

УДК 616-091.8

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ БЫТОВОГО ГАЗА

<sup>1</sup>Калинина Е.Ю., <sup>2</sup>Ягмуров О.Д., <sup>2</sup>Юкина Г.Ю.

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия» Минздрава России, Оренбург, e-mail: kalininy@inbox.ru;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

При использовании методов световой микроскопии, иммуногистохимии и электронной микроскопии изучены морфофункциональные изменения полушарий большого мозга крыс при подостром воздействии бытового газа. Обнаружено, что при данной дозировке бытового газа патологический процесс затрагивает все элементы нервной ткани на ультраструктурном уровне: нейроны, глиальные клетки, гематоэнцефалический барьер и особенно миелиновые волокна. Наблюдается мембранотоксический эффект действия данной газовой смеси, что приводит к повреждению и разрушению миелиновых оболочек. Это приводит к демиелинизации и, как следствие, к нарушению проводимости нервных волокон. Полученные результаты раскрывают основные внутриклеточные и метаболические механизмы влияния бытового газа на кору и белое вещество полушарий большого мозга и могут объяснить возникновение при несмертельных отравлениях в регрессирующем периоде симптомов энцефалопатии.

**Ключевые слова:** бытовой газ, отравление, головной мозг, морфофункциональные изменения

## MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE CEREBRAL HEMISPHERES OF RATS UNDER THE INFLUENCE OF DOMESTIC GAS

<sup>1</sup>Kalinina E.J., <sup>2</sup>Jagmurov O.D., <sup>2</sup>Jukina G.J.

<sup>1</sup>The Orenburg medical academy, Orenburg, e-mail: kalininy@inbox.ru;

<sup>2</sup>The St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg

When using the methods of light microscopy, immunohistochemistry and electron microscopy study morphofunctional changes in the cerebral hemispheres of rats with subacute exposure of domestic gas. It was found that at a given dose of domestic gas pathological process affects all elements of the nervous tissue at the ultrastructural level, neurons, glial cells, especially blood-brain barrier and myelin fibers. Observed is the effect of membrane-toxicity of this gas mixture resulting in damage to and destruction of myelin sheaths. This leads to demyelination and, consequently, a violation of conductivity of nerve fibers. The results obtained reveal the basic mechanisms of intracellular and metabolic effects of domestic gas in the cortex and white matter of the cerebral hemispheres, and may explain the occurrence of non-lethal poisonings during the period of re-gradient symptoms of encephalopathy.

**Keywords:** domestic gas, poisoning, cerebra, morphofunctional changes

Применение бытового газа весьма разнообразно. Благодаря большой теплотворной способности он широко применяется в качестве топлива в быту и в промышленности, также служит исходным сырьем для получения формальдегида, метилового спирта и различных синтетических продуктов. В связи с этим нередко встречаются отравления этим веществом. Согласно статистике, в судебно-медицинской экспертизе отравления бытовым газом занимают одно из ведущих мест среди всех причин насильственной смерти.

В промышленной гигиене и клинической токсикологии токсикологические характеристики компонентов бытового газа изучались довольно широко, однако результаты этих исследований являются противоречивыми [1, 7, 12]. Клинические проявления отравлений бытовым газом очень разнообразны и неспецифичны. В первую очередь это различные расстройства со стороны центральной нервной системы

(ЦНС) – головная боль, головокружение, ощущение тошноты, потеря сознания [1, 5]. Также отмечаются выраженные изменения со стороны системы кровообращения [2]. Было установлено, что при вдыхании бытового газа возникают значительные изменения в слизистой оболочке дыхательных путей – дистрофические, атрофические, гиперпластические процессы, сопровождающиеся воспалительными проявлениями [4]. Некоторые исследователи отмечают, что такие компоненты бытового газа, как пропан, бутан, этан, метан нарушают активность аденозинтрифосфатаз [6, 8].

Между тем, сведения о морфофункциональных изменениях тканей и органов, в частности полушарий большого мозга, при воздействии бытового газа многочисленны [13]. Хотя такие данные необходимы для судебно-медицинской посмертной диагностики и для оценки тяжести вреда здоровью при несмертельных отравлениях.

Исходя из этого, целью данного экспериментального исследования явилось изучение морфофункционального состояния полушарий большого мозга крыс при воздействии бытового газа.

### Материалы и методы исследования

Работа выполнена на 100 крысах-самцах линии Вистар, массой от 150 до 250 г в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Двадцать интактных крыс служили в качестве контроля.

Для создания экспериментальной модели подострого отравления в качестве отравляющего вещества использовался бытовой газ из 5-литровых баллонов ГОСТа 15860-84 для газовых плит, который через редуктор под низким давлением подавался в затравочную камеру в течение 10 минут. Материал для исследования забирался через 12 часов после окончания воздействия газа. Контрольные животные находились в обычной воздушной среде.

Для световой микроскопии кусочки сенсомоторной зоны коры и белого вещества полушарий головного мозга крыс фиксировали в 10% нейтральном формалине в течение 1 сут. Затем кусочки промывали в проточной воде, обезживали и заливали в парафиновые блоки. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином-эозином.

Для гистохимического исследования кусочки коры и белого вещества полушарий головного мозга замораживали в жидком азоте. Для оценки функционального состояния органа в условиях эксперимента был произведен количественный гистохимический анализ ферментативной активности некоторых метаболических показателей.

С целью исследования процессов энергообеспечения клетки выявлялись ферменты сукцинатдегидрогеназа (СДГ), являющегося показателем аэробных процессов и лактатдегидрогеназа (ЛДГ), основной показатель гликолиза. Обменные процессы моноаминов определяли по активности фермента моноаминоксидазы (МАО).

На криостатных срезах толщиной 10 мкм выявляли ЛДГ, СДГ и МАО. Активность указанных ферментов оценивали на спектроцитофотометре плаг-методом при об. 40, ок. 7, площади зонда – 0,785 мкм<sup>2</sup>, длине волн – 545 нм для ЛДГ и СДГ и 690 нм для МАО. Результаты цитофотометрического анализа выражали в относительных единицах оптической плотности (D). При гистохимическом анализе замеры D в нейронах коры полушарий большого мозга проводили в 50 клетках.

Для электронно-микроскопического анализа животным под уретановым наркозом транскардиально вводили забуференный (рН 7,2–7,4) раствор смеси глутаральдегида (2,5%) и параформальдегида (2%) на 3–5 мин. Материал дофиксировали в том же составе в течение 1,5 ч при комнатной температуре. Осмиривание, обезживание, заливку в эпон-аралдит и контрастирование проводили по общепринятым правилам. Для прицельной заточки готовили полутонкие срезы, определяли 5 слой коры полушарий сенсомоторной зоны и белое вещество. Ультратонкие срезы, толщиной 40–50 нм, получали на ультратоме LKB-III (Швеция) и изучали в электронном микроскопе JEM-100CX2 (JEOL, Япония) при рабочем

увеличении 7500–10000 и ускоряющем напряжении 80 кВ.

Статистическую обработку количественных данных проводили с использованием программного пакета «Statgraph». Для каждого показателя определяли среднее значение и его стандартную ошибку, значимость различий величин показателей оценивали с помощью критерия Стьюдента при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

У животных контрольной группы по результатам гистологического исследования полушария головного мозга имеют типичное строение. В сером веществе определяются тела нейронов, безмиелиновые участки аксонов, дендриты и глиальные клетки. Тела нейронов 5 слоя содержат крупное эухроматичное ядро с крупным ядрышком, хроматин мелкодисперстный. В нейроплазме вокруг ядра выявляются многочисленные элементы гранулярной эндоплазматической сети (грЭПС), определяются цистерны комплекса Гольджи (КГ) и митохондрии (М). В аксоплазме миелиновых волокон белого вещества выявляются митохондрии и незначительное количество цистерн агранулярной эндоплазматической сети (аЭПС). Миелиновая оболочка представляет собой множественные, четко различимые слои клеточных мембран.

У животных контрольной группы активность ЛДГ и СДГ выявляется в основном в цитоплазме нейронов. В крупных пучках нервных волокон ферментативная активность отсутствует. МАО выявляется преимущественно в нейроглии в виде диффузного отложения мелкогранулярного продукта реакции, а на этом фоне более интенсивно окрашиваются нервные волокна и их пучки в различных отделах мозга.

При воздействии бытового газа у экспериментальных животных отмечалась выраженная клиника отравления, проявляющаяся в виде заторможенности движений, сонливости, снижения частоты дыхательных движений, отдельных мышечных подергиваний.

При гистологическом и ультраструктурном исследовании отмечаются деструктивные изменения как нейронов коры полушарий, так и белого вещества большого мозга крысы. Во всех случаях исключены повреждения, имеющие характер артефактов фиксации или возникшие в результате механических воздействий на мозг при его извлечении. При морфологическом изучении отмечается полнокровие сосудов головного мозга и периваскулярный отёк. Нейроны находятся в состоянии дистрофии, наблюдается перичеселлюлярный отёк.

Бытовой газ оказывает отчётливое повреждающее влияние на ультраструктуру

нейронов. Для всех животных данной группы характерно наличие в сенсомоторной зоне коры полушарий нейронов с признаками некроза. Поврежденные нервные клетки приобретают шаровидную форму, ядро уменьшается в размере, становится угловатым и гиперхромным. В отдельных клетках наблюдается кариопикноз. Из оргanelл наибольшей чувствительностью к воздействию бытового газа обладает грЭПС. В большинстве нейронов отмечаются набухание и деформация цистерн этой оргanelлы с потерей электронной плотности их содержимого. Также наблюдается набухание М с просветлением матрикса и дезорганизацией крист. Среди цистерн грЭПС отмечено появление крупных единичных липидных капель.

Результаты эксперимента выявили нарушение структуры гематоэнцефалического барьера в виде выраженного периваскулярного отека.

Отравление бытовым газом приводит к значительным повреждениям миелиновых оболочек и осевых цилиндров нервных волокон белого вещества *corpuscollosum* и *caudateputamen* большого мозга. При интоксикации происходит увеличение толщины миелиновых оболочек практически вдвое, что сопровождается их разрывами, распадом и полной гомогенизацией. Значительно расширяется периаксональное пространство. Одновременно нарушается структура осевых цилиндров. Выражен отек аксонов, отмечается гомогенизация матрикса и дезорганизация крист их митохондрий. Астроциты белого вещества характеризуются неравномерным расширением перинуклеарного пространства и вакуолизацией цитоплазмы.

При цитофотометрическом анализе нейронов коры полушарий головного мозга экспериментальных животных отмечается повышение активности ЛДГ на 160% (в 2,6 раза по сравнению с данными контрольных животных). Небольшое повышение активности СДГ в нейронах на 2% статистически не значимо. Активность MAO в белом веществе возрастает на 31% по сравнению с данными контрольных животных.

Гистохимические изменения головного мозга крыс при воздействии бытового газа

	СДГ	ЛДГ	MAO
Эксперимент	23,48 ± 1,6	28,6 ± 1,8	18,64 ± 1,1
Контроль	22,93 ± 1,2	10,96 ± 1,0	14,2 ± 1,2

Полученные данные свидетельствуют, что наиболее чувствительными структу-

рами к действию бытового газа являются нейроны и астроглия коры, а также нервные волокна белого вещества полушарий большого мозга. Выявлена избирательная чувствительность клеточных структур к воздействию бытового газа. В первую очередь повреждается грЭПС, что определяется в виде деформации и уменьшения электронной плотности цистерн этой оргanelлы. Электронно-микроскопические исследования доказывают нарушение синтеза белка и его транспорта, что однозначно сказывается на функциональной активности нейронов коры полушарий головного мозга.

Отмеченные изменения грЭПС сочетаются с нарушением деятельности митохондриального аппарата. На это указывают результаты электронно-микроскопического исследования, выявившего нарушения ультраструктуры М, выражающиеся в дезорганизации крист. Однако данные количественной гистохимии показали лишь незначительное изменение активности митохондриального фермента СДГ, в то время как показатель активности анаэробного процесса увеличивается в 2,6 раза. Сопоставление данных гистохимического и электронно-микроскопического исследований указывает на развитие дисфункционального состояния нейронов, когда под действием бытового газа нарушаются синтетические и энергетические процессы в них.

Отмеченное накопление липидных капель указывает на нарушения липидного обмена в нейронах, связанные с избыточной продукцией липидов или недостаточной активностью липолитических ферментов.

Проведенное экспериментальное исследование по подострому воздействию бытового газа на организм животных выявило, что повреждаются не только нейроны коры полушарий. Наиболее уязвимой структурой полушарий головного мозга являются нервные волокна и, особенно, их миелиновые оболочки. Рядом авторов отмечено, что миелиновые оболочки весьма чувствительны к интоксикационному воздействию и гипоксии [14, 15]. Компоненты бытового газа обладают определенной липотропностью [3, 10]. Результаты эксперимента подтверждается, что ультраструктура миелиновых волокон белого вещества *corpuscollosum* и *caudateputamen* головного мозга резко нарушается под влиянием бытового газа. Миелиновая оболочка характеризуется гомогенизацией, расширением периаксональных пространств и очаговой демиелинизацией и отслойкой миелиновой оболочки. Аксоны находятся в состоянии выраженного отека, в аксоплазме выявляются М с дезорганизованными кристами.

Столь тяжелое повреждение миелиновых волокон, сочетающееся с повреждением синтетического и энергетического аппаратов нейронов и нарушением липидного обмена, приводит к процессу вакуолизации, кариопикнозу и гибели нейронов. Результаты электронно-микроскопического исследования согласуются с данными гистохимического анализа, свидетельствующего о нарушении активности MAO, которая характеризует уровень обмена нейромедиаторов – моноаминов.

Таким образом, при данной дозировке бытового газа патологический процесс затрагивает все элементы нервной ткани на ультраструктурном уровне: нейроны, глиальные клетки, гематоэнцефалический барьер и особенно миелиновые волокна. Наблюдается мембранотоксический эффект действия данной газовой смеси, что приводит к повреждению и разрушению миелиновых оболочек. Это приводит к демиелинизации и, как следствие, к нарушению проводимости нервных волокон. Полученные результаты показывают основные внутриклеточные и метаболические механизмы влияния бытового газа на кору и белое вещество полушарий головного мозга и могут объяснить возникновение при несмертельных отравлениях в регрессионном периоде симптомов энцефалопатии [9, 11].

#### Список литературы

1. Бучин В.Н., Селезнев С.Б. Особенности формирования и клиническая структура начальных форм пограничных нервно-психических расстройств у работников крупного газоперерабатывающего производства // Тез. докл. науч. практи. конференции «Экология и здоровье». Пенза, 1993. – Ч.П. – С. 70–71.
2. Гилев В.Г. К патоморфологии хронической интоксикации крекинг-газом (экспериментальное исследование). – Уфа, 1971. – 32 с.
3. Красовицкая М.А., Малжарова Л.К. // Биологическое действие и гигиеническое значение атмосферных загрязнений: Вып. 10. – М., 1966. – С. 266.
4. Могош Г. Острые отравления. Диагноз и лечение. – Бухарест: Медицинское изд-во, 1984. – 580 с.
5. Сетко Н.П. Гигиена труда при переработке сероводородсодержащего природного газоконденсата и особенности его биологического действия на организм: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1990. – 45 с.
6. Томилин В.В., Бережной Р.В., Сергеев С.Н. О значении некоторых лечебных мероприятий для судебно-медицинской экспертизы острых отравлений этиленгликолем // Судебно-медицинская экспертиза. – 1980. – № 3. – С. 51–53.
7. Шугаев Б.Б. Токсичность и гигиеническое нормирование метилмеркаптана. – Тез. докл. XII науч. сессии по химии и технологии органических соединений серы и сернистых нефтей. – Рига: Зинатне, 1971. – С. 472–473.
8. Яблочкин В.Д. Судебно-химическое определение метана в трупном материале // Судебно-медицинская экспертиза. – 2004. – № 1. – С. 36–38.
9. Balster R. L. Neural basis of inhalant abuse. *DrugAlcoholDepend* 1998; 51:207–214. [PubMed: 9716942].
10. Danel V., Barriot P. *Intoxications Aigues en Reanimation*, 2 ed. – Paris: Arnette, 1999. – 615 p.
11. Dargush R., Schubert D. Specificity of resistance to oxidative stress // *J. Neurochem.* – 2002. – Vol.81 (6). – P. 1394–1400.
12. Kandas J., Jappinen P., Sovolainen H. Exposure to hydrogen sulfide, mercaptans and sulfur dioxide in pulp industry // *Amer. Ind. Hyg. Assoc. J.* – 1984. – Vol. 45. – № 12. – P. 787–790.
13. Kim Y.S., Kim S.U., Oligodendroglial cell death induced by oxygen radicals and its protection by catalase // *J. Neurosci. Res.* – 1991. – Vol. 29. – P. 100–106.
14. Maeslinska D., Muzylak M. (1997). Ultrastructure of myelinated fibers of sciatic nerve in acute vincristine intoxication. *Folia Neuropathol.* – 1997. – Vol. 35. – P. 18–23.
15. Mitrovic B., Ignarro L.J., Montestrucue S. et al. Nitric oxide as potential pathological mechanism m demyelination: its differential effects on primary glial cells in vitro // *Neuroscience.* – 1995. – Vol. 65. – P. 531–539.

#### References

1. Buchin V.N., Seleznev S.B. Osobennosti formirovaniya i klinicheskaja struktura nachalnyh form pogranichnyh nyhnervno-psihicheskikh rasstrojstv u rabotnikov grupnogo gazopererabatyvajush hegoproizvodstva. Tez. dokl. nauch. prakti. konferencii «Jekologija i zdorove». Penza, 1993, Ch.P, pp. 70–71.
2. Gilev V.G. K patomorfologii ronichekoj intoksikacii kreking-gazom (jeksperimentalnoe issledovanie). Ufa, 1971. 32 p.
3. Krasovickaja M.A., Maljarova L.K., Biologicheskoe dejstvie i gigienicheskoe znachenie atmosferyh zagrjaznenij. Iss. 10. Moscow, 1966. 266 p.
4. Mogosh G. Ostrye otravlenija. Diagnostičenie. Buharest, Medicinskoe izd-vo, 1984. 580 p.
5. Setko N.P. Gigena truda pri pererabotke serovodorod-soderzhash hegoprirodnogo gazokondensata i osobennosti ego biologicheskogo dejstvija na organizm. Avtoref. diss. ... dokt. med. nauk. Moscow, 1990. 45 p.
6. Tomilin V.V. Berezhnoj R.V., Sergeev S.N., O znachenii nekotoryh lechebnyh meroprijatij dlja sudebno-medicinskij ekspertizy ostryh otravlenij etilenglikolem. Sudebno-medicinskaj ekspertiza, 1980, no. 3, pp. 51–53.
7. Shugaev B.B. Toksichnost i gigienicheskoe normirovanie metilmerkaptana. Tez. dokl. HP nauch. sessijopimii i tehnologii organicheskikh soedinenij seryisernistyhneftej. Riga, Zinatne, 1971, pp. 472–473.
8. Jablochkin V.D., Sudebno-himicheskoe opredelenie metana v trupnom materiale. Sudebno-medicinskaj ekspertiza, 2004, no. 1, pp. 36–38.
9. Balster R.L., Neural basis of inhalant abuse. *DrugAlcoholDepend*, 1998, 51, pp. 207–214. [PubMed: 9716942]
10. Danel V., Barriot P. *Intoxications Aigues en Reanimation*, 2 ed. Paris, Arnette, 1999. 615 p.
11. Dargush R., Schubert D., Specificity of resistance to oxidative stress. *J. Neurochem.* 2002. Vol.81 (6), pp. 1394–1400.
12. Kandas J., Jappinen P., Sovolainen H., Exposure to hydrogen sulfide, mercaptans and sulfur dioxide in pulp industry. *Amer. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 1984. Vol. 45, no. 12, pp.787-790.
13. Kim Y.S., Kim S.U., Oligodendroglial cell death induced by oxygen radicals and its protection by catalase. *J. Neurosci. Res.*, 1991. Vol. 29, pp. 100–106.
14. Maeslinska D, Muzylak M. (1997). Ultrastructure of myelinated fibers of sciatic nerve in acute vincristine intoxication. *Folia Neuropathol.* 1997. Vol. 35, pp. 18–23.
15. Mitrovic B., Ignarro L.J., Montestrucue S. et al. Nitric oxide as potential pathological mechanism m demyelination: its differential effects on primary glial cells in vitro. *Neuroscience*, 1995. Vol. 65, pp. 531–539.

#### Рецензенты:

Полякова В.С., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии, ГБОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия» Минздрава, г. Оренбург;

Железнов Л.М., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой анатомии человека, ГБОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия» Минздрава, г. Оренбург.

Работа поступила в редакцию 14.10.2013.