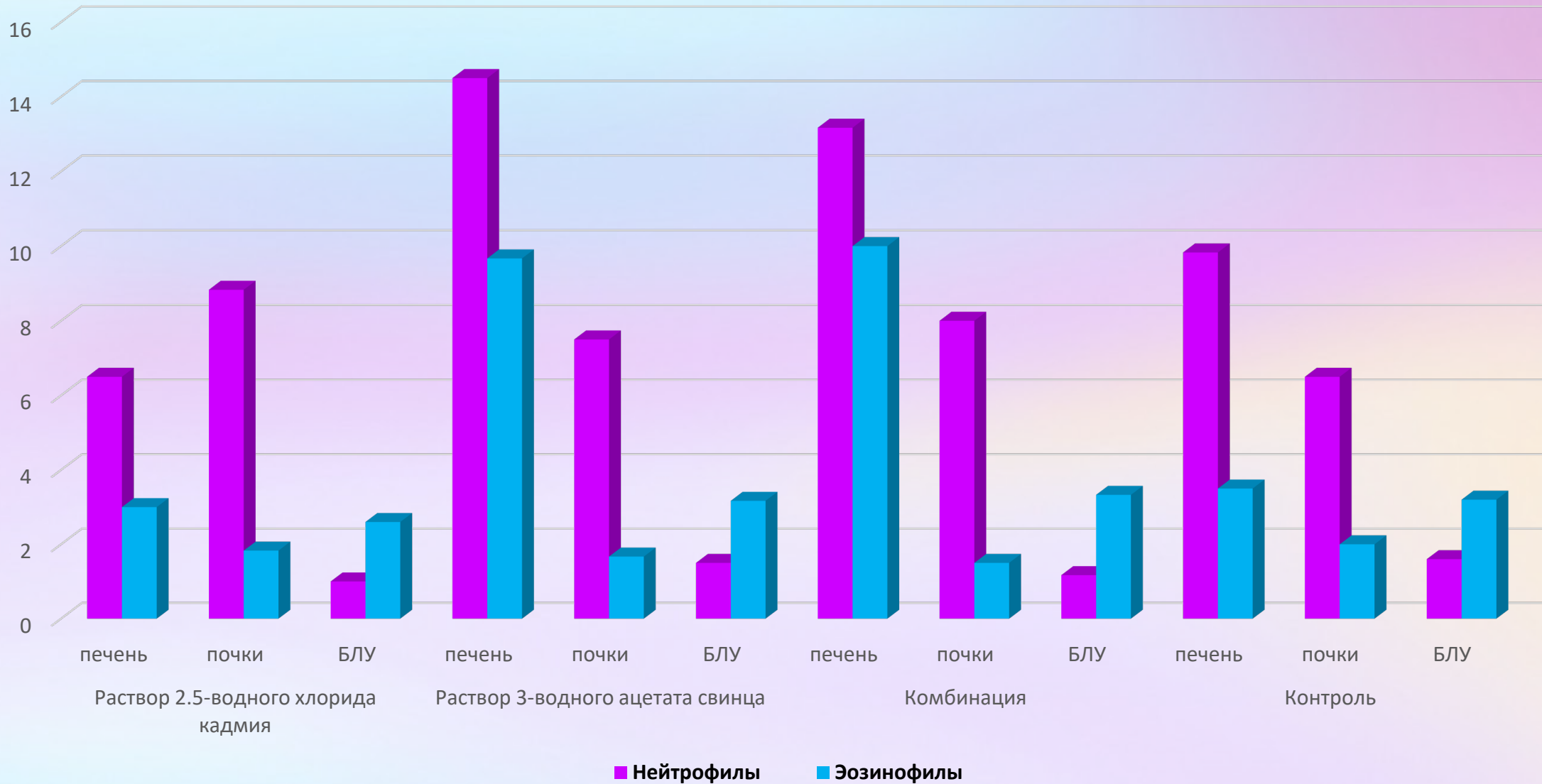
Таблица 2.

Показатели гиперергического воспаления в тканевых мазках-отпечатках после 18 введений внутрибрюшинных инъекций раствора 2.5-водного хлорида кадмия, раствора 3-водного ацетата свинца и их комбинации, в процентах от общего количества клеток, ($\bar{X}_{ср} \pm S_x$)

Показатели	Раствор 2.5-водного хлорида кадмия			Раствор 3-водного ацетата свинца			Комбинация		
	печень	почки	БЛУ	печень	почки	БЛУ	печень	почки	БЛУ
Нейтрофилы	6,50 $\pm 0,76^*$	8,83 $\pm 0,79^*$	1,00± 0,00	14,50 $\pm 0,99^*$	7,50± 0,34	1,50± 0,22	13,17± 1,19*	8,00± 0,58	1,17± 0,17
Эозинофилы	3,00 $\pm 0,37$	1,83±0,31	2,60± 0,68	9,67± 0,84*	1,67± 0,21	3,17± 0,30	10,00± 1,06*	1,50± 0,22	3,33± 1,02
Контроль нейтрофилы	9,83 $\pm 0,91$	6,50 $\pm 0,56$	1,60± 0,24	9,83± 0,91	6,50± 0,56	1,60± 0,24	9,83± 0,91	6,50± 0,56	1,60± 0,24
Контроль эозинофилы	3,50 $\pm 0,43$	2,00 $\pm 0,26$	3,20± 0,49	3,50± 0,43	2,00± 0,26	3,20± 0,49	3,50± 0,43	2,00± 0,26	3,20± 0,49

Примечание: * – статистически значимое различие с группой «контроль» (при $p < 0,05$ по t-критерию Стьюдента).

Показатели гиперергического воспаления в тканевых мазках-отпечатках после 18 введений внутрибрюшинных инъекций раствора 2.5-водного хлорида кадмия, раствора 3-водного ацетата свинца и их комбинации, в процентах от общего количества клеток



Мазки-отпечатки печени

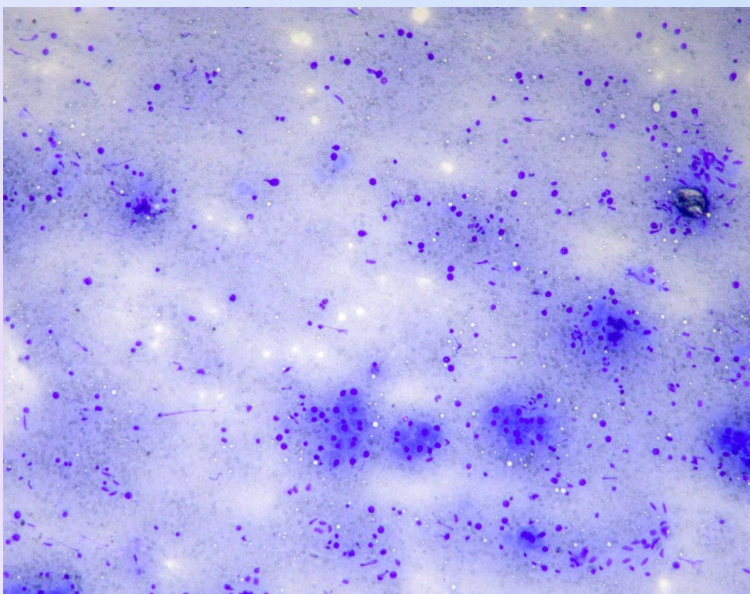


Рис.1 Цитограмма мазка отпечатка печени. Окраска по Лейшману, группа контроля. Увеличение 10х

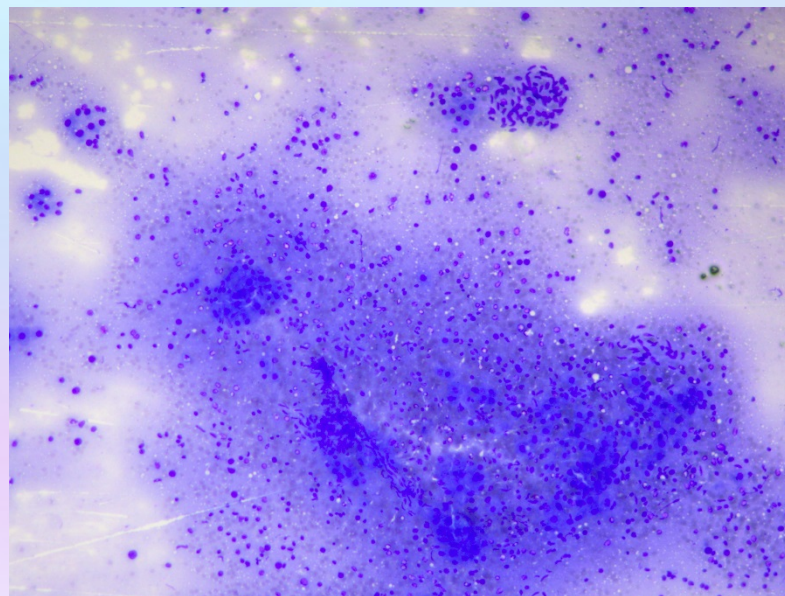


Рис.2 Лейкоцитарная инфильтрация печени после воздействия раствора 3-водного ацетата свинца. Увеличение 10х

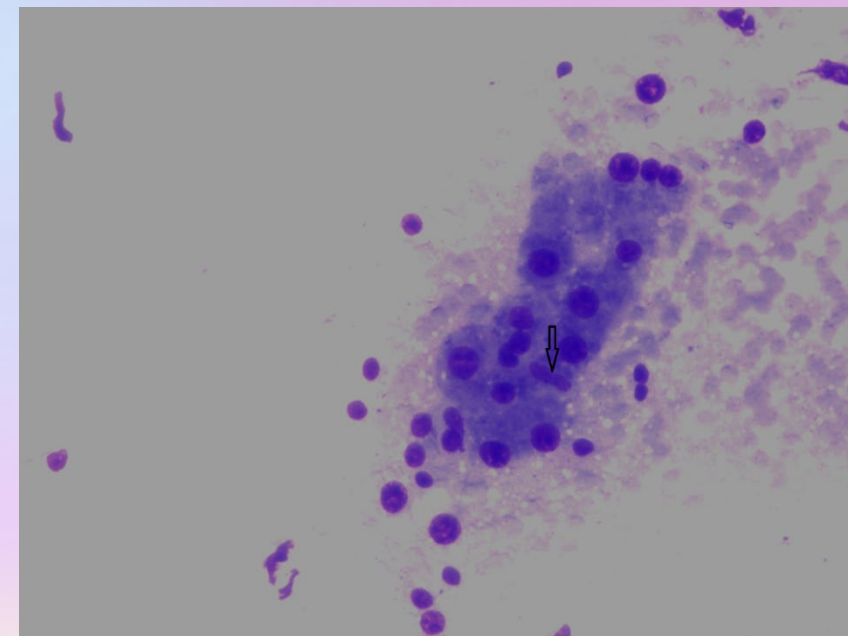
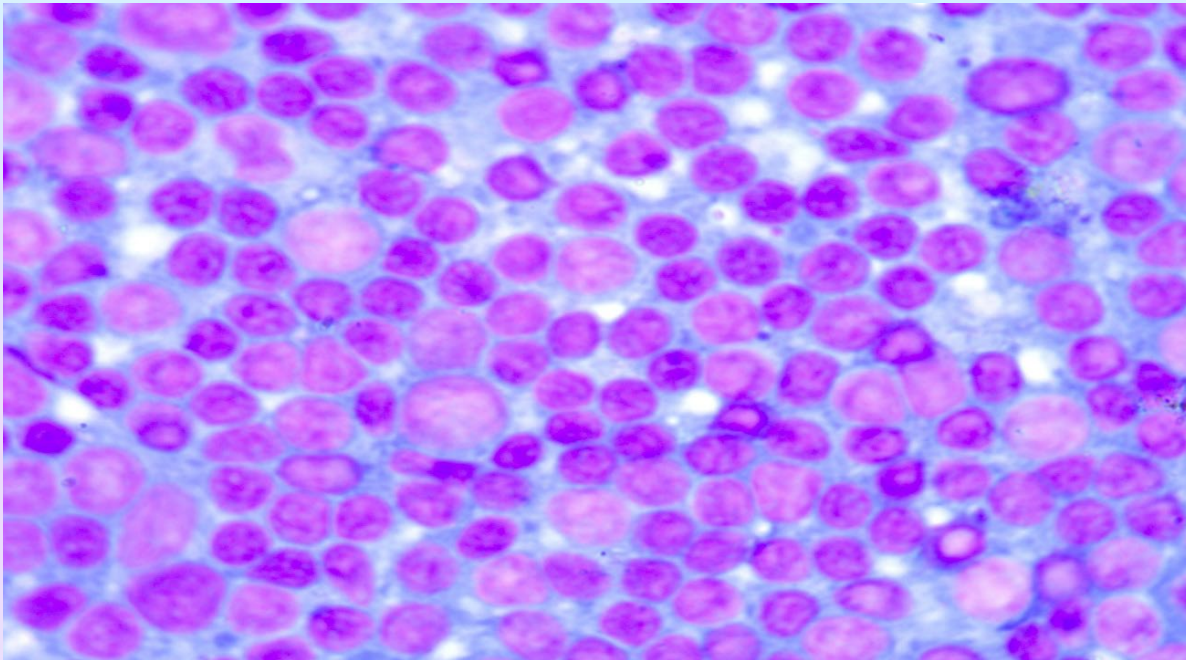


Рис.3 Дегенеративно-дистрофические изменения в мазках-отпечатках печени при воздействии комбинации солей. Увеличение 100х

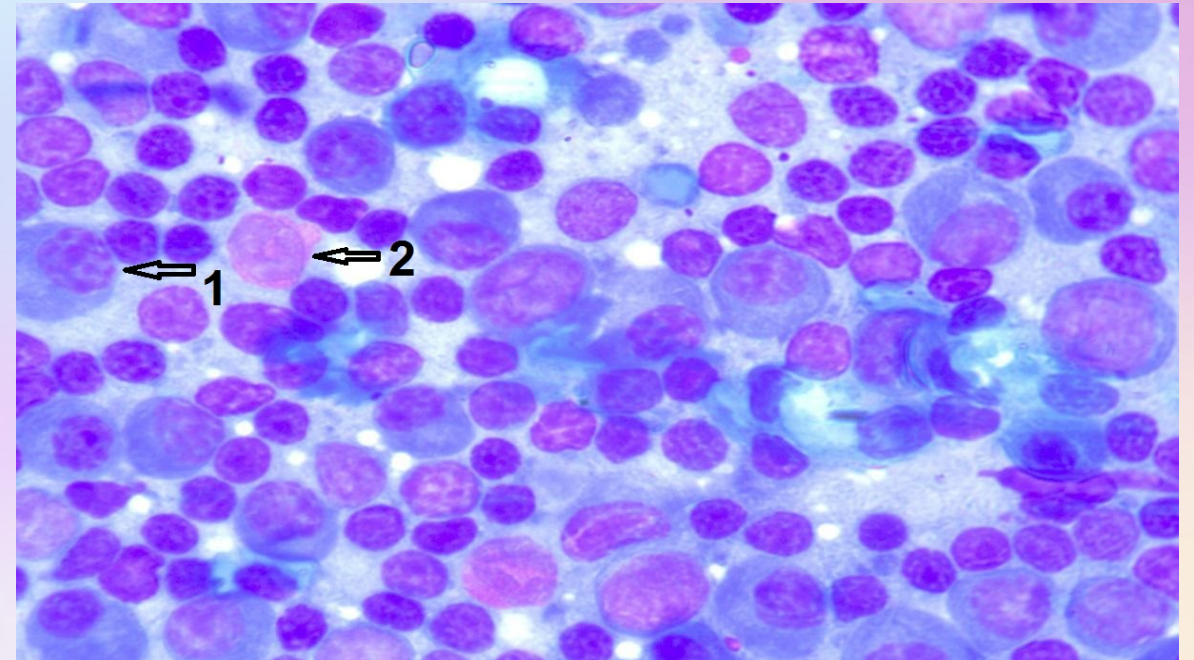
- Для оценки реакции иммунокомпетентных органов были подготовлены препараты брыжеечных лимфоузлов
- Суммарная доля зрелых лимфоцитов и пролимфоцитов в группе с солями свинца значительно меньше ($82,67 \pm 1,54$), чем в группе контроля ($86,80 \pm 0,86$)
- Отмечено достоверное снижение уровня макрофагов в группе воздействия солями кадмия ($1,60 \pm 0,24$) и эозинофилов ($2,60 \pm 0,68$) по сравнению с контрольной группой ($2,60 \pm 0,24$) и ($3,20 \pm 0,49$) соответственно.

Лимфатический узел



Контрольная группа:

Цитограмма представлена лимфоцитами разной степени зрелости (пролимфоциты, лимфоциты, лимфобласты), с небольшим количеством плазмочитов, моноцитов, эозинофилов и ретикулярных клеток.



Опытная группа:

Цитограмма представлена лимфоцитами разной степени зрелости с увеличением плазмочитов (1) и эозинофилов (2).

Заключение

- Выявлены дистрофические изменения эпителия в препаратах печени и почек при субхронической интоксикации во всех опытных группах разной степени выраженности.
- Наиболее показательные и статистически значимые цитоморфологические изменения были получены при анализе мазков отпечатков печени после воздействия раствора 3-водного ацетата свинца в оценке формирования воспалительной реакции гиперергического типа по полученным процентным сдвигам эозинофилов и сегментоядерных нейтрофилов.

Заключение

- Метод мазков-отпечатков информативен в изучении токсического действия солей тяжелых металлов в эксперименте.
- Применение метода мазков-отпечатков с цитоморфологической оценкой клеток при исследовании токсических эффектов солей тяжелых металлов позволяет получить дополнительные данные об активности патологического процесса и играет роль в понимании механизмов воздействия в эксперименте.
- Применение цитологического метода мазков-отпечатков с морфометрическим анализом в качестве дополнительного экспресс-метода диагностики расширяет возможности изучения токсических эффектов солей тяжелых металлов в различных концентрациях.

Спасибо за внимание!