

© Коллектив авторов, 2019
УДК 616.36-003.219(470.46)
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14018>
ISSN – 2073-8137

РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ СЕРОВОДОРОДСОДЕРЖАЩИМ ГАЗОМ

Б. Н. Левитан, Н. Н. Ларина, О. В. Карапетян

Астраханский государственный медицинский университет, Россия

THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL MODEL OF TOXIC LIVER DAMAGE BY HYDROGEN SULFIDE GAS

Levitan B. N., Larina N. N., Karapetian O. V.

Astrakhan State Medical University, Russia

Целью исследования явилась разработка экспериментальной модели поражения печени газом Астраханского конденсатного месторождения (АКМ) с повышенным содержанием сероводорода. Исследование проведено на 40 лабораторных мышах линии СВА массой 10–15 г. Экспериментальные животные в течение часа подвергались воздействию смеси воздуха с газом АКМ в концентрации 200, 300 и 400 мг/м³ по сероводороду. Характер и выраженность нарушений патоморфологии печени у экспериментальных животных находились в прямой зависимости от концентрации сероводорода в газовой смеси. Показано, что для экспериментальной модели поражения печени у мышей оптимальной концентрацией газа АКМ является 300 мг/м³ по сероводороду при воздействии в течение часа.

Ключевые слова: сероводородсодержащий газ, печень, эксперимент

The aim of the study was to develop an experimental model of liver damage gas Astrakhan gas condensate field with a high content of hydrogen sulfide. The study was conducted on 40 laboratory mice of the CBA line weighing 10–15 g. Experimental animals were exposed to a mixture of air and AGM gas at a concentration of 200, 300 and 400 mg/m³ of hydrogen sulfide for an hour. The nature and severity of liver pathomorphology disorders in experimental animals was directly dependent on the concentration of hydrogen sulfide in the gas mixture. It is shown that the optimal concentration of AGM gas in mice experimental model of liver damage is 300 mg/m³ of hydrogen sulfide when exposed for an hour. It is shown that for the experimental model of liver damage in mice, the optimal concentration of gas ACF is 300 mg/m³ of hydrogen sulfide with the one-hour exposition time.

Keywords: hydrogen sulfide containing gas, liver, experiment

Для цитирования: Левитан Б. Н., Ларина Н. Н., Карапетян О. В. РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ СЕРОВОДОРОДСОДЕРЖАЩИМ ГАЗОМ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2019;14(1.2):217-219. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14018>

For citation: Levitan B. N., Larina N. N., Karapetian O. V. THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL MODEL OF TOXIC LIVER DAMAGE BY HYDROGEN SULFIDE GAS. *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(1.2):217-219. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14018> (In Russ.)

АКМ – Астраханское конденсатное газовое месторождение
АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

Проблема воздействия сероводорода на организм особо актуальна для Астраханской области. Природный газ Астраханского конденсатного месторождения (АКМ) является уникальным по составу и характеризуется повышенным содержанием сероводорода (до 25 %), углекислого газа (до 14 %), меркаптанов и др. [1].

Хорошо известно, что при отравлении газом с повышенным содержанием сероводорода в первую очередь поражаются легкие, нервная система, кожа, органы зрения, система гемостаза [2, 3, 4, 5]. В то же время характер изменений в печени, возникающих при подобном воздействии, изучен в значительно меньшей степени. В литературе имеются единичные

сообщения, посвященные исследованию состояния печени при отравлениях газом с высоким содержанием сероводорода [1, 6]. Отсутствует экспериментальная модель для изучения поражений печени сероводородсодержащим газом АКМ, которая могла бы использоваться для оценки эффективности разрабатываемых методов терапии.

Целью настоящего исследования явилось изучение состояния печени в остром эксперименте при экстремальном воздействии газа и создание экспериментальной модели токсического поражения печени газом АКМ.

Материал и методы. Исследование проведено на 30 половозрелых лабораторных мышах линии СВА

массой 10–15 г, которые были подвергнуты воздействию газа АКМ различной концентрации по сероводороду. Контрольную группу составили 10 интактных животных.

В экспериментах применялся природный газ АКМ следующего состава (в объемных процентах): метан – $57,23 \pm 1,24$; этан – $2,26 \pm 0,17$; пропан – $0,94 \pm 0,06$; изобутан – $0,28 \pm 0,04$; изопентан – $0,92 \pm 0,03$; углекислый газ – $13,78 \pm 1,21$; азот – $0,52 \pm 0,02$; сероводород – $24,03 \pm 1,33$. Состав газа определен в центральной заводской лаборатории Астраханского газоперерабатывающего завода методом газохроматографического анализа на хроматографе «GC-121 VL».

Ингаляционные затравки проводились в затравочных камерах производства Московского НИИ профзаболеваний и гигиены труда им. Ф. Ф. Эрисмана. Экспериментальные животные в течение часа подвергались воздействию газовых смесей воздуха с газом АКМ в концентрации 200, 300 и 400 мг/м³ по сероводороду. Через сутки после ингаляции газа проводили патологоанатомическое вскрытие с последующим патоморфологическим исследованием печени. Часть мышей были обследованы на 9 день после затравки. Для оценки выраженности патологического процесса в печени проводилось исследование в крови активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ).

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Для характеристики вариационного

ряда был использован параметрический критерий Стьюдента (t). Различия считали статистически значимыми при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Под воздействием газа АКМ развиваются серьезные нарушения морфологии печени, глубина которых зависит от концентрации сероводорода в газовой смеси (табл.). При воздействии газа АКМ в концентрации 200 мг/м³ по сероводороду у 5 экспериментальных животных, выведенных из опыта через сутки после затравки, в основном развивались дистрофические изменения в печени, которые носили преимущественно очаговый характер. Практически отсутствовали расстройства микроциркуляции органа. При исследовании морфологической картины печени у 5 оставшихся особей из данной группы через 9 суток после ингаляции газа, указанные изменения практически исчезали, печень не отличалась от таковой у мышей из контрольной группы (без затравки). Результаты исследования АЛТ и АСТ у мышей данной группы через сутки и 9 суток после воздействия газа АКМ были незначительно повышены по сравнению с контрольной группой и составили в среднем соответственно АЛТ – $0,64 \pm 0,04$ и $0,56 \pm 0,03$ Ед/л через 9 дней, против $0,24 \pm 0,03$ Ед/л в контроле; соответственно АСТ – $0,71 \pm 0,04$ и $0,59 \pm 0,03$ Ед/л через 9 дней против $0,31 \pm 0,05$ Ед/л в контроле. При этом хотя значения АЛТ и АСТ в обеих подгруппах достоверно ($p < 0,05$) превышали показатели у интактных животных, но существенно не выходили за рамки референсных значений для данных показателей.

Таблица

Гистологическая картина печени лабораторных мышей при воздействии сероводородсодержащего газа АКМ различной концентрации

Вид нарушений	Концентрация газа		
	200 мг/м ³	300 мг/м ³	400 мг/м ³
Макроскопическая картина органа	Не изменена	Печень увеличена, единичные кровоизлияния под капсулу	Печень увеличена, массивные кровоизлияния под капсулу
Дискомплексация печеночных долек	От легкой до умеренной	Выраженная	Полная
Дистрофия гепатоцитов	Очаговая гиалиновокапельная преимущественно III зоны ацинуса	Диффузная гиалиновокапельная	Тяжелая диффузная гиалиновокапельная
Некрозы гепатоцитов	Отсутствуют	Очаговые (групповые)	Массивные дольковые коагуляционные некрозы
Состояние ядер гепатоцитов	Ядра отдельных гепатоцитов с явлениями кариолизиса	Выраженные явления дискариоза (изменения формы, величины, фенестрация, крупноглыбчатая конденсация хроматина)	То же, что и во второй группе, и явления кариопикноза
Расстройства кровообращения	Полнокровие центральных вен	Полнокровие центральных вен с признаками нарушения сосудистой проницаемости	Очаговые кровоизлияния вокруг центральных вен, межбалочные капилляры неравномерно расширены и полнокровны с явлениями стаза эритроцитов
Состояние портальных трактов	Не изменены	Отек, венозное полнокровие, диффузная инфильтрация гранулоцитами и пролиферация фибробластов	очаговые кровоизлияния, диффузная инфильтрация из фибробластов
Стромальная активность	Звездчатые эндотелиоциты с тенденцией к очаговой пролиферации	Выраженная, пролиферация звездчатых эндотелиоцитов	Выраженная, пролиферация звездчатых эндотелиоцитов

При воздействии на мышей газа АКМ в концентрации 300 мг/м³ по сероводороду через сутки после затравки (5 особей) дистрофия гепатоцитов приобретала диффузный характер, развивалась картина острого токсического гепатита умеренной активно-

сти. Выявлялись расстройства печеночного кровообращения, нарушения сосудистой проницаемости (табл.). Все животные из данной группы выжили после воздействия газа, хотя в первые трое суток у них наблюдалась клиническая картина тяжелой интокси-

кации. Через 9 суток после ингаляции газа у 5 мышей из данной группы макро- и микроскопическая картина печени практически не отличалась от таковой у экспериментальных животных, обследованных через сутки после затравки.

Этому соответствовали и результаты исследования АЛТ и АСТ у мышей данной группы через сутки и 9 суток после воздействия газа АКМ в концентрации 300 мг/м³. В обеих подгруппах наблюдалось значительное повышение уровня цитолитических ферментов по сравнению со здоровыми животными ($p < 0,01$), но достоверно не различающееся между собой ($p > 0,05$) при исследовании в динамике (соответственно АЛТ – $2,34 \pm 0,09$ и $2,16 \pm 0,08$ Ед/л через 9 дней против $0,24 \pm 0,03$ Ед/л в контроле; соответственно АСТ – $2,51 \pm 0,11$ и $2,38 \pm 0,1$ Ед/л через 9 дней против $0,31 \pm 0,05$ Ед/л в контроле). Таким образом, повышение уровня цитолитических ферментов у экспериментальных животных отражает развитие у них дистрофических и некробиотических процессов в печени.

Концентрация газа АКМ 400 мг/м³ является для лабораторных мышей чрезвычайно токсичной – 60 % животных погибло непосредственно после ингаляции газа, а остальные были малоподвижны, выказывали все признаки тяжелой интоксикации и погибли в течение первых суток. Печень макроскопически у всех животных этой группы была значительно увеличена с массивными кровоизлияниями под капсулу. Наблюдалась картина тяжелого острого токсического гепатита с развитием массивных дольковых некрозов, глубоких расстройств печеночной микроциркуляции (табл.). При этом наблюдалось более значительное повышение активности цитолитических ферментов, чем в предыдущей группе ($p < 0,01$), соответственно АЛТ составила в среднем $3,14 \pm 0,09$ Ед/л, а АСТ – $3,21 \pm 0,08$ Ед/л.

Обращало на себя внимание наличие тенденции к более значительному повышению активности АСТ по сравнению с АЛТ в обеих группах экспериментальных животных при концентрациях газа 300 и 400 мг/м³ по сероводороду, что характерно для токсических поражений печени.

Заключение. Проведенные исследования показали, что при остром отравлении сероводородсодержащим газом АКМ у экспериментальных животных возникает патология печени от дистрофических изменений до развития тяжелого токсического гепатита и грубых расстройств печеночной микроциркуляции.

Характер и выраженность нарушений патоморфологии печени у экспериментальных животных находится в прямой зависимости от концентрации сероводорода в газовой смеси. Оптимальной моделью токсической гепатопатии, вызванной сероводородсодержащим газом АКМ, у мышей является воздействие газа в концентрации 300 мг/м³ по сероводороду в течение часа. Для биохимической оценки степени цитолиза гепатоцитов у мышей при отравлении газом АКМ предлагается использовать показатели АЛТ и АСТ.

Информированное согласие: Эксперимент на лабораторных животных проводился в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт «Принципы надлежащей лабораторной практики» ГОСТ Р 53434–2009), Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985), Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003) и положительным заключением этического комитета ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет».

Конфликт интересов. Все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

1. Тризно Н. Н., Асфандияров Ф. Р., Беднов И. А., Аюпова А. К. Серосодержащие газы, их действие на организм и пути детоксикации в эксперименте. Астрахань: АГМА; 2005. [Trizno N. N., Asfandiyarov F. R., Bednov I. A., Ayupova A. K. Serosoderzhashhie gazy, ih deystvie na organism i puti detoksikatsii v eksperimente. Astrakhan: AGMA; 2005. (In Russ.).]
2. Джуваляков Г. П., Полосухин В. В. Диагностические признаки острого отравления серосодержащими газами. Судебно-медицинская экспертиза. 2006;49(3):32-33. [Dzhuvalyakov G. P., Polosuxin V. V. Diagnosticheskie priznaki ostrogo otravleniya serosoderzhashhimi gazami. Sudebno-Medicinskaya Ekspertiza. – Forensic-medical examination. 2006;49(3):32-33. (In Russ.).]
3. Тризно Н. Н., Теплый Д. Л., Голубкина Е. В., Тризно М. Н., Дюкарева О. С. Нарушения в системе гемостаза при воздействии сероводородсодержащего газа и возможные пути коррекции. Естественные науки. 2017;58(1):67-72. [Trizno N. N., Teplyi D. L., Golubkina E. V., Dyukareva O. S. Narusheniya v sisteme

gemostaza pri vozdeystvii serovodorodsoderzhashhego gaza i vozmozhnye puti korrektsii. Estestvennye nauki. – Natural Sciences. 2017;58(1):67-72. (In Russ.).]

4. Geng B., Yang J., Qi Y., Zhao J., Pang Y. [et al.]. H₂S generated by heart in rat and its effects on cardiac function. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2004;313(2):362-8
5. Qing X., Jiayi Y., Leihong X., Chengfeng Z. The biologic effect of hydrogen sulfide and its function in various diseases. Medicine (Baltimore). 2018;97(44):e13065. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000013065>
6. Боев В. М., Никоноров А. А., Перепелкин С. В., Филиппов В. К. Воздействие сероводородсодержащего газоконденсата на систему микросомальных монооксигеназ печени. Гигиена и санитария. 1997;(5):5-6. [Boev V. M., Nikonorov A. A., Perepelkin S. V., Filippov V. K. Vozdeystviye serovodorodsoderzhashchego gazokondensata na sistemu mikrosomalnykh monooksigenaz pecheni. Gigiyena i sanitariya. – Hygiene and sanitation. 1997;(5):5-6. (In Russ.).]

Сведения об авторах:

Левитан Болеслав Наумович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской терапии и профессиональных болезней с курсом последипломного образования; тел.: 89086169185; e-mail: boleev@mail.ru

Ларина Надежда Николаевна, кандидат медицинских наук, доцент; тел.: 89897918083; e-mail: ldoctor@yandex.ru

Карапетын Ольга Викторовна, аспирант; тел.: 89608546432; e-mail: olga.karapetyan.89@mail.ru