№ 3 - 2015 г.
14.00.00 медицинские науки
(14.03.00 Медико-биологические науки)

УДК 618.3:614.7]-092.9:611.428

РЕАКЦИЯ ПОДВЗОШНОГО ЛИМФАТИЧЕСКОГО УЗЛА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПОСТУПЛЕНИИ КАДМИЯ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

С. В. Залавина, М. Ю. Пушилина, П. А. Елясин, Н. И. Пушилин

ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Новосибирск)

Проводили морфометрическое исследование структуры подвздошных лимфатических узлов при беременности на фоне хронической интоксикации кадмием. Выявлены признаки активации гуморального звена иммунного ответа. Увеличивается доля коркового вещества лимфатического узла. Повсеместно определяется повышенная гибель клеток, что приводит к уменьшению количества лимфоцитов, макрофагов, эозинофильных гранулоцитов, тучных клеток, а в мозговых тяжах — плазматических клеток. В мозговых тяжах увеличена доля клеток Мотта и двуядерных плазмоцитов.

Ключевые слова: лимфатический узел, хроническая интоксикация, кадмий, беременность, морфометрия.

Залавина Светлана Васильевна — доктор медицинских наук, профессор и. о. заведующего кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: zalavinasv@mail.ru

Пушилина Марина Юрьевна — очный аспирант кафедры стоматологии детского возраста ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: sdv.ngmu@mail.ru

Елясин Павел Александрович — кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии человека ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 225-15-24, e-mail: pharmngmu@yandex.ru

Пушилин Николай Игоревич — аспирант кафедры анатомии человека ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 225-15-24

Введение. Активная хозяйственная деятельность человека приводит к ухудшению экологической обстановки. Одним из опасных факторов современности является поступление тяжёлых металлов в окружающую среду. К отраслям промышленности, загрязняющим окружающую среду тяжёлыми металлами, относятся черная и цветная металлургия, добыча твердого и жидкого топлива, горно-обогатительные комплексы, стекольное, керамическое и электротехническое производство. В сельском хозяйстве загрязнение почвы тяжёлыми металлами связано с использованием удобрений и пестицидов. Транспорт является источником более половины всех выбросов в атмосферу. Сжигание мусора сопровождается поступлением в биосферу целого ряда тяжелых металлов.

Кроме антропогенных источников загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами, существуют естественные источники их поступления, например вулканические извержения. Все эти факторы вызывают в воздухе, воде, почвах, живых организмах увеличение содержания металлов-загрязнителей [4].

Актуальность проблемы загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами объясняется, прежде всего, широким спектром их действия на организм человека. Доказана ведущая роль свинца и кадмия среди тяжёлых металлов в качестве загрязнителей г. Новосибирска [3]. Эти экотоксиканты влияют практически на все системы организма, оказывая токсическое, аллергическое, канцерогенное, гонадотропное, эмбриотоксическое и мутагенное воздействия [1].

По данным Юрия Ивановича Бородина, лимфатическая система занимает ведущее место в комплексном ответе при действии на организм дестабилизирующих факторов, а морфофункциональный статус лимфатических узлов может рассматриваться в качестве маркера средового прессинга на лимфатическую систему [2].

Цель исследования — выявить структурные преобразования подвздошного лимфатического узла при введении сульфата кадмия с 1-го по 16-й дни беременности.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования явились подвздошные лимфатические узлы от беременных крыс породы Wistar с исходной массой тела 180–200 г.

В эксперименте лабораторным крысам Wistar с 1-го по 16-й день беременности внутрибрюшинно вводили растворённый в физиологическом растворе сульфат кадмия в дозе 0,5 мг/кг. В контрольной группе крысам вводился физиологический раствор в эквивалентном объёме. На 20-е сутки беременности животных выводили из опыта. Для исследования использовали группы плодов: 1-я группа — плоды от интактной беременности, 2-я группа — плоды от беременности в условиях введения сульфата кадмия. Для морфологического исследования на светооптическом и электронномикроскопическом уровнях забрали подвздошные лимфатические узлы.

Лимфатические узлы для проведения световой и электронной микроскопии обрабатывались по стандартной методике. Методом точечного счёта определяли площадь коркового и мозгового вещества, площади зон первичных и вторичных лимфоидных фолликулов, соединительнотканных капсул, паракортикальной зоны, коркового плато, синусного компонента и мозговых тяжей. Срезы подвздошных лимфатических узлов морфометрировали при увеличении в 32 раза. Выделяли структурно-функциональные зоны: капсулу, краевой синус, первичные и вторичные лимфоидные узелки,

межузелковую зону, глубокую кору, мозговые тяжи и мозговые синусы.

Клеточный состав подвздошных лимфатических узлов изучали при увеличении в 1000 раз (объектив 100 — масляная иммерсия, окуляр 10). Подсчитывали абсолютное количество разных видов клеток на стандартной площади 2025 мкм². Дифференцировали бласты, средние и малые лимфоциты, незрелые и зрелые плазматические клетки, клетки Мотта, клетки с фигурами митоза, гибнущие клетки, ретикулярные клетки (в тимусе — эпителиальные клетки), макрофаги, моноциты, эозинофильные гранулоциты, тучные клетки. Подсчёт клеток проводился в следующих зонах: первичные лимфатические узелки, герминативные центры вторичных лимфатических узелков, межузелковая зона, глубокая кора, мозговые тяжи и мозговые синусы. Подсчёт клеточных элементов проводился в тёмной части герминативного центра на III стадии развития. Стадии развития герминативных центров, описанные в современной литературе, определяли по Е. Конвей. Для всех морфометрических данных вычисляли абсолютные и относительные показатели.

Цифровой материал обрабатывали с использованием методов вариационной статистики. Определяли средние выборочные показатели измеряемых объектов, ошибку среднего, среднее квадратичное отклонение, доверительный интервал. По результатам статистической обработки выполняли таблицы и графики. За достоверность различий принимали значение $p < 0,05$ (по t-критерию Стьюдента), вероятность различий составляла 95 % и более.

Все эксперименты выполнены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными приказом Минздрава СССР № 577 от 12.08.77. Эксперименты выполнены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директиве Европейского Сообщества (86/609/ЕС).

Результаты исследования и их обсуждение. Введение кадмия приводит к достоверному увеличению площади соединительнотканной капсулы лимфоузла на 43 % по сравнению с контролем. Отмечается увеличение площади краевого синуса на 38 %. Просвет краевого синуса имеет различную ширину — выявляются расширенные участки над межузелковой зоной и узкие его отделы над лимфоидными узелками. Происходит увеличение площади коркового вещества лимфоузла на 49 % за счёт площади вторичных лимфоидных узелков, которая увеличена в 6,7 раза, также в 2 раза увеличена площадь межузелковой зоны по сравнению с контролем. Часто вторичные лимфоидные узелки располагаются в 2–3 ряда (рис. 1).

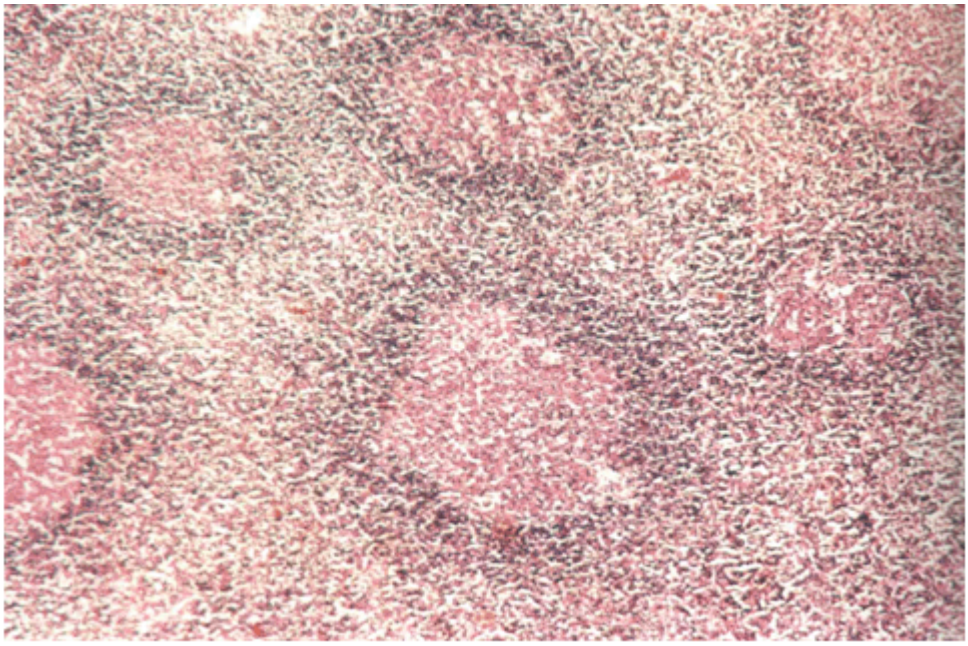

Рис. 1. Вторичные лимфоидные узелки и межузелковая зона коркового вещества подвздошного лимфатического узла самки при введении кадмия. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение ×1000

Площадь мозгового вещества значимо уменьшается на 26 % за счёт синусов, площадь которых уменьшается более чем в 2 раза. Корково-мозговой индекс увеличивается более чем в 2 раза. Происходит увеличение суммарной площади В-зависимых зон на 42 %. Суммарная площадь Т-зависимых зон снижается на 8 % по сравнению с контрольными значениями ($p > 0,05$).

Клеточные перестройки в подвздошном лимфатическом узле проявляются в достоверном снижении суммарного количества лимфоцитов во всех зонах коркового вещества. За счёт достоверного уменьшения доли как незрелых форм лимфоцитов (в первичных лимфоидных узелках более чем в 2 раза, в межузелковой зоне — в 1,7 раза, в паракортикальной зоне — в 2,5 раза), так и доли малых лимфоцитов в первичных лимфоидных узелках на 9 % ($p < 0,05$), в корковом плато на 10 % ($p < 0,05$), в паракортикальной зоне на 9 % ($p > 0,05$). Количество малых лимфоцитов в корковом веществе уменьшается более чем в 2 раза. Только в составе центров размножения вторичных лимфоидных узелков происходит достоверное увеличение доли незрелых форм лимфоцитов на 29 % и клеток с фигурами митозов.

Примечательно, что введение кадмия вызывает уменьшение количества макрофагов во всех зонах коркового и мозгового вещества. Достоверное снижение количества макрофагов выявляется в первичных лимфоидных узелках, межузелковой и паракортикальной зонах и в мозговых тяжах. В центрах размножения и в мозговых синусах уменьшение их количества носит характер тенденции. В глубокой коре выявляются гигантские образования, состоящие из слившихся макрофагов (рис. 2).

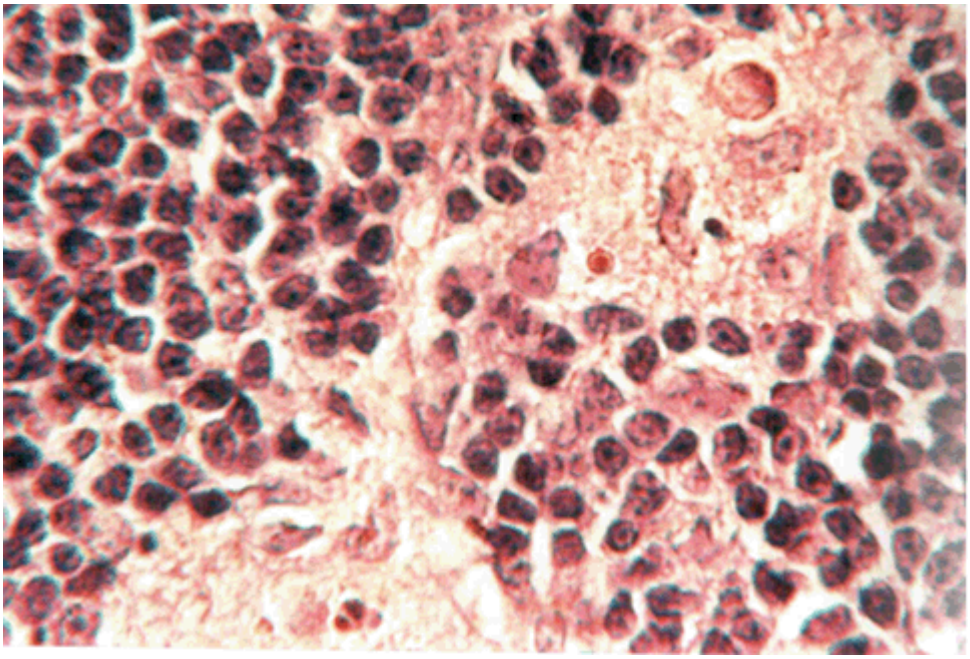

Рис. 2. Поля из макрофагов в паракортикальной зоне подвздошного лимфатического узла самки при введении кадмия. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение ×1000

Повсеместно в подвздошном лимфатическом узле самки в большом количестве встречаются клетки с признаками дегенерации.

Усиление процессов гибели клеток лимфоидного ряда приводит к обнажению стромальных компонентов узла, что проявляет себя в увеличении доли ретикулярных клеток во всех зонах органа. При электронной микроскопии и в корковом, и мозговом веществе лимфатического узла выявляется большое количество апоптозных телец.

Количество эозинофильных гранулоцитов в просвете мозговых синусов и в межфолликулярной зоне снижается. В синусах достоверно реже встречаются моноциты и тучные клетки. Однако здесь имеет место тенденция к увеличению количества малых лимфоцитов и плазматических клеток, что приводит к достоверному увеличению количества клеток в просветах мозговых синусов.

В мозговых тяжах происходит уменьшение количества плазматических клеток и увеличение в 7 раз количества клеток Мотта (рис. 3).

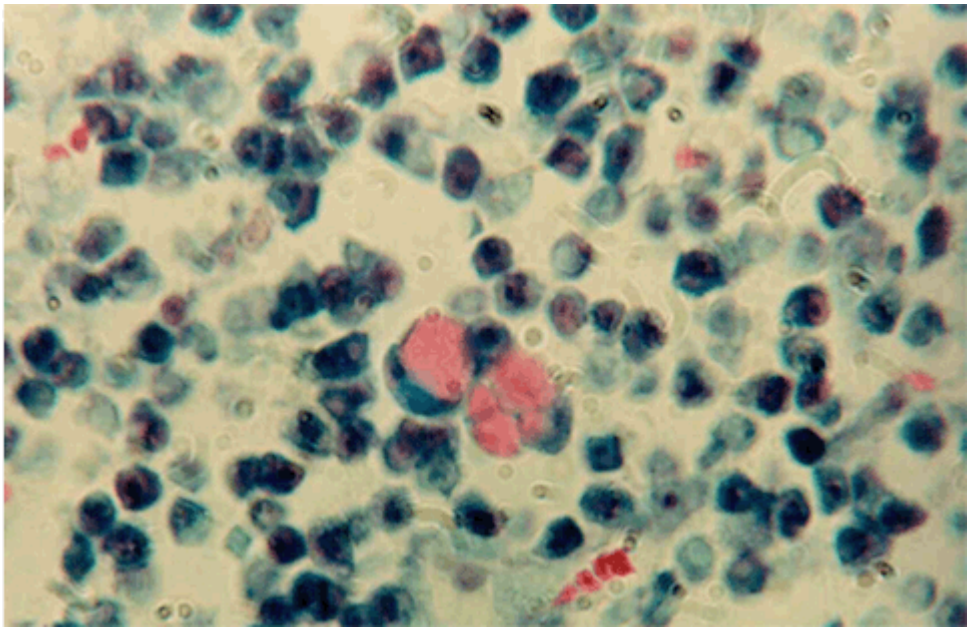

Рис. 3. Клетки Мотта в мозговых тяжах подвздошного лимфатического узла самки при введении кадмия. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение ×1000

Частым компонентом мозговых тяжей являются двуядерные плазматические клетки. Суммарное количество клеток мозговых тяжей достоверно снижено на 11 %.

При электронной микроскопии в плазматических клетках выявляются набухшие митохондрии со сниженным количеством крист. Часто наблюдаются процессы разрушения митохондрий плазматических клеток. Выявляются расширения цистерн комплекса Гольджи в цитоплазме плазматических клеток. В мозговых тяжах наблюдается просветление и расширение интерстициального пространства, клетки лежат свободно на значительном расстоянии друг от друга.

Стенки кровеносных капилляров мозговых тяжей истончены, цитоплазма проявляет повышенную электронную плотность, в цитоплазме эндотелиоцитов наблюдается расширение цистерн гранулярной эндоплазматической сети. Количество микровезикул в их цитоплазме снижено. Межэндотелиальные контакты неплотные. Люминальная поверхность эндотелиоцитов образует микроворсинки. Наблюдается набухание и отёк периваскулярного пространства. Плазматические клетки мозговых тяжей и синусов характеризуются гетерогенностью по форме и размерам, по плотности и форме гранулярного эндоплазматического ретикулума (рис. 4).

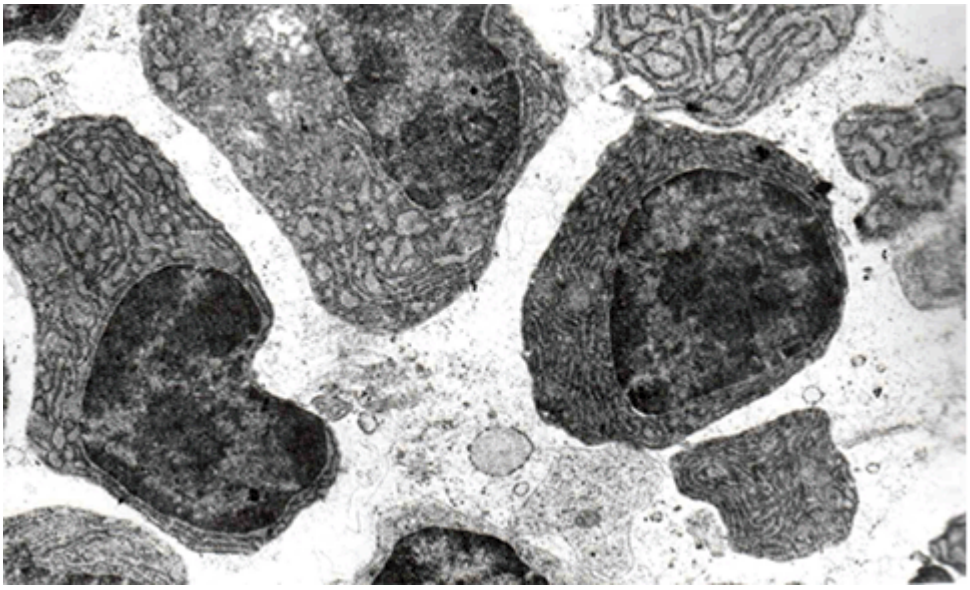

Рис. 4. Плазматические клетки в мозговом тяже подвздошного лимфатического узла матери при введении кадмия. Электронограмма. Увеличение ×8800

Цитоплазма лимфоцитов образует удлинённые выросты неправильной формы, в ядрах преобладает доля гетерохроматина.

Выводы. Подводя итог полученным результатам, необходимо отметить, что введение кадмия приводит к увеличению доли коркового вещества. Происходит активация В-зависимых структур подвздошного лимфатического узла самки. Повышенная гибель всех клеточных форм приводит к уменьшению количества лимфоцитов, макрофагов, эозинофильных гранулоцитов, тучных клеток, а в мозговых тяжах — плазматических клеток. Кадмий приводит к увеличению количества клеток Мотта, что отражает нарушение взаимосвязи процессов синтеза и выведения иммуноглобулинов в клетках плазмоцитарного ряда. Увеличение доли двуядерных плазмоцитов свидетельствует о нарушении процессов цитогенеза.

Список литературы

1. Микроэлементозы человека / А. П. Авцын [и др.]. — М. : Медицина, 1991. — 496 с.
2. Бородин Ю. И. Эндоэкология, лимфология и здоровье / Ю. И. Бородин // Бюл. СОРАМН. — 1999. — № 2 (92). — С. 5–7.
3. Залавина С. В. Многоэлементный портрет жителей Новосибирска в условиях накопления кадмия / С. В. Залавина, А. В. Скальный, С. В. Ефимов // Микроэлементы в медицине. — 2008. — № 9. — С. 70.
4. Теплая Г. А. Тяжёлые металлы как фактор загрязнения окружающей среды (обзор литературы) / Г. А. Теплая / Астраханский вестник экологического образования. — 2013. — № 1 (23). — С. 182–192.

REACTION OF ILEAL LYMPH NODE AT CHRONIC CADMIUM INPUT AT PREGNANCY (PILOT STUDY)

S. V. Zalavina, M. Y. Pushilina, P. A. Elyasin, N. I. Pushilin

SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health» (Novosibirsk)

Morphometric research structures of ileal lymph nodes at pregnancy against chronic cadmium intoxication is conducted. Signs of activation of humoral link of the immune answer are revealed. The share of cortical substance of lymph node is enlarged. Everywhere the increased death of cells that leads to decrease of lymphocytes quantity, macrophages, eosinophilic granulocytes, mast cells, and in cerebral fibrotic folds — plasmocytes is defined. The share of Mott cells and two-nuclear plasmocytes is enlarged in cerebral fibrotic folds.

***Keywords**:* lymph node, chronic intoxication, cadmium, pregnancy, morphometry.

About authors:

Zalavina Svetlana Vasilyevna — doctor of medical science, professor, acting of histology, embryology and cytology chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 225-15-24, e-mail: zalavinasv@mail.ru

Pushilina Marina Yurevna — internal post-graduate student of pediatric stomatology chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», e-mail: sdv.ngmu@mail.ru

Elyasin Pavel Aleksandrovich — candidate of medical science, assistant professor of human anatomy chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», contact phone: 8 (383) 215-15-24, e-mail: pharmngmu@yandex.ru

Pushilin Nikolay Igorevich — post-graduate student of human anatomy chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», contact phone: 8 (383) 225-15-24

List of the Literature:

1. Human microelementosis / A. P. Avtsyn [et al.]. — M. : Medicine, 1991. — 496 p.
2. Borodin Y. I. Endoecology, lymphology and health / Y. I. Borodin // Bulletin of SB RAMS. — 1999. — N 2 (92). — P. 5–7.
3. Zalavina S. V. Multielement portrait of residents of Novosibirsk in the conditions of cadmium accumulation / S. V. Zalavina, A. V. Skalny, S. V. Yefimov // Trace substances in medicine. — 2008. — N 9. — P. 70.
4. Teplaya G. A. Serious metals as factor of environmental pollution (review of literature) / G. A. Teplaya / Astrakhan messenger of ecological education. — 2013. — N 1 (23). — P. 182–192.