

УДК 547.421.262

ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ ДЕСТРУКТИВНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНОЛА

Еникеев Д.А., Хисамов Э.Н., Нургалеева Е.А., Срубиллин Д.В., Идрисова Л.Т.

*ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Росздрава,
Уфа, e-mail: Hisamov7958@yandex.ru*

Проведено изучение электронно-микроскопической картины деструктивных лейкоцитов периферической крови при действии на организм относительно низкой концентрации антиоксиданта ионола (2,6-ди-трет-бутил-п-крезол, бутилированный окситолуол, алкофен БП, бибунол) (150 мг/кг). Описано множество форм альтерации со стороны органелл и на уровне клеток – колликационный и коагуляционный некроз с признаками миелопоподобных превращений, заболачиваний полостей, фрагментации мембран, вакуолизации, гомогенизации структур, фокальной и клеточной гидратации, формирования телец Маллори. Приведенные признаки наблюдались в крови как контрольных, так и экспериментальных животных. Поэтому отмеченные структурные изменения в лейкоцитах при введении ионола 150 мг/кг оценивались в качестве ускоренного процесса реализации апоптоза при условиях негативного воздействия на организм.

Ключевые слова: ионол, лейкоциты, электронная микроскопия

ELECTRON MICROSCOPY DESTRUCTIVE WHITE CELLS OF BLOOD UNDER THE ACTION OF IONOL

Enikeev D.A., Khisamov E.N., Nurgaleeva E.A., Srubilin D.V., Idrisova L.T.

Medical University «Bashkir State Medical University», Ufa, e-mail: Hisamov7958@yandex.ru

The study of electron microscopic picture of peripheral blood leukocytes destructive effect on the body at a relatively low concentration of antioxidant ionol (2,6-di-tert-butyl-p-cresol, butylated hydroxytoluene, alkofer PD bibunol) (150 mg/kg). Described many forms of alteration from the organelles and cellular level – kollikvatsionny and coagulation necrosis with signs of myelin transformations, swamping cavities fragmentation membranes, vacuolation, homogenizing structures and focal cellular hydration, the formation of cells Mallory. These signs were observed in the blood, as the control and experimental animals. Therefore marked structural changes in leukocytes when administered ionol 150 mg/kg were evaluated in the process implementation as accelerated apoptosis under conditions of negative effects on the organism.

Keywords: ionol, leukocytes, electron microscopy

В предыдущих наших исследованиях [1, 7] было отмечено, что в периферической крови кроликов, как в норме, так и в эксперименте, циркулировало некоторое количество деструктивных лейкоцитов, которые отражали резорбтивную фазу физиологической, а также репаративной регенерации белой крови. Разные формы деструктивных лейкоцитов обуславливались, во-первых, преобладанием одного из стереотипных процессов клеточной альтерации – коагуляции и колликации, а во-вторых, неравномерным распадом ядра и цитоплазмы. Существовала прямо пропорциональная зависимость между числом деструктивных лейкоцитов в циркулирующей крови и лейкоцитарной реакцией. Усиление регенерации белой крови сопровождалось повышением числа деструктивных лейкоцитов. Некробioзу лейкоцитов предшествовали дистрофические изменения внутриклеточных структур. Наиболее ранние деструктивные изменения возникали в митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме. Однако определенные дистрофические изменения в лейкоцитах могли быть проявлением репарации структурных элементов клетки и носить обратимый характер.

Результаты исследования и их обсуждение

Приведенные в работе деструктивные формы лейкоцитов в сущности являлись проявлением разных этапов единого процесса клеточной альтерации, без которой немислимо представить клеточную регенерацию. Ранние признаки освобождения организма от «изношенных», потерявших способность эффективно функционировать клеточных элементов, прежде всего, затрагивали наиболее ответственные в энергетическом балансе и пластических процессах структурные образования – митохондрии и эндоплазматический ретикулум. Деструкция митохондрий начиналась с нарушения правильного расположения и фрагментации крист, исчезновения гранул, потери двухконтурности оболочки. Возможно, эти изменения в митохондриях носили обратимый характер и являлись проявлением одного из этапов внутриклеточного обновления. Однако в основе описываемых нами форменных элементов крови могли лежать и грубые деструктивные изменения. В одних случаях происходило уплотнение митохондрий (их матрикса), коагуляция

белков с образованием электронно-плотных структур типа «белково-гиалиновых» превращений. Последние имели неровные, слабо выраженные контуры и гомогенное или слоистое строение. В других – наблюдалось набухание митохондрий. Вслед за гомогенизацией внутренних структур наступали вакуолизация или общая гидратация матрикса. На фоне выраженного отека и растворения крист выступали участки коагуляции белка типа миелиноподобной дистрофии гомогенного и слоистого характера. Впоследствии происходила фрагментация и лизис митохондрий (рис. 1). Ранние изменения эндоплазматического ретикулума заключались в очаговом или диффузном расширении канальцев, исчезновении на поверхности рибосом, скоплении в расширенных канальцах обрывков мембран, распавшихся клеточных структур («заблачивание»). К более поздним и глубоким изменениям эндоплазматического ретикулума относились разрыв оболочек сильно расширенных канальцев, появление в них электронно-плотных участков вследствие коагуляции белка, фрагментация канальцев, а затем и растворение их (рис. 2).

В погибающих лейкоцитах определенные изменения испытывал и пластинчатый комплекс. Эти сдвиги заключались чаще в набухании цистерн и растворении внутренних структур. Несколько реже после коагуляционного некроза наблюдалось превращение их в плотные осмифильные тельца.

Электронно-микроскопическая картина псевдоэозинофилов с частичной или полной редукцией ядра одновременно характеризовалась и заметными деструктивными изменениями цитоплазмы, в том числе и специфической зернистости. Тельца Боткина – Гумпрехта гранулоцитарного происхождения имели электронно-плотную полиморфную грануляцию, которая, вероятно, была обусловлена частично остатками специфической зернистости и ядерного материала, а также ограниченными участками фокального коагуляционного некроза компонентов цитоплазмы. В описываемых тельцах хорошо заметны признаки разрушения, как ядра, так и цитоплазмы. Ядерная оболочка фрагментировалась и местами полностью растворялась. В участках разрыва ядерной мембраны карิโอплазма как бы «вливалась» в цитоплазму и смешивалась с гиалоплазмой, превращаясь в относительно однородную массу со средней электронной плотностью и расплывчатыми контурами. Хроматин ядра терял свое типичное строение и напоминал растекающуюся разбавленную темную краску. В цитоплазме на фоне общей гидратации определялись

остатки разрушенных органоидов (обрывки цитомембран, фрагменты митохондрий с гомогенизированной матрицей и т.д.), а также тельца Маллори – локальные участки коагуляционного некроза гиалоплазмы. Иногда эти форменные элементы со множеством везикулярных структур выпускали большое число ложноножек – цитоплазматических выростов. Тельца Боткина – Гумпрехта, являющиеся результатом преобладания колликвационного некроза над коагуляционным некрозом лимфоцитов и моноцитов, чаще были лишены гранулярных структур и представляли собой полигональной формы, более или менее однородную массу. Однако в этой относительно гомогенной массе, особенно если имели место не самые поздние стадии цитолиза, нетрудно было заметить сильное изменение ядра с разрушенной оболочкой. В цитоплазме находились лизирующие осмифильные образования коагуляционного некроза. В некоторых случаях в тельцах Боткина – Гумпрехта общая гидратация сочеталась с ограниченной формой ее вакуолизации.

Таким образом, в изучаемых нами деструктивных формах лейкоцитов периферической крови в целом прослеживались стереотипные явления некроза тканевых структур. В клетках возникали типичные изменения ядра и цитоплазмы. Ядро сморщивалось (кариопикноз), распадалось на глыбки (кариорексис) и растворялось (кариолизис) (рис. 3). Эти изменения ядра, очевидно, отражали динамику процесса активации гидролаз – рибонуклеазы и дезоксирибонуклеазы, что ведет к отщеплению от нуклеопротеидов фосфатных группировок и высвобождению нуклеиновых кислот, подвергающихся деполимеризации. В цитоплазме происходили денатурация и коагуляция белка, что может поначалу захватывать часть цитоплазмы (локальный коагуляционный некроз) (рис. 4), а затем и всю клетку. Наиболее ранние изменения при этом выявлялись в митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме. По мере увеличения в них деструкции, вероятно, усиливалась активность лизосомального аппарата клетки. Вслед за коагуляцией цитоплазмы происходили не только ее распад (плазморексис), но и все нарастающая гидратация, что может привести к фокальному колликвационному некрозу или расплавлению всей клетки (цитолиз). В динамике некроза клетки наблюдалась смена процессов коагуляции и колликвации. Однако нередко отмечалось преобладание одного из них, что может зависеть от различных причин. Видимо, этим и объясняется наличие разных видов деструктивных форм лейкоцитов в периферической крови.



Рис. 1. Экспериментальная заправка кроликов ионолом (150 мг/кг). 10 сут.
Лимфоцит. Деструкция митохондрии – локальная гидратация дезагрегация крист (а),
белково-миelinовая дистрофия (б). Э.м.ф. х65500

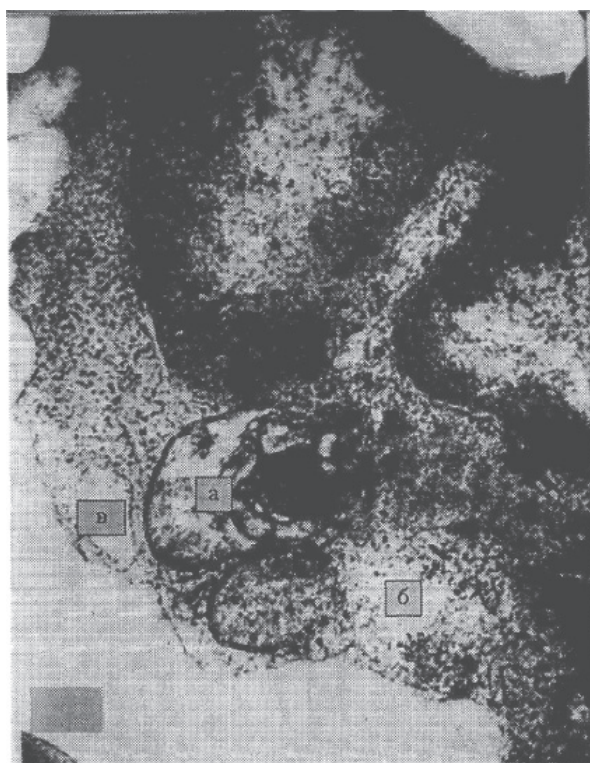


Рис. 2. Экспериментальная заправка кроликов ионолом (150 мг/кг). 10 сут.
Лимфоцит. Гидратация, белково-миelinовая дистрофия митохондрии (а), локальная гидратация
гиалоплазмы (б), расширенный каналец эндоплазматической сети (в). Э.м.ф. х45000

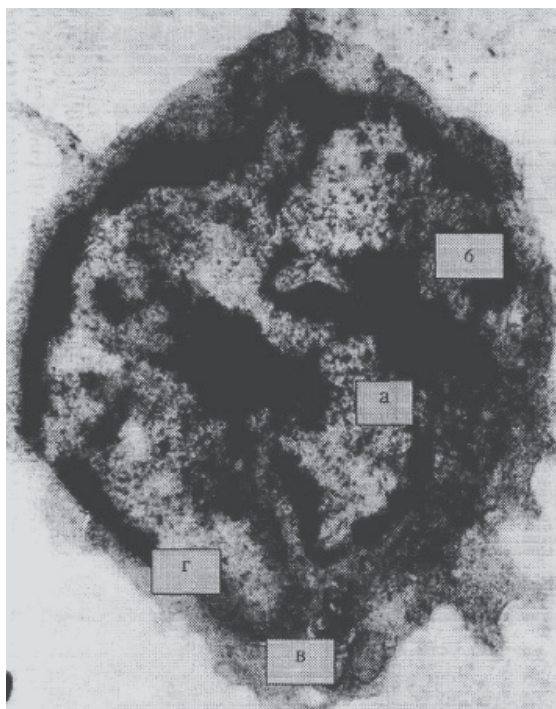


Рис. 3. Экспериментальная затравка кроликов ионолом (150 мг/кг). 10 сут. Лимфоцит. Сегментация ядра (а,б), белково-миелиновая дистрофия митохондрии (в), гидратация ядра (г). Э.м.ф. $\times 1000$

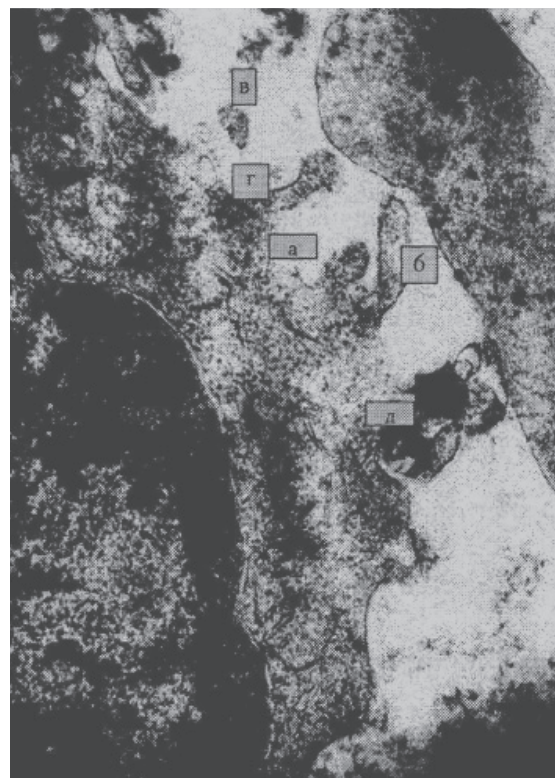


Рис. 4. Экспериментальная затравка кроликов ионолом (150 мг/кг). 10 сут. Лимфоцит. Аквадукты (а), псевдоподии (б), микроклазматоз (в), маргинальный лизис (г), краевая белково-миелиновая дистрофия (д). Э.м.ф. $\times 62500$

Параллельное изучение цитохимических особенностей разрушающихся лейкоцитов показывало заметные сдвиги внутриклеточного обмена. При окраске мазков крови на гликоген во всех видах деструктивных лейкоцитов отмечалась отрицательная реакция. Постановка бензидиновой реакции на выявление пероксидазы за исключением редких случаев также показывала отрицательные результаты. В то же время в изучаемых лейкоцитах определялась умеренная активность щелочной фосфатазы. В целом полученные цитохимические данные указывали на нарушение гликогенообразовательной функции, снижение окислительно-восстановительной реакции и на некоторую активацию процессов, связанных с деятельностью гидролаз, катализируемых гидролиз эфиров фосфорной кислоты. Последнее, очевидно, обусловлено выходом в гиалоплазму гидролитических ферментов из лизосом, направленных на переваривание разрушающихся внутриклеточных структур. Процентное содержание деструктивных лейкоцитов в периферической крови здоровых кроликов составляло

в среднем 0,8%. В условиях введения ионола (150 мг/кг) относительное число их повышалось. На 10 сутки введения препарата оно приобретало максимальное значение – в среднем 2,3%. Это происходило в состоянии наибольшего дефицита эритронов. Повышенное содержание деструктивных лейкоцитов периферической крови в условиях гипоксии, обусловленной введением ионола в концентрации 150 мг/кг, отражало более высокий уровень обновления белой крови вследствие более быстрого изнашивания и альтерации в связи с функциональным напряжением.

Заключение

Следовательно, применение антиокислителей небезразлично для организма. В физиологических концентрациях биоантиоксиданты необходимы для осуществления ферментативного окисления клеточного дыхания и, как правило, или стимулируют, или нормализуют его [2–6]. Однако при длительном действии высоких концентраций антиокислителей может наступить снижение синтеза в организме собственных анти-

оксидантов, что повлечет усиление свободнорадикального окисления. Но и чрезмерное преобладание биологического окисления при резком угнетении свободнорадикального окисления может привести к нарушению постоянства уровня суммарной антиоксидантной активности тканей, что служит одним из основных условий физиологического гомеостаза. Кроме того, некоторые продукты перекисления, в частности перекиси липидов, являются промежуточными продуктами гормонов, простагландина Е и прогестерона. Они также участвуют в гидроксигировании астероидного ядра холестерина. Перекиси, образовавшиеся в результате неферментативного окисления, могут выступать в роли неспецифических участков обмена, например в фаго- и пиноцитозе, регулируя проницаемость мембран лизосом. Таким образом, значительное и длительное изменение антиоксидантного эффекта определяется не количеством антиоксиданта, а тем, насколько фактически удастся усилить систему естественных тканевых биоантиоксидантов.

Список литературы

1. Еникеев Д.А., Хисамов Э.Н., Еникеева С.А., Идрисова Л.Т., Мочалов К.С. Коррекция гематологических сдвигов у кроликов под действием ионола // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – 6; URL: <http://WWW.Science-education.ru/113-11551> (Дата обращения: 13.01.20014).
2. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса. Вопросы современной химии. – 2001. – Т.47. – № 6. – С. 561–581.
3. Кузьменко Д.И., Серебров В.Ю., Удинцев С.Н. Свободнорадикальное окисление, активные формы кислорода и антиоксиданты: роль в физиологии и патологии клетки. – М., 2007. – С. 22–27.
4. Михайлов В.И. Методологические основы антиоксидантной защиты населения от влияния вредных для здоровья экологических и производственных факторов / Новое медицинское оборудование, новые медицинские технологии. – М., 2007. – № 18. – С. 5–10.

5. Турпаев А.Т. Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов // Биохимия. – 2002. – Т. 61. – С. 339–352.

6. Хисамов Э.Н., Еникеев Д.А., Кашапова Р.А. Показатели крови млекопитающих в условиях химического загрязнения окружающей среды в сельской местности. – Уфа: Изд. БГМУ, 2013. – 136 с.

7. Хисамов Э.Н., Латыпова Н.И., Еникеев Д.А. Особенности гематологических сдвигов при действии на организм химических реагентов. – Уфа: Изд. БГМУ, 2013. – 187 с.

References

1. Enikeev D.A., Hisamov Je.N., Enikeeva S.A., Idrisova L.T., Mochalov K.S. Korrekcija gematologicheskikh sdvigov u krolikov pod dejstviem ionola. Vyhodnye dannye: Sovremennye problemy nauki i obrazovanija 2013. 6; URL: <http://WWW.Science-education.ru/113-11551> (Data obrashhenija: 13.01.20014).
2. Dubinina E.E. Rol aktivnykh form kisloroda v kachestve signalnykh molekul v metabolizme tkanej pri sostojanijah oksiditel'nogo stressa. Voprosy sovremennoj himii. 2001. T.47. no. 6. pp. 561–581.
3. Kuzmenko D.I., Serebrov V.Ju., Udincev S.N. Svobodnoradikalnoe okislenie, aktivnye formy kisloroda i antioksidanty: rol v fiziologii i patologii kletki. M., 2007. pp. 22–27.
4. Mihajlov V.I. Metodologicheskie osnovy antioksidantnoj zashhity naselenija ot vlijanija vrednykh dlja zdorovja jekologicheskikh i proizvodstvennykh faktorov / Novoe medicinskoje oborudovanie, novye medicinskie tehnologii. M., 2007. 18. pp. 5–10.
5. Turpaev A.T. Aktivnye formy kisloroda i reguljacija jekspressii genov // Biohimija. 2002. T. 61. pp. 339–352.
6. Hisamov Je.N., Enikeev D.A., Kashapova R.A. Pokazateli krovi mlekopitajushhih v uslovijah himicheskogo zagrjaznenija okruzhajushhej sredy v selskoj mestnosti. Ufa: Izd. BGMU, 2013. 136 p.
7. Hisamov Je.N., Latypova N.I., Enikeev D.A. Osobennosti gematologicheskikh sdvigov pri dejstvii na organizm himicheskikh reagentov. Ufa: Izd. BGMU, 2013. 187 p.

Рецензенты:

Миннебаев М.М., д.м.н., профессор кафедры патофизиологии, ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань;

Овсянников В.Г., д.м.н., профессор, зав. кафедрой патофизиологии, ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет», г. Ростов-на-Дону.