ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ЭТАНОЛОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ САМОК КРЫС НА ИММУННЫЕ ОРГАНЫ ИХ ПОТОМСТВА

[П. В. Пугач](#), [С. В. Круглов](#)

ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России (г. Санкт-Петербург)

С помощью морфометрических, гистологических, иммуногистохимических и статистических методов изучены тимус и брыжеечные лимфатические узлы 280-ти новорожденных крыс. Самки, от которых было получено потомство, получали 15 % раствора как единственный источник жидкости во время беременности и 1-6 месяцев до ее наступления. Контролем служило потомство самок, находившихся на стандартном рационе питания. Совокупность изменений в тимусе и брыжеечных лимфатических узлах потомства имеют характерные особенности, зависящие от длительности прегравидарного воздействия этанола.

Ключевые слова: тимус, брыжеечные лимфатические узлы, новорожденная крыса, этанол.

Пугач Петр Владимирович — кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой морфологии человека ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова», г. Санкт-Петербург, рабочий телефон: (812) 303-50-00, e-mail: Petr.Pugach@szgmu.ru

Круглов Сергей Владимирович — кандидат медицинских наук, доцент кафедры морфологии человека ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова», г. Санкт-Петербург, рабочий телефон: (812) 303-50-00

Введение. Согласно современной анатомической терминологии тимус является первичным органом лимфоидной [иммунной] системы. Его структурно-функциональный статус во многом определяет состояние иммунной системы в целом и вторичных иммунных органов, таких как брыжеечные лимфатические узлы, в частности [2, 8, 14]. Изучению влияния различных экзогенных факторов на ante- и постнатальный онтогенез органов лимфоидной системы посвящено большое количество работ [1, 4, 7, 8, 10, 14]. Особенности структурной организации лимфоидных органов в результате антенатальной этаноловой интоксикации вызывают повышенный интерес у многих исследователей.

Однако, имеющиеся литературные данные до сих пор остаются достаточно противоречивыми, касаются главным образом тимуса и не учитывают длительность прегравидарной алкогольной интоксикации [3, 11–13, 15].

Целью исследования, таким образом, явилось изучение основных закономерностей антенатального влияния этанола на развитие тимуса и краниальных брыжеечных лимфатических узлов новорожденных крыс в корреляции с длительностью прегравидарной алкогольной интоксикации самок.

Материал и методы исследования. Исследование выполнено на 280-ти новорожденных беспородных белых крысах. Исследования проводились с соблюдением Приказа МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 и Приказа Министерства высшего и среднего специального образования СССР от 13.11.1984 «О правилах проведения работ с использованием экспериментальных животных». Животных выводили из эксперимента путем декапитации под наркозом (пары хлороформа). Самки крыс, от которых было произведено потомство, получали комбикорм, однако единственным источником жидкости для них до и во время беременности служил 15 % раствор этанола. В зависимости от длительности воздействия этанола до наступления беременности на самок было сформировано 7 экспериментальных групп (ЭГ₁₋₇). В ЭГ₁ вошло потомство крыс, получавших 15 % раствор этанола в качестве единственного источника жидкости только во время беременности; новорожденные крысы ЭГ₂ были получены от самок, дополнительно получавших этанол на протяжении 1 мес. до наступления беременности и на ее протяжении; ЭГ₃ — 2 мес., ЭГ₄ — 3 мес., ЭГ₅ — 4 мес.; ЭГ₆ — 5 мес. и ЭГ₇ — 6 мес. Контролем служили новорожденные крысы, полученные от интактных самок (КГ).

Массу тела и выделенного тимуса новорожденных крыс определяли взвешиванием на электронных весах; рассчитывали относительную массу тимуса. Краниальные брыжеечные лимфатические узлы (КБЛУ) выделяли под бинокулярной лупой МБС-2. Тимус и КБЛУ фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина в течение 24 часов и подвергали рутинной гистологической обработке с последующим заключением в парафин. На санном микротоме готовили серийные гистологические срезы толщиной 2–3 мкм. Срезы тимуса и КБЛУ окрашивали гематоксилином и эозином, азуром II и эозином, импрегнировали серебром по Футу и Гордону-Смиту.

Под микроскопом «МИКРОМЕД-3» определяли морфологические показатели тимуса и его долей (длину и ширину, площадь, объемную плотность паренхимы и соединительной ткани); морфологию КБЛУ (количество и площадь) изучали на срезах, проходящих через плоскость их ворот. Количество отдельных клеточных элементов в тимусе и КБЛУ подсчитывали при окуляре 10 и объективе 100 на условной единице площади (15 000 мкм²;) отдельно для каждой из структурно-функциональных зон. Статистическую обработку полученных количественных непрерывных данных проводили при помощи прикладной программы SPSS 16.0; значимость различий между двумя смежными возрастными группами определяли по непарному критерию Стьюдента; нормальность распределения определяли методом описательной статистики при помощи критерия Shapiro-Wilk; для проверки равенства дисперсий использовали критерий Levene; различия считали значимыми при $P \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. По совокупности полученных нами результатов о морфометрических изменениях в тимусе и КБЛУ новорожденных крыс, а также опираясь на литературные данные [4, 7] об антенатальном развитии этих органов было установлено следующее. У новорожденных животных ЭГ₁ (относительно непродолжительное прегравидарное воздействие этанола на организм самок)

не возникают нарушения на начальных стадиях развития тимуса. У этих животных на первый план выходят изменения морфологических характеристик органа, возникающие на более поздних этапах его внутриутробного развития (клеточный и стромально-паренхиматозный дисбаланс, изменения со стороны весовых показателей и линейных размеров). Со стороны КБЛУ у новорожденных крыс этой экспериментальной группы отмечается уменьшение их количества (особенно резко это будет выражено у потомства крыс после трехмесячной алкогольной интоксикации). Суммарная площадь КБЛУ, напротив, нарастает. Такие изменения свидетельствуют о нарушениях процесса образования КБЛУ на ранних этапах их онтогенеза и компенсаторном увеличении их рабочей паренхимы.

У новорожденных крыс ЭГ_{2,7} отмечаются изменения в тимусе и КБЛУ на всех этапах их пренатального развития. Их выраженность и проявления находятся в тесной связи со сроком, в течение которого самки подвергались алкоголизации до наступления беременности. В тимусе также отмечается ряд специфических патоморфологических изменений: кровоизлияния, некрозы, псевдогландулярная трансформация, лимфоидные узелки (табл. 1). Реакция КБЛУ заключается в резком увеличении их количества у животных ЭГ₅ и последующем снижении в ЭГ₆ и ЭГ₇. Общая площадь КБЛУ статистически значимо не изменяется. Это, в свою очередь, свидетельствует об истощении иммунологических потенциалов со стороны этих периферических иммунных органов. Общей закономерностью для тимуса и КБЛУ со стороны клеточного состава во всех ЭГ является снижение количества клеток лимфоидного ряда и митотической активности, увеличение количества ретикулярных эпителиоцитов и дегенирирующих клеток [5, 6].

Таблица 1

Патоморфологические изменения в тимусе потомства экспериментальных животных

Патоморфологические изменения	Экспериментальные группы животных						
	1	2	3	4	5	6	7
Кровоизлияния	+	+	++	+++	++	+	++
Некрозы	—	++	++	—	+	+	+
Псевдогландулярная трансформация	—	++	—	—	—	—	+
Лимфоидные узелки	—	++	—	—	—	—	+

Примечание: «—» — отсутствие изменений; «+» — слабо выраженные изменения; «++» — умеренно выраженные изменения; «+++» — резко выраженные изменения

Для КБЛУ также характерны кровоизлияния и, кроме того, нарушения дифференцировки паренхимы (табл. 2). Так, если у животных КГ встречаются КБЛУ на разных стадиях дифференцировки паренхимы, то в экспериментальных группах отмечается «выпадение» отдельных стадий (исключением являются ЭГ_{3,5,7}) (табл. 2). Эти данные согласуются с результатами исследования С. В. Свирина (2010) [9]. Кроме того, в тимусе и КБЛУ нами обнаружены изменения, касающиеся внутриорганного полиморфизма их строения (исключением являются животные ЭГ₆). Появляются и нарастают, в зависимости от длительности этанолового воздействия, различия в количестве (ЭГ₁₋₃) и строении долей тимуса и их долек (ЭГ₁₋₆). Тимус и КБЛУ животных ЭГ₇ отличаются выраженными индивидуальными особенностями морфологии, носящими разнонаправленный характер

как на макро-, так и микроскопическом уровнях.

Таблица 2

Особенности строения паренхимы краниальных брыжеечных лимфатических узлов у потомства контрольных и экспериментальных животных

Форма организации паренхимы КБЛУ	Контрольная группа животных	Экспериментальные группы животных						
		1	2	3	4	5	6	7
Корково-мозговая дифференцировка (КМД) отсутствует	+	—	+	+	+	+	+	+
Начинающаяся КМД	+	+	+	+	—	+	+	+
Сформированные первичные узелки	+	+	—	+	—	+	—	+

Заключение. Таким образом, изменения в тимусе и КБЛУ потомства алкоголизированных самок можно выделить как общие признаки, характеризующие данный вид экспериментального воздействия, так и выраженные различия количественных и качественных показателей, что позволяет по их совокупности определить длительность экспериментального воздействия и связать их с тем или иным периодом онтогенеза.

Список литературы

1. Долгова, М. А. Особенности строения органов иммунной системы материнского и развивающегося организмов в условиях нормы и воздействия лекарственных препаратов / М. А. Долгова // Морфология и развитие органов иммунной системы : сб. научных работ. — М. ; Пермь, 1988. — С. 18.
2. Кемилева З.,..... 3333 „Вилочковая железа : пер. с болгарского / З. Кемилева. — М. : Медицина, 1984. — 256 с.
3. Надыров Н. А. Постнатальное развитие и реактивность тимуса у потомства крыс алкоголизированных во время беременности : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н. А. Надыров. — Караганда, 1991. — 20 с.
4. Петрова Т. Б. Морфологические особенности вилочковой железы крыс в антенатальном и раннем постнатальном периодах онтогенеза при воздействии тетрациклина : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Т. Б. Петрова. — Симферополь, 1984. — 20 с.
5. Пугач П. В. Строение брыжеечных лимфатических узлов новорожденных крыс в норме и после пренатального воздействия этанола / П. В. Пугач // Морфология. — 2010. — Т. 138, № 6. — С. 32-36.
6. Пугач П. В. Морфологические изменения тимуса новорожденных крыс, развивавшихся в условиях воздействия этанола на организм самок / П. В. Пугач, С. В. Круглов, Н. Р. Карелина // Астраханский мед. журн. — 2012. — Т. 7, № 4. — С. 219-221.
7. Савицкая Т. Н. Строение трахеобронхиальных и брыжеечных лимфатических узлов в антенатальном и постнатальном периодах онтогенеза (анатоми-экспериментальное исследование) : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Т. Н. Савицкая. — Л., 1985. — 251 с.
8. Сапин М. Р. Иммунная система, стресс и иммунодефицит / М. Р. Сапин, Д. Б. Никитюк. — М. : Джангар, 2000. — 184 с.
9. Свириной С. В. Строение брыжеечных лимфатических узлов у новорождённых крыс при воздействии алкоголя на систему «мать-плод» (экспериментально-морфологическое исследование) : автореф. дис. ... канд. мед. наук / С. В. Свириной. — СПб., 2010. — 22 с.

10. Ткачук М. Г. Восстановление тимуса и селезенки после интенсивных физических нагрузок / М. Г. Ткачук // Морфология. — 2000. — Т. 117, № 3. — С. 121.
11. Торбек В. Э. Морфогенез тимуса / В. Э. Торбек . — М. : РУДН., 1995. — 116 с.
12. The possible mechanism of action of ethanol on rat thymus / M. Budec [et al.] // Drug. Alcohol. Depend. — 1992. — Vol. 30, N 2. — P. 181-185.
13. Ewald S. J. Flow cytometric and histological analysis of mouse thymus in fetal alcohol syndrome / S. J. Ewald, S. M. Walden // J. Leukoc. Biol. — 1988. — Vol. 5. — P. 434-440.
14. Lio C. W. Becoming self-aware : the thymic education of regulatory T cells / C. W. Lio, C. S. Hsieh // Curr. Opin. Immunol. — 2011. — Vol. 23, N 2. — P. 213-219.
15. Prenatal exposure to alcohol enhances thymocyte mitogenic responses postnatally / C. M. Wong [et al.] // Int. J. Immunopharmacol. — 1992. — Vol. 14, N 2. — P. 303-309.

INFLUENCE OF ETHANOL INTOXICATION DURATION AT RAT FEMALES ON IMMUNE ORGANS OF THEIR POSTERITY

[P. V. Pugach, S. V. Kruglov](#)

SBEI HPE «Northwest state medical university n. a. I. I. Mechnikov» of Ministry of Health (St. Petersburg)

Thymus and mesenteric lymph nodes of 280 newborn rats are studied by means of morphometric, histological, immunohistochemical and statistical methods. Females who had posterity, received 15 % solution as the only source of liquid during pregnancy and for 1-6 months before being pregnant. The posterity of the females who were on standard food served as a control point. The set of changes in thymus and mesenteric lymph nodes of posterity has characteristics depending on duration of preconception influence of ethanol have.

Keywords: thymus, mesenteric lymph nodes, newborn rat, ethanol.

About authors:

Pugach Petr Vladimirovich — candidate of medical science, assistant professor, head of human morphology chair at SBEI HPE «Northwest state medical university n. a. I. I. Mechnikov» of Ministry of Health, office phone: (812) 303-50-00, e-mail: Petr.Pugach@szgmu.ru

Kruglov Sergey Vladimirovich — candidate of medical science, assistant professor human morphology chair at SBEI HPE «Northwest state medical university n. a. I. I. Mechnikov» of Ministry of Health, office phone: (812) 303-50-00

List of the Literature:

1. Dolgova M. A. Features of constitution of organ of immune system of maternal and developing body at norm and under the influence of medicines / M. A. Dolgova // Morphology and development of organ of immune system: coll. of scientific works. — M. ; Perm, 1988. — P. 18.
2. Kemileva Z. Thymus gland : translation from Bulgarian / Z. Kemileva. — M. : Medicine, 1984. — 256 p.
3. Nadyrov N. A. Post-natal development and reactivity of thymus in posterity of rats alcoholized during pregnancy : theses. ... cand. of medical science / N. A. Nadyrov. — Karaganda, 1991. — 20 p.
4. Petrova T. B. Morphological features of thymic gland of rats in antenatal and early post-natal the ontogenesis periods at influence of Tetracyclinum : theses. ... cand. of medical science / T. B. Petrova. — Simferopol, 1984. — 20 p.
5. Pugach P. V. Structure mesenteric the lymphatic knots of newborn rats in norm and the postprenal influence of the ethanol / P. V. Pugach // Morphology. — 2010. — Vol. 138, N 6.

— P. 32-36.

6. Pugach P. V. Morfological changes of timus at newborn rats , developed in under the influence of an ethanol on female bodies / P. V. Pugach, S. V. Kruglov, N. R. Karelina //Astrakhan medical journal. — 2012. — Vol. 7, N 4. — P. 219-221.
7. Savitskaya T. N. Structure the tracheobronchial and mesenteric lymphatic knots in antenal and postnatal periods of ontogenesis (anatomy-experimental research) : theses. ... cand. of medical science / T. N. Savitskaya. — L., 1985. — 251 p.
8. Sapin M. R. Immune system, stress and immunodeficiency / M. R. Sapin, D. B. Nikityuk. — M. : Dzhangar, 2000. — 184 p.
9. Svirin S. V. Structure of mesenteric lymph nodes at newborn rats at impact of alcohol on mother fetus system (experimental and morphological research) : theses.... cand. of medical science / S. V. Svirin. — SPb., 2010. — 22 p.
10. Tkachuk M. G. regenerative process of timus and spleen after intensive physical activity / M. G. Tkachuk // Morphology. — 2000. — Vol. 117, N 3. — P. 121.
11. Torbek V. E. Morfogenesis of timus / V. E. Torbek. — M. : PFUR, 1995. — 116 p.
12. The possible mechanism of action of ethanol on rat thymus / M. Budec [et al.] // Drug. Alcohol. Depend. — 1992. — Vol. 30, N 2. — P. 181-185.
13. Ewald S. J. Flow cytometric and histological analysis of mouse thymus in fetal alcohol syndrome / S. J. Ewald, S. M. Walden // J. Leukoc. Biol. — 1988. — Vol. 5. — P. 434-440.
14. Lio C. W. Becoming self-aware : the thymic education of regulatory T cells / C. W. Lio, C. S. Hsieh // Curr. Opin. Immunol. — 2011. — Vol. 23, N 2. — P. 213-219.
15. Prenatal exposure to alcohol enhances thymocyte mitogenic responses postnatally / C. M. Wong [et al.] // Int. J. Immunopharmacol. — 1992. — Vol. 14, N 2. — P. 303-309.