

Н.Н. Михайлова <sup>1</sup>, М.С. Бугаева <sup>2</sup>, О.И. Бондарев <sup>2</sup>**ВЛИЯНИЕ ВДЫХАНИЯ УГОЛЬНО-ПОРОДНОЙ ПЫЛИ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ)**<sup>1</sup> ФГБУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний» СО РАМН (Новокузнецк)<sup>2</sup> ГБОУ ДПО «Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей» Минздравсоцразвития РФ (Новокузнецк)

Ранние сроки угольно-пылевого воздействия на организм экспериментальных животных не вызывают морфологических изменений в сердечной мышце. Поздние сроки (6–9 недель затравки) сопровождаются с одной стороны выраженными компенсаторно-приспособительными процессами, с другой – избирательным накоплением липофусцина в кардиомиоцитах, которое имеет прямую зависимость от срока воздействия неблагоприятного пылевого фактора и может служить одним из основных морфологических маркеров глубокого повреждения и гибели клеток при длительном воздействии угольно-породной пыли.

**Ключевые слова:** угольно-породная пыль, липофусцин, внутриклеточные включения

**INFLUENCE OF INHALATION COAL AND ROCK DUST ON MORPHOLOGICAL CHANGES OF HEART MUSCLE (EXPERIMENTAL RESEARCH)**N.N. Mikhaylova <sup>1</sup>, M.S. Bugaeva <sup>2</sup>, O.I. Bondarev<sup>2</sup><sup>1</sup> Research Institute of Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases SB RAMS, Novokuznetsk<sup>2</sup> State Institute of Physicians' Training, Novokuznetsk

Early stages of coal-dust exposure on laboratory animals do not cause morphological changes in heart muscle. Later periods (6–9 weeks of experiment) are accompanied on the one hand expressed compensatory-adaptive processes, on the other hand - selective accumulation of lipofuscin in cardiomyocytes. Accumulation of lipofuscin is directly dependent on the duration of the adverse effects of the dust factor and may be one of the main morphological markers of deep damage and cell death with prolonged exposure to coal and rock dust.

**Key words:** coal and rock dust, lipofuscin, intracellular inclusions

Угольно-породная пыль (УПП), как глобальный загрязнитель производственной среды, оказывает негативное системное действие на организм. Возникновение многих патологических процессов, в том числе обменно-дистрофического характера, зачастую связывают с нарушениями проницаемости клеточных мембран. Взаимодействие химических веществ, в том числе частиц кварца как фактора пылевых заболеваний, с компонентами клеточных органелл и мембран лежит в основе механизма их биологического действия. В этой связи на современном этапе оправдано изучение пато- и морфогенеза заболеваний пылевой этиологии, а также проведение экспериментальных исследований патологических процессов на клеточном уровне. В литературе встречаются лишь единичные, разрозненные, противоречивые данные о путях и механизмах проникновения пылевых частиц в клетки различных тканей и органов, внутриклеточной кумуляции продуктов обмена и взаимодействии их с различными внутриклеточными структурами. В связи с этим нет полной и объективной картины, дающей представление о процессах внутриклеточной кинетики пылевых шлаков и механизмах их токсического действия. Это определило цель нашего исследования – изучить распределение продуктов обмена веществ в ультраструктурах кардиомиоцитов в условиях длительного воздействия на организм УПП.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Для исследования патогенного воздействия УПП на организм нами были проведены эксперименты на 250 половозрелых белых лабораторных крысах-самцах массой 180–200 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария в соответствии с международными правилами «Guide for the Care and Use Animals».

Затравку УПП осуществляли ингаляционным способом по стандартизированной методике Л.Т. Еловской [2], наиболее приближенной к условиям шахтно-угольного производства, где основным путем поступления пыли в организм являются органы дыхания. Для затравки использовались ингаляционно-затравочные камеры объемом 130 л.

Затравка осуществлялась по 4 часа ежедневно (Методические указания к постановке исследований: М № 2163-1980) УПП угля марки газовожирный (ГЖ), выбор которой был основан на результатах изучения биотоксичности различных марок углей. Марка ГЖ является основной добываемой на шахтах г. Новокузнецка и обладает высокой агрессивностью. Имеет самый высокий показатель выхода смолистых веществ – 14 % и один из высоких выходов летучих веществ – 38 %, по сравнению с другими марками. Нами использовалась угольная пыль, состоящая из частиц 5 и менее микрон, концентрация которой составляла в среднем 50 мг/м<sup>3</sup>. В витающей

пыли в шахтах, добывающих газовые и жирные угли, содержание частиц размером до 5 микрон составляет 80 % от общей массы, частицы такого размера обладают наибольшей агрессивностью и попадают в глубокие разветвления бронхиального дерева [1, 3].

Все исследования проводились в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей (Страсбург, 1986) и требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к Приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 г. № 755).

Гистологическому исследованию для обнаружения грубых морфологических дефектов подвергали ткани легких, сердца, печени и почек. Результаты показали, что включения липофусциновых комплексов избирательны и селективны только для поражения сердечной мышцы. Для фиксации тканей применялся нейтральный 12% формалин, проводка в аппарате автогистолог АТ-4М. Применялись базовые окраски: гематоксилин — эозин, Ван-Гизон (пикрофуксин), а также специфическая окраска на эластик для выявления ранних фибробластических изменений в тканях и глубоко выраженных патологических проявлений, включая начальные сосудистые изменения и завершающие склеротические изменения. Как основные, так и дополнительные окраски позволяли четко определить наличие частиц угольного пигмента, иммунологические реакции обменно-дистрофические изменения с накоплением патологических продуктов, а также сосудистые изменения различной степени выраженности в зависимости от срока затравки и дозировки угольной пыли.

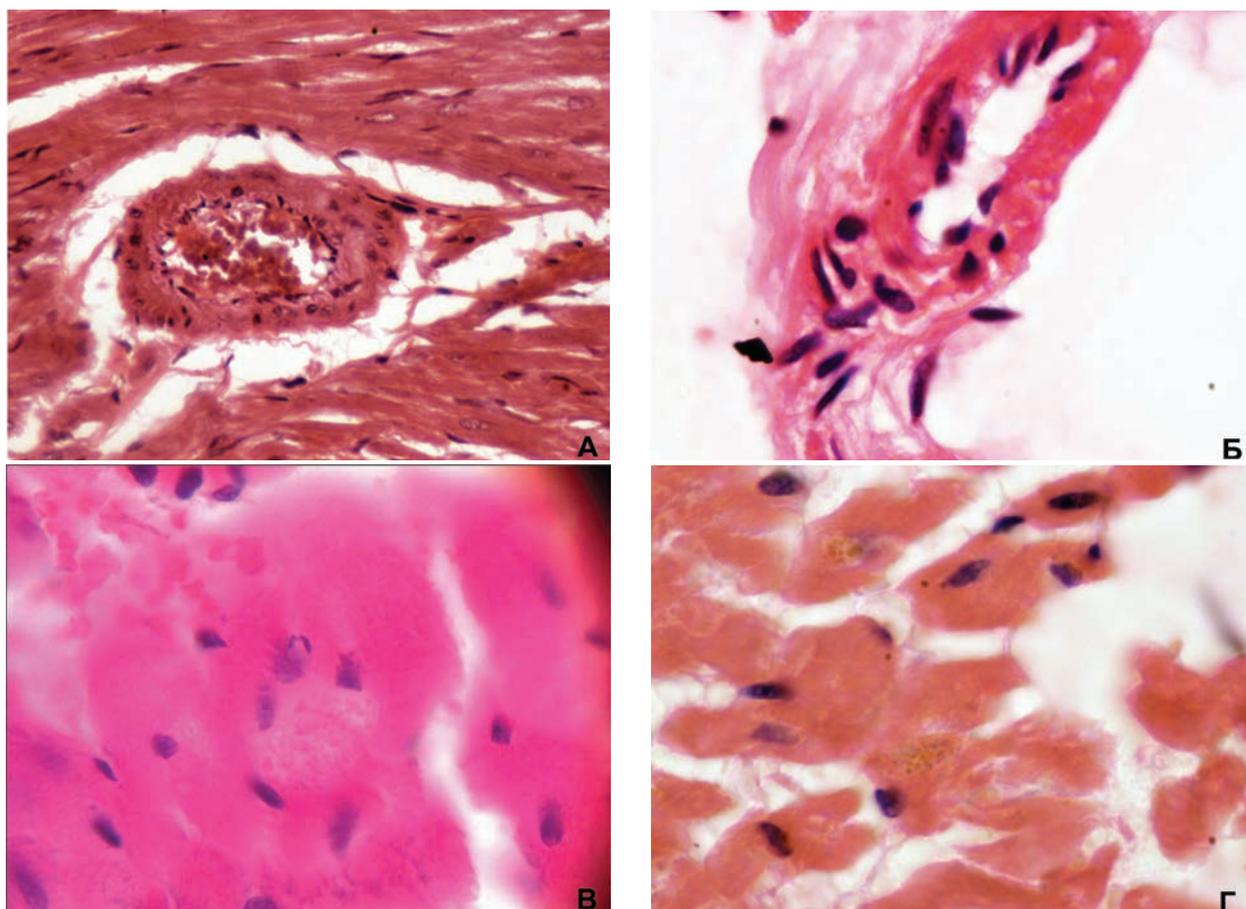
Микроскопирование гистологических препаратов проводили с помощью микроскопа Микрос — МС-200 (Австрия) при увеличении окуляра 10 + 18 и объектива 25, 40 и 100 с водной и масляной иммерсией. Сравнительный анализ полученных данных проводили полуколичественным методом с морфометрическим подсчетом пылевых частиц, измерением толщины стенки сосудов, измерением объема пигментных включений, а также исследовали патологически измененные отделы внутренних органов. После предварительной фиксации вырезали кусочки ткани размером 1 × 1 × 1 мм, которые фиксировали в двух порциях фиксатора. После фиксации их промывали, обезживали в спиртах возрастающей крепости и заливали общепринятым способом. Полутонкие срезы готовили на микротоме. Оценку гистологических результатов проводили на срезах, покрашенных основными и дополнительными красителями, а изучение структурных изменений миоцитов — после многократной компьютерной обработки с применением системы визуализации (Biovision-4 s).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Вдыхание УПП в первые 6 недель затравки не выявило морфологических изменений в структурах органов и тканей. При исследовании контрольной

группы животных было обнаружено, что в мышечных волокнах и других органах липофусцин не накапливался. На 6 — 9 неделях затравки УПП в кардиомиоцитах обнаруживались внутриклеточные включения липофусцина. Наиболее чувствительными оказались перинуклеарная зона, а так же ядро. При гистологическом исследовании в цитоплазме кардиомиоцитов отмечались плотные конгломераты в виде полиморфных гранул липофусцина. Которые дали положительную окраску по Лили, Хуэку и Циллю — Нильсену. Мелкие с четкими контурами гранулы диаметром от 2 до 8 нм, часто располагались в перинуклеарной зоне нередко сливаясь, образовывали довольно крупные округлой или вытянутой формы гранулярные конгломераты с достаточно четкими контурами (рис. 1). В некоторых клетках выявлялось практически полное заполнение околядерной зоны гранулярным или пластинчатым материалом. Как правило, в таких срезах частично обнаруживались признаки изменения ядерно-цитоплазматических параметров и явления, свойственные апоптатическим изменениям для данного вида ткани. Нередко рядом с поврежденными и заполненными липофусцином миоцитами располагались единичные зоны с явными признаками повреждения в виде отека, сопровождающегося деструкцией цитолеммы и кариолеммы. Это свидетельствует об избирательности в отношении накопления липофусцина при затравке УПП именно в кардиомиоцитах, поскольку он не обнаруживался в ткани печени, почек, головного мозга и селезенки. Наличие последних явно свидетельствует о повышенной функциональной активности внутриклеточных структур этого органа в условиях затравки УПП. Сравнительный анализ структуры сердечной мышцы и особенности распределения липофусцина позволило сделать предположение о том, что УПП негативно воздействует на этот жизненно важный орган опосредованно через продукты метаболизма.

Продолжение затравки УПП до 9 и 12 недель сопровождалось наличием увеличенного общего количества липофусцина наряду с поврежденными мышечными волокнами и измененными ядрами, появляется отек с просветлением и дисконкомплексацией цитоплазмы по сравнению с предыдущим сроком затравки пылью, что может свидетельствовать об активации компенсаторно-приспособительных процессов, которые направлены, преимущественно на структурное обеспечение нарушенных функций. Об активации компенсаторно-приспособительных реакций в клетках на данном сроке интоксикации может свидетельствовать и существенное увеличение в сердечной мышце сосудов с гипертрофией мышечной оболочки, появление очаговых лимфогистиоцитарных инфильтраций, а также незначительное изменение структуры волокон. Липофусцин в кардиомиоцитах выявляется лишь в поврежденных внутриклеточных ультраструктурах, что имеет своё логическое объяснение. Например, повреждение митохондрий в клетках всегда сопровождается нарушениями окислительного фосфорилирования и проницаемости наружных и внутренних мембран.



**Рис. 1.** Гиперплазия медиального слоя сосудов артериального типа сердечной мышцы (А, Б). Дистрофические изменения кардиомиоцитов (глыбчатый распад, фрагментация волокон) (Б). Скопление липофусцина в перинуклеарной зоне кардиомиоцитов (Г). Окраска гематоксилин-эозином;  $\times 40$ ,  $\times 100$ . Световая микроскопия.

Патологические изменения при затравке УПП, как известно, обусловлены нарушением обменных процессов, в результате которых возникает ряд характерных структурных повреждений в клетках сердечной мышцы, что приводит к накоплению патологических субклеточных структур, в частности одного из маркеров — липофусцина, и, как следствие, в конечном итоге морфологической деградации и гибели клетки.

#### ВЫВОД

На ранних сроках воздействия УПП на организм морфологических изменений в сердечной мышце не обнаружено. На поздних сроках (6–9 недель затравки) наряду с выраженными компенсаторно-приспособительными процессами происходит селективное, избирательное накопление липофусцина в кардиомиоцитах, которое име-

ет прямо пропорциональную зависимость от срока воздействия неблагоприятного пылевого фактора и может служить одним из верифицирующих морфологических маркеров глубокого повреждения и гибели клеток сердца при воздействии УПП.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Величковский Б.Т. Основные патогенетические механизмы профзаболеваний легких пылевой этиологии. Часть 1. От эксперимента к концепции // Мед. труда и пром. экология. — 1999. — № 8. — С. 20–27.
2. Еловская Л.Т. Модели экспериментального пневмокониоза и пылевого бронхита при ингаляционном воздействии // Гигиена и санитария. — 1986. — № 6. — С. 19–22.
3. Норейко С.Б., Чинякина Е.В., Пеленова И.В. Пневмокониозы // Фельдшер и акушерка. — 1990. — № 1. — С. 19–23.

#### Сведения об авторах

**Михайлова Надежда Николаевна** – доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией экспериментальных гигиенических исследований ФГБУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний» СО РАМН (654041, г. Новокузнецк, ул. Кутузова, 23; тел.: 8 (3843) 71-63-75; e-mail: genlab\_nk@mail.ru)

**Бугаева Мария Сергеевна** – научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории патанатомии ГБОУ ДПО «Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей Минздравсоцразвития РФ» (654005, г. Новокузнецк, пр. Строителей, 5; тел.: 8(3843) 455-6-41)

**Бондарев Олег Иванович** – кандидат медицинских наук, заведующий научно-исследовательской лабораторией патанатомии ГБОУ ДПО «Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей Минздравсоцразвития РФ» (тел.: 8 (3843) 45-56-41)