

## СТРОЕНИЕ ТИМУСА И БРЫЖЕЕЧНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС В РЕЗУЛЬТАТЕ АНТЕНАТАЛЬНОГО ВЛИЯНИЯ ЭТАНОЛА

© П. В. Пугач<sup>1</sup>, С. В. Круглов<sup>1</sup>, Н. Р. Карелина<sup>2</sup>, Д. В. Бреусенко<sup>2</sup>, С. Ю. Бажин<sup>1</sup>, С. А. Круговихин<sup>1</sup>, Н. А. Мамерзаев<sup>1</sup>, Д. А. Молчанов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова»

Минздрава России, Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России

**Резюме.** Настоящее исследование предпринято с целью изучить особенности строения тимуса и краиальных брыжеечных лимфатических узлов новорожденных крыс, произошедшие в результате антенатальной алкогольной интоксикации. В работе использован комплекс морфометрических, анатомических и гистологических методов. Исследование краиальных брыжеечных лимфатических узлов выполнено на 45 новорожденных крысах, родившихся от 18 самок беспородных белых крыс семимесячного возраста. Исследования проводились с соблюдением приказа МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. и приказа Министерства высшего и среднего специального образования СССР от 13.11.1984 г. «О правилах проведения работ с использованием экспериментальных животных». Самки, от которых было получено исследованное потомство, подвергались воздействию 15%-го раствора этанола в качестве единственного источника жидкости на протяжении 1 недели, одного и трех месяцев до наступления беременности и во время ее течения. Показано, что в зависимости от длительности прегравидарного воздействия этанола происходят прогредиентные изменения в строении тимуса и краиальных брыжеечных лимфатических узлов. В тимусе, как и в лимфатических узлах, уменьшается количество лимфоидных клеток и увеличивается содержание стромальных элементов. В лимфоузлах отмечаются значительные изменения в строении синусной системы. Степень выраженности выявленных морфологических изменений обусловлена продолжительностью воздействия алкоголя на систему мать-плацента-плод.

**Ключевые слова:** антенатальное влияние этанола; тимус; лимфатические узлы.

## THE STRUCTURE OF THE THYMUS AND MESENTERIC LYMPH NODES OF NEWBORN RATS AS A RESULT OF THE PRENATAL INFLUENCE OF ETHANOL

© P. V. Pugach<sup>1</sup>, S. V. Kruglov<sup>1</sup>, N. R. Karelina<sup>2</sup>, D. V. Breusenko<sup>2</sup>, S. Yu. Bazhin<sup>1</sup>, S. A. Krugovikhin<sup>1</sup>, N. A. Mamerzaev<sup>1</sup>, D. A. Molchanov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Russia

**Abstract.** The present study was undertaken to examine the structural features of the thymus and cranial mesenteric lymph nodes of newborn rats that have occurred as a result of antenatal alcohol intoxication. We used a set of morphometric, anatomical and histological methods. A study of the cranial mesenteric lymph nodes performed on 45 newborn rats born to 18 female mongrel white rats seven months of age. The studies were conducted in compliance with the order of the Ministry of Health of the USSR N 755 from 12.08.1977 and the order of the Ministry of Higher and Secondary Special Education of the USSR from 13.11.1984, "On the rules of work with experimental animals". Females, on which was received investigated offspring exposed to 15 % ethanol as the sole source of fluid for 1 week, one and three months before pregnancy, during pregnancy and after its completion. It is shown that depending on the duration of pregravid exposure to ethanol occur progredient changes in the structure of the thymus and cranial mesenteric lymph nodes. In the thymus, as well as in the lymph nodes, decreases the number of lymphoid cells and stromal elements content increases. In lymph nodes there are significant changes in the structure of the sinus system. The severity of the identified morphological changes due to the duration of the effects of alcohol on the system "mother-placenta-fetus".

**Key words:** antenatal influence of ethanol; thymus; lymph nodes.

В настоящее время алкоголизм является одной из самых острых медико-социальных проблем. Алкоголь вызывает значительные изменения в строении и функции большинства систем организма [1, 3]. Воздействие различных неблагоприятных фак-

торов внешней и внутренней среды на систему мать-плацента-плод изменяет структуру лимфоидных органов и, как следствие, их функциональные характеристики [2, 6]. В многочисленных исследованиях подробно описаны изменения этих органов,

предложены варианты коррекции выявленных патоморфологических нарушений. Однако действие этанола как медико-социального агента в этом аспекте освещено лишь в единичных работах [4, 5, 7].

**Цель исследования** — изучить особенности строения тимуса и брыжеечных лимфатических узлов новорожденных крыс после антенатальной алкогольной интоксикации.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование краиальных брыжеечных лимфатических узлов выполнено на 45 новорожденных крысах, родившихся от 18 самок беспородных белых крыс семимесячного возраста. Исследования проводились с соблюдением всех этических принципов<sup>1</sup>.

Самки крыс были разделены на 3 группы: одну контрольную и три экспериментальные. В ежедневный рацион животных контрольной группы входил сухой комбикорм и питьевая вода. Животные экспериментальных групп также получали комбикорм, а в качестве единственного источника жидкости 15%-й раствор этанола до наступления и во время беременности. Экспериментальные группы выделены в зависимости от длительности воздействия этанола на самок до наступления беременности. I экспериментальная группа — животные получали этанол на протяжении одной недели до наступления беременности; II и III группы — самки находились под воздействием 15%-го раствора этанола в течение одного и трех месяцев до наступления беременности соответственно.

Декапитация новорожденных животных проводилась под наркозом (пары хлороформа).

Для изучения брыжеечных лимфатических узлов под бинокулярной лупой МБС-2 выделяли комплекс, состоящий из брыжейки тонкой кишки, брыжеечных сосудов и нервов, а также лимфоидной и жировой ткани, расположенной в корне брыжейки тонкой кишки и других производных брюшины.

Краиальные брыжеечные лимфатические узлы (КБЛУ) у новорожденных крыс располагаются между листками брыжейки тонкой кишки по ходу краиальной брыжеечной артерии. Их топографически можно разделить на три группы. 1-я топографическая группа объединяет узлы, расположенные в начальном отрезке краиальной брыжеечной артерии и ее ветвей, до места отхождения от нее подвздошно-ободочной артерии; 2-я топографическая груп-

па лимфатических узлов локализуется в брыжейке тонкой кишки, по ходу продолжения краиальной брыжеечной артерии и подвздошно-ободочной артерии; 3-я топографическая группа состоит из узлов, расположенных в области илеоцекального угла на нижнемедиальной поверхности слепой кишки или в подвздошно-слепокишечной связке, на некотором расстоянии от илеоцекального угла.

Выделенный комплекс размещали на плотной бумаге и фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина. Серийные гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, азур II и эозином, по Ван Гизону, по Вейгерту и импрегнировали солями серебра по Футу.

Определяли топографию брыжеечных лимфатических узлов относительно краиальной брыжеечной артерии и ее ветвей, их количество и форму. Форму лимфатических узлов оценивали в соответствии с рекомендациями Ю.И. Бородина и др. Продольные и поперечные размеры узлов измеряли при помощи программы Scope Photo, для подсчета площади узлов использовали программу Image. Структуру КБЛУ изучали при помощи светового микроскопа МИКРОМЕД-3 со съемной камерой LEVENHOOK. Все морфометрические параметры измерялись на срединных продольных срезах, проходящих ворота узла. Размеры структур узла и клеточный состав КБЛУ определяли в 10 полях зрения у 10 животных. Полученные цифровые показатели обрабатывались с использованием статистического пакета Microsoft Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

У новорожденных крыс, родившихся от самок, находившихся под воздействием 15%-го раствора этанола в течение одной недели до наступления беременности, в структуре тимуса наблюдаются значительные изменения. Дольки органа отличаются выраженным полиморфизмом своих размеров. Изменяется абсолютное и относительное содержание клеток лимфоидного ряда, появляются признаки акцидентальной инволюции. На фоне тотального уменьшения числа лимфоидных элементов, в субкапсулярной зоне органа отмечается увеличение количества малых лимфоцитов и значительное уменьшение числа больших лимфоцитов. При этом во внутренней кортикалной зоне коры резко увеличено количество средних лимфоцитов. В части долек отмечается опустошение «клеток-нянек». По сравнению с контрольными показателями, в корковом веществе тимуса наблюдается большее количество фигур митозов. Выявлено увеличение числа фагоцитов, в цитоплазме большинства которых видны фагоцитированные лимфоциты и их фрагмен-

<sup>1</sup> Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных» и приказ Министерства высшего и среднего специального образования СССР от 13.11.1984 г. «О правилах проведения работ с использованием экспериментальных животных».

ты. Помимо этого в корковом веществе увеличено количество деэпителизированных участков, наряду с выраженной дефрагментацией. Тимусные тельца в мозговом веществе немногочисленны (не более трех), они имеют тенденцию к слиянию; в некоторых дольках органа тимусные тельца обнаруживаются также в корковом веществе.

Изменения брыжеечных лимфатических узлов у этой же группы крыс затрагивают синусы, строму, лимфоидные элементы и сосудистый компонент. Подкапсуллярный синус имеет участки локальных изменений просвета. По сравнению с контролем показатель ширины просвета этого синуса увеличен или уменьшен в 1,5–2 раза. Капсула узла характеризуется гипертрофией своих соединительнотканых и мышечных элементов. Отмечается снижение общего количества лимфоцитов без изменений популяционного соотношения. В паренхиме некоторых узлов, особенно в области участков значительного сужения подкапсуллярного синуса, заметны участки с резким снижением количества лимфоцитов, и даже обнажения ретикулярной стромы.

У второй группы новорожденных крыс, родившихся от самок, находившихся под воздействием 15%-го раствора этанола на протяжении одного месяца до начала беременности, выявлены более резкие изменения в строении тимуса. В части долек органа граница между корковым и мозговым веществом стерта. Причем постепенное исчезновение границы более выражено в периферических участках долек. В мозговом веществе много мелких тимусных телец, в некоторых дольках их количество достигает пятнадцати. Междольковые и внутридольковые сосуды резко расширены, нередко обнаруживаются кровоизлияния диапедезного характера. По ходу междольковых сосудов обнаружена выраженная лимфоцитарная инфильтрация междольковой соединительной ткани. Все эти изменения в строении тимуса дополняются уменьшением количества клеток лимфоидного ряда во всех функциональных зонах.

В брыжеечных лимфатических узлах этой же группы крысят выявлены значительные морфологические изменения. На всех препаратах лимфоузлов определены резко расширенные промежуточные синусы коркового и мозгового вещества при относительно небольшом расширении краевого синуса. В некоторых лимфатических узлах наблюдались немногочисленные (по сравнению с контролем) сформированные лимфоидные узелки. Общее количество лимфоцитов уменьшено, но наиболее резко — в мозговом веществе. В сформированных лимфоидных узелках наблюдались участки инкапсуляции разрушенных лимфоидных и стромальных

клеточных элементов в зоне будущего герминативного центра. В местах формирующихся узелков нередки очаги массивных кровоизлияний. Указанные структурные изменения в брыжеечных лимфатических узлах этой подопытной группы животных характерны лишь для узлов, имеющих бобовидную форму. В лимфоузлах лентовидной формы морфологическая картина несколько иная. Отмечается значительное расширение краевого синуса, при этом в его ретикулярных клетках обнаружен выраженный отек, что приводит к лимфостазу в некоторых участках синуса. Кроме этого, в паренхиме лимфоузлов лентовидной формы отсутствовали массивные кровоизлияния, в то время как наблюдались многочисленные диапедезные кровоизлияния.

У новорожденных крыс третьей подопытной группы, родившихся от самок, находившихся под воздействием 15%-го раствора этанола на протяжении трех месяцев до наступления беременности, наблюдались наиболее выраженные изменения в строении тимуса и брыжеечных лимфатических узлов. Размеры долек тимуса были значительно уменьшены, а их структура отличалась ярко выраженным полиморфизмом. В части долек сохранилась дифференцировка на корковое и мозговое вещество, в ряде других граница между корковым и мозговым веществом не определялась, а в некоторых дольках обнаружен феномен инверсии слоев. Выявлены дольки с явлениями преколлапса, но опустошение «клеток-нянек» было выражено слабо. Отличительной особенностью строения долек тимуса у крысят этой группы явилось наличие гигантских тимусных телец. В ряде случаев их площадь составляла до 1/10 площади среза дольки. Наблюдался отек и утолщение междольковой соединительной ткани. Все внутридольковые сосуды были резко расширены (до 4 раз) с признаками патоморфологических изменений стенки.

Степень расширения просвета краевого синуса брыжеечных лимфатических узлов у животных этой группы, сопоставима с таковой у крысят первой подопытной группы. Паренхима лимфоузлов характеризовалась снижением количества лимфоидных элементов, главным образом за счет больших и малых лимфоцитов, которые были единичны в поле зрения. Как результат многочисленных кровоизлияний, в паренхиме определялось большое количество эритроцитов. Формирующиеся лимфоидные узелки выявлялись лишь в небольшом количестве узлов.

Таким образом, антенатальное воздействие алкоголя вызывает значительные изменения структуры центральных и периферических органов иммунной системы у новорожденных крыс. Степень выражен-

ности выявленных морфологических изменений обусловлена продолжительностью воздействия алкоголя на систему мать–плацента–плод.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Альтшулер В.Б. Алкоголизм. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010.
  2. Долгова М.А. Особенности строения органов иммунной системы материнского и развивающегося организма в условиях нормы и воздействия лекарственных препаратов. В кн.: Морфология и развитие органов иммунной системы: сб.тр.М.–Пермь; 1988; 18.
  3. Курч Н.М., Самусева Н.Л., Арзамасова О.А. Эмбрио- и фетотоксические эффекты этаноловой интоксикации у пренатально алкоголизированных животных. Журнал теоретической и практической медицины. 2011; 8 (Спец. вып.): 175–8.
  4. Надыров Н.А. Постнатальное развитие и реактивность тимуса у потомства крыс алкоголизированных во время беременности. Автореф. дис... канд. мед. наук. Караганда; 1991.
  5. Пугач П.В., Круглов С.В., Карелина Н.Р. Особенности строения тимуса и краиальных брыжеечных лимфатических узлов у новорожденных крыс после пренатального воздействия этанола. Морфология. 2013; 144 (4): 30–5.
  6. Смирнова О.Ю., Денисова Г.Н. Структура зчатка лимфатического узла крыс после пренатального воздействия стресс-факторов нерадиационной природы. Морфология. 2012; 141 (3): 144–5.
  7. Торбек В.Э. Морфофункциональное состояние ретикулоэпителиальных клеток тимуса у потомства алкоголизированных крыс. Морфология. 2010; 137(4): 91.
- nizmov v uslovijah normy i vozdejstvija lekarstvennyh preparatov [Features of a structure of the immune system organs of the maternal and developing organisms in the conditions of norm and influence of medicines]. In: Morfologija i razvitiye organov imunnnoj sistemy. M.–Perm; 1988. 18. (in Russian).
3. Kurch N.M. Samuseva N.L., Arzamasova O.A. Jembri- i fetotoksicheskie jeffekty jetanolovoj intoksikacii u prenatal'no alkogolizirovannyh zhivotnyh [Embryo- and fetototoxic effects of ethanol intoxication at animals after prenatal alkoholisation]. Zhurnal teoretičeskoj i praktičeskoj mediciny. 2011; 8 (Spec. vyp.): 175–8. (in Russian).
  4. Nadyrov N.A. Postnatal'noe razvitiye i reaktivnost' timusa u potomstva krys alkogolizirovannyh vo vremja beremennosti [Postnatal development and reactivity of thymus in posterity of rats the alkoholising during pregnancy. Avtoref. diss... kand. med. nauk. Karaganda; 1991. (in Russian).
  5. Pugach P.V., Kruglov S.V., Karelina N.R. Osobennosti stroenija timusa i kranial'nyh bryzheechnyh limfaticeskikh uzlov u novorozhdennyh krys posle prenatal'nogo vozdejstvija jetanola [Features of the thymus and the cranial mesenteric lymph nodes structure at newborn rats after prenatal influence of ethanol]. Morfologija. 2013; 144 (4): 30–5. (in Russian).
  6. Smirnova O.Ju., Denisova G.N. Struktura zchatka limfaticeskogo uzla krys posle prenatal'nogo vozdejstvija stress-faktorov neradiacionnoj prirody [Structure of rats lymph node germs after prenatal influence of stress factors of not radiation nature]. Morfologija. 2012; 141 (3): 144–5. (in Russian).
  7. Torbek V.Je. Morfofunkcional'noe sostojanie retiku- lojepitelial'nyh kletok timusa u potomstva alkogolizirovannyh krys [Morph functional state the reticuloepithelial cells of thymus at posterity the alkoholising rats. Morfologija. 2010; 137 (4): 91. (in Russian)

## REFERENCES

1. Al'tshuler V.B. Alkogolizm [Alcoholism] M.: GJeOTAR-Media, 2010. (in Russian).
2. Dolgova M.A. Osobennosti stroenija organov imunnnoj sistemy materinskogo i razvivajushhego organa

## ◆ Информация об авторах

Пугач Петр Владимирович – канд. мед. наук, доцент, заведующий. Кафедра морфологии человека. ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России. 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41. E-mail: Petr.Pugach@szgmu.ru.

Круглов Сергей Владимирович – канд. мед. наук, доцент. Кафедра морфологии человека. ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России. 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41. E-mail: sergei.kruglov@szgmu.ru.

Pugach Petr Vladimirovich – MD, PhD, Associate Professor, Head, Department of Human Morphology. North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov. 41, Kirochnaya St., St. Petersburg, 191015, Russia. E-mail: Petr.Pugach@szgmu.ru.

Kruglov Sergey Vladimirovich – MD, PhD, Associate Professor, Department of Human Morphology. North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov. 41, Kirochnaya St., St. Petersburg, 191015, Russia. E-mail: sergei.kruglov@szgmu.ru.

## ◆ Информация об авторах

*Карелина Наталья Рафаиловна* – д-р мед. наук, профессор, заведующий, кафедра анатомии человека. ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2. E-mail: karelina\_nr@gpmu.ru.

*Бреусенко Дмитрий Витальевич* – ординатор. Заведующий оториноларингологическим отделением клиники. ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2. E-mail: karelina\_nr@gpmu.ru.

*Бажин Степан Юрьевич* – аспирант. Кафедра морфологии человека. ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России. 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41. E-mail: s.krugovikhin@szgmu.ru.

*Круговихин Станислав Александрович* – аспирант. Кафедра морфологии человека. ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России. 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41. E-mail: s.krugovikhin@szgmu.ru.

*Мамерзаев Нариман Алимирзоевич* – аспирант. Кафедра морфологии человека. ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России. 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41. E-mail: s.krugovikhin@szgmu.ru.

*Молчанов Даниил Александрович* – ассистент. Кафедра морфологии человека. ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России. 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41. E-mail: s.krugovikhin@szgmu.ru.

*Karelina Natalia Rafailovna* – MD, PhD, Dr Med Sci, Professor, Head. Department of Human Anatomy. St. Petersburg State Pediatric Medical University. 2, Litovskaya St., St. Petersburg, 194100, Russia. E-mail: karelina\_nr@gpmu.ru.

*Breusenko Dmitriy Vitalievich* – Resident Doctor. Head of ENT Department of the Clinic. St. Petersburg State Pediatric Medical University. 2, Litovskaya St., St. Petersburg, 194100, Russia. E-mail: karelina\_nr@gpmu.ru.

*Bazhin Stepan Yurevich* – Postgraduate Student, Department of Human Morphology. North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov. 41, Kirochnaya St., St. Petersburg, 191015, Russia. E-mail: s.krugovikhin@szgmu.ru.

*Krugovikhin Stanislav Alexandrovich* – Postgraduate Student, Department of Human Morphology. North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov. 41, Kirochnaya St., St. Petersburg, 191015, Russia. E-mail: s.krugovikhin@szgmu.ru.

*Mamerzaev Nariman Alimirzoevich* – Postgraduate Student, Department of Human Morphology. North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov. 41, Kirochnaya St., St. Petersburg, 191015, Russia. E-mail: s.krugovikhin@szgmu.ru.

*Molchanov Daniil Alexandrovich* – Assistant Professor, Department of Human Morphology. North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov. 41, Kirochnaya St., St. Petersburg, 191015, Russia. E-mail: s.krugovikhin@szgmu.ru.