

УДК:616.441-091-092.9:613.84

Горяникова И.Н.**ВЛИЯНИЕ УПОТРЕБЛЕНИЯ МАЛЫХ ДОЗ ЭТАНОЛА ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕЛЕЗЕНКИ ПОТОМСТВА КРЫС***ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»*

Горяникова И.Н. Влияние употребления малых доз этанола во время беременности на структурно-функциональное состояние селезенки потомства крыс // Украинський медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 3. – С. 44-46.

При помощи комплекса морфологических, морфометрических и иммуногистохимических методов исследована селезенка 2-хмесячного потомства крыс, матери которых в течение беременности и вскармливания употребляли малые дозы этанола. Получены данные о структурных изменениях селезенки экспериментальных животных, характеризующиеся дозозависимым опустошением структурно-функциональных зон за счет как Т-лимфоидного, так и В-лимфоидного компонентов на фоне угнетения супрессорной активности и нарастания хелперной функции лимфоцитов, а также снижением макрофагальной реакции. Выявленные изменения отражают снижение адаптационных резервов селезенки, на фоне которых возрастает вероятность развития инфекционных процессов в постнатальном периоде.

Ключевые слова: селезенка, крыса, патологическая анатомия, малые дозы этанола.

Горянікова І.М. Вплив вживання малих доз етанолу під час вагітності на структурно-функціональний стан селезінки нащадків шурів // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 3. – С. 44-46.

За допомогою комплексу морфологічних, морфометричних та імуногістохімічних методів досліджена селезінка 2-хмісячних нащадків шурів, матери яких на протязі вагітності та вигодовування вживали малі дози етанолу. Отримані дані щодо структурних змін у вигляді дозозалежного спустошення структурно-функціональних зон за рахунок Т- та В-лімфоїдного компонентів на тлі пригнічення супресорної активності та зростання хелперної функції лімфоцитів, а також зниженням макрофагальної реакції. Знайдені зміни відбивають зниження адаптаційних резервів селезінки, на тлі яких зростає вірогідність розвитку інфекційних процесів у постнатальному періоді.

Ключові слова: селезінка, шур, патологічна анатомія, малі дози етанолу.

Gorianikova I.N Effects of small doses of ethanol consumption during pregnancy on structural and functional condition of rats' offspring's spleen // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 3. – С. 44-46.

Through a complex of morphological, morphometric and immunohistochemical methods a spleen of 2 months old offspring of rats whose mothers during pregnancy and breastfeeding have consumed low doses of ethanol was studied. The data of structural changes in the spleen of the experimental animal characterized by a dose-dependent depletion of structural-functional zones by both T - lymphoid and B- lymphoid components background suppression and growth suppressive activity of helper lymphocytes function and a decrease of macrophage response were got. Identified changes depict the reduction in spleen adaptation reserves, against which increases the risk of infectious processes in the postnatal period.

Key words: spleen, rat, pathological anatomy, a small doze of ethanol.

Постановка проблеми, анализ исследований и публикаций. Проблеме влияния употребления значительных доз алкоголя беременными на онтогенез плода посвящены многочисленные исследования [4,5,6]. Употребление алкоголя матерью в период беременности приводит к снижению приспособительных реакций и развитию постнатальных заболеваний ребенка, в том числе инфекционного синдрома в виде частых ОРВИ, что обусловлено нарушением процессов лимфопоэза и дисбалансом клеточного и гуморального иммунитета [3]. В последние годы возросло количество женщин, употребляющих слабоалкогольные напитки во время беременности, однако в медицинской литературе имеются лишь единичные работы, посвященные влиянию малых доз алкоголя на онтогенез органов и систем плода, в том числе и на иммунную систему.

Цель исследования – определение структурно-функциональных особенностей селезен-

ки потомков крыс линии Вистар при употреблении их матерями в течение беременности малых доз алкоголя.

Материал и методы. Работа выполнена на здоровых ранее не спаривавшихся самок линии Вистар возрастом 3 месяца. Животные разделены на контрольную и 2 экспериментальные группы (по 10 самок в каждой). В течение 1 месяца проводили адаптацию крыс экспериментальных групп к этанолу путем энтерального зондового введения 15% водного раствора этанола 5 раз в сутки, в первой группе по 2мл одноразово, во второй – по 4мл (пограничная и легкая степень опьянения) [1]. Самки продолжали получать алкоголь в тех же дозах в период беременности и вскармливания. Крысам контрольной группы вводилось по 3мл воды в том же режиме. Потомство экспериментальных и интактных животных выводилось из эксперимента в 2-х месячном возрасте (декапитация). Материалом для морфологического исследования послужили селе-

зенки 50 особей (по 15 – от матерей экспериментальных групп и 20 от интактных самок). Забор, фиксация и изготовление парафиновых блоков осуществлялись в соответствии с общепринятыми методиками. Изготавливали серийные поперечные срезы, толщиной 4-6мкм, использовали следующие гистологические и гистохимические окраски: гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизон, по Маллори. Иммуногистохимически прямым методом Кунса в модификации M.Brosman при помощи моноклональных антител к разным типам клеток фирмы Chemicon, USA дифференцировали разные типы клеток (CD3, CD4, CD8, CD45RA, ED1). Препараты изучали в люминисцентном микроскопе ЛЮМАМ-И2 с использованием светофильтров ФС-1, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3. Путем видеомикроскопической морфометрии с использованием программы «Olympus DP-soft version 3.1» определяли относительные объемы стромально-сосудистого компонента, белой и красной пульпы, стромально-паренхиматозное отношение; относительные объемы основных клонов иммунных клеток. Полученные данные обрабатывались методами вариационной статистики, вероятность различия между двумя средними при малых выборках определяли по таблице Стьюдента. Математический анализ полученных данных проводили на ЭВМ с использованием пакета прикладных программ фирмы Microsoft «EXCEL» [2].

Результаты исследования. При микроскопическом исследовании в контрольной и экспериментальных группах гистологическая структура селезенки четко представлена. Орган покрыт тонкой капсулой, состоящей из фуксинофильных соединительнотканых волокон с немногочисленными фибробластами и гладкими миоцитами между ними. От капсулы и от ворот органа в толщу паренхимы отходят тонкие умеренно фуксинофильные трабекулы. Во всех наблюдениях отмечается четкое деле-

ние на белую и красную пульпу. В основе белой пульпы визуализируется нежная ретикулярная сеть, волокна которой по Маллори окрашиваются в синий цвет. В петлях ретикулярных волокон заложены многочисленными лимфоидные фолликулы полигональной формы и разных размеров с эксцентрично расположенной центральной артерией, выстланной высокими эндотелиоцитами со слабо базофильными ядрами. В фолликулах крупных и средних размеров визуализируются периартериальные Т-зоны с высокой плотностью размещения лимфоцитов и более светлые мантийные В-зоны. В мелких фолликулах четко выявляется, как правило, периартериальная Т-зона, а В-зоны лишь намечаются. Т-зона представлена главным образом малыми лимфоцитами с немногочисленными экземплярами среднего и большого размера. В В-зоне определяются преимущественно малые и средние лимфоциты, выявляются лимфобласты с крупным базофильным ядром неправильной формы и объемной цитоплазмой, а также изредка встречаются плазмциты и макрофаги. Все крупные и большинство средних фолликулов имеют активные герминативные центры. В контрольной и экспериментальных группах преобладают фолликулы малых и средних размеров.

Во всех исследуемых группах красная пульпа селезенки сформирована из фуксинофильной ретикулярной сети, образующей селезеночные тяжи, локализуемой среди умеренно кровенаполненных венозных синусов, выстланных эндотелиоцитами вытянутой формы с округлым умеренно базофильным ядром и тонким ободком цитоплазмы. Селезеночные тяжи густоклеточные, представлены лимфоцитами, макрофагами, плазмцитами. Морфометрические показатели структурных компонентов селезенки исследуемых групп представлены в таблице 1.

Таблица 1. Относительные объемы основных структурных компонентов селезенки крыс контрольной и экспериментальных групп ($M \pm m$), %

Группа	Относительный объем стромально-сосудистого компонента	Относительный объем белой пульпы	Относительный объем красной пульпы	Стромально-паренхиматозное отношение
Контрольная группа	8,13±1,20	18,22±1,69	73,64±1,93	0,089±0,030
I группа	8,34±1,21	17,59±1,67	74,07±1,92	0,092±0,025
II группа	8,63±1,23	16,83±1,64	74,55±1,91	0,096±0,038

Примечание. * $p < 0.05$ (по сравнению с группой контроля)

Полученные данные свидетельствуют о том, что в обеих экспериментальных группах имеется тенденция к уменьшению относительного объема белой пульпы за счет тенденции к увеличению относительных объемов стромально-сосудистого компонента и красной пульпы с тенденцией к нарастанию стромально-паренхиматозного отношения, однако

достоверной разницы между соответствующими показателями в исследуемых группах не выявляется.

Иммуногистохимически в контрольной и экспериментальных группах Т-лимфоциты (CD3, CD4, CD8) визуализируются главным образом в периартериальных зонах фолликулов и красной пульпе селезенки, В-лимфоциты

(CD45RA) локалізовані в гермінтативних центрах і мантийних зонах фолликулов, в червоної пульпи. Макрофаги (ED1) визначаються як в червоної, так і червоної пульпи. Отно-

сительные объемы основных клонов иммунных клеток в исследуемых группах приведены в таблице 2.

Таблица 2. Относительные объемы основных клонов иммунных клеток в селезенке крыс контрольной и экспериментальных групп (M±m), %

Группа	CD3	CD4	CD8	CD45RA	ED1	CD4/CD8
Контрольная группа	34,28±2,08	68,43±2,04	25,33±1,91	51,46±2,19	18,22±1,69	2,69±0,06
I группа	32,04±2,05	69,08±2,03	24,25±1,88	49,9±2,19	17,23±1,65	2,85±0,05
II группа	31,42±2,03	69,27±2,02	23,18±1,85	48,12±2,19	16,37±1,62	2,990,08*

Примечание. *p<0.05 (по сравнению с группой контроля)

Анализируя данные таблицы можно отметить, что в обеих экспериментальных группах по сравнению с контролем отмечается тенденция к увеличению относительного объема популяции CD4, тогда как популяции CD3 и CD8 имеет тенденцию к снижению, что сопровождается тенденцией к повышению иммунорегуляторного индекса в I экспериментальной группе и достоверным повышением его во II экспериментальной группе по сравнению с соответствующим показателем у интактных животных. Параллельно отмечается тенденция к снижению относительных объемов В-лимфоцитов и макрофагов в обеих экспериментальных группах.

Выводы и перспективы дальнейших разработок.

1. У потомков экспериментальных животных, употреблявших малые дозы алкоголя во время беременности и вскармливания, морфологическая картина селезенки характеризу-

ется в сравнении с группой контроля дозозависимым опустошением структурно-функциональных зон за счет как Т-лимфоидного, так и В-лимфоидного компонентов на фоне угнетения супрессорной активности и нарастания хелперной функции лимфоцитов, а также снижением макрофагальной реакции.

2. Выявленные у потомков матерей, потреблявших этанол в небольших дозах, изменения отражают снижение адаптационных резервов селезенки, как за счет клеточного, так и гуморального звеньев иммунитета, на фоне которых возрастает вероятность развития инфекционных процессов в постнатальном периоде.

Полученные экспериментальные данные могут использоваться для проведения сравнительного анализа морфофункционального состояния селезенки детей, рожденных от женщин, употреблявших малые дозы алкоголя в течение беременности и вскармливания.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. **Балякин В.А.** Токсикология и экспертиза алкогольного опьянения / Балякин В.А. - М.: Медгиз, 1962. - 195 с.
2. **Лапач С.Н.** Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. - К: МОРИОН, 2001. - 408 с.
3. **Починок Т.В.** Патогенетичні механізми формування порушень імунітету у дітей, що страждають на повторні гострі респіраторні вірусні інфекції, та диференційовані підходи до їх корекції [Текст] : Автореферат... д. мед. наук, спец. 14.01.10 - педіатрія / Т. В. Починок. — К. : Ін-т педіатрії, акушерства та гінекології АМН України, 2001. — 36 с.
4. **Zhang X.** Prenatal alcohol exposure alters the course and severity of adjuvant-induced arthritis in

female rats / X. Zhang, W. Yu; P. Bach [et al.] // Brain, behavior, and immunity. - 2012. - №3. - P. 439-50.

5. **Kobor M.** Focus on: epigenetics and fetal alcohol spectrum disorders / M. Kobor, J. Weinberg // Alcohol research & health : the journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. - 2011. - №1. - P. 29-37.

6. **Galea K.** Prenatal alcohol exposure reduces the proportion of newly produced neurons and glia in the dentate gyrus of the hippocampus in female rats / K. Galea J. Sliwowska, S. Lieblisch [et al.] // Hormones and behavior. - 2010. - №5. - P. 835-43.

Надійшла 16.03.2013 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін