

© П.В. Пугач, 2010
УДК 611.428:611.383:599.323.4

П.В. Пугач

СТРОЕНИЕ БРЫЖЕЕЧНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС В НОРМЕ И ПОСЛЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭТАНОЛА

Кафедра анатомии человека (зав. — проф. Н.Р. Карелина), Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия, e-mail:etpug@mail.ru

Цель настоящего исследования — изучить особенности топографии и строения краниальных брыжеечных лимфатических узлов у новорожденных крыс, развивавшихся в условиях пренатального влияния этанола. Самки получали 15% этанол на протяжении 1, 2, 3, 4, 5 и 6 мес до наступления беременности и на ее протяжении. Использованы морфометрические и классические гистологические методы исследования. Количество лимфатических узлов и их площадь на срезах у новорожденных крыс изменяются в зависимости от продолжительности догравидного воздействия этанола на самок. Минимальных значений эти показатели достигают у крыс, родившихся от самок, подвергнутых 3-месячному воздействию этанола. При увеличении длительности воздействия этанола количество и площадь сечения лимфатических узлов возрастают. При этом наибольшее количество узлов наблюдается у крыс, родившихся от самок после воздействия этанола на протяжении 4 мес, а максимальная площадь — у крыс, родившихся от самок после воздействия этанола в течение 6 мес.

Ключевые слова: лимфатический узел, этанол, беременность

Проблема алкоголизма остается крайне острой и имеет характер национального бедствия [6]. На государственном уровне разработана концепция, целью которой являются снижение масштабов злоупотребления алкогольной продукцией и профилактика алкоголизма среди населения Российской Федерации [5]. В современной медицинской литературе имеется большое количество работ, посвященных проблематике пренатального воздействия этанола. В основном они затрагивают патогенетические и клинические аспекты так называемого алкогольного синдрома плода [1, 12, 13, 18, 19]. Данные о влиянии алкоголя на иммунные органы развивающегося организма встречаются довольно редко [7, 8, 14, 15].

У взрослых крыс брыжеечные лимфатические узлы расположены в дубликатуре брюшины по ходу краниальной брыжеечной артерии (КБА) и ее ветвей. У серой крысы выделяют центральные и периферические лимфатические узлы этого региона [4], у белой — описаны узлы только центральной группы [9]. Данные об особенностях топографии краниальных брыжеечных лимфатических узлов (КБЛУ) у новорожденных крыс в доступной литературе отсутствуют.

Поэтому целью настоящего исследования явилось изучение особенностей топографии и строения КБЛУ у новорожденных крыс, развивавшихся в физиологических условиях и после пренатального влияния этанола.

Материал и методы. Исследование КБЛУ выполнено на 83 новорожденных крысах, родившихся от 32 самок бес-

породных белых крыс 7-месячного возраста. Исследования проводили 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 крыс были разделены на 8 групп: контрольную и 7 экспериментальных. В ежедневный рацион животных контрольной группы (n=4) входили сухой комбикорм и питьевая вода. Животные экспериментальных групп также получали комбикорм; в I экспериментальной группе в качестве источника жидкости они получали до наступления беременности питьевую воду, а с момента наступления беременности и на ее протяжении 15% этанол. Животные II, III, IV, V, VI, VII групп получали 15% этанол в течение 1, 2, 3, 4, 5 и 6 мес соответственно до наступления беременности и на ее протяжении. Декапитацию новорожденных животных (не менее 5 особей в каждой группе) проводили под наркозом (пары хлороформа). Под бинокулярной лупой МБС-2 выделяли комплекс, состоящий из брыжейки тонкой кишки, брыжеечных сосудов и нервов, а также КБЛУ и жировой ткани, расположенной в корне и между листками брыжейки тонкой кишки.

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

Определяли топографию КБЛУ относительно КБА и ее ветвей, их количество и форму. Форму лимфатических узлов оценивали в соответствии с рекомендациями Ю.И. Бородина и соавт. [2]. При определении степени дифференцировки паренхимы лимфатических узлов учитывали показатели клеточного состава КБЛУ в соответствии с предложенной Т.Н. Савицкой [10] этапностью их развития. При этом учитывали следующие характеристики КБЛУ. Незрелые КБЛУ отличала однородность строения их паренхимы; в более зрелых узлах обнаруживалось разделение на корковое и мозговое вещество; в сформированных КБЛУ регистриро-

валось четкое разделение всех структурных компонентов узлов, включая первичные лимфоидные узелки (ПЛУ). Структуру КБЛУ изучали при помощи светового микроскопа «МИКРОМЕД-3» (КНР). На срединных продольных срезах, проходящих через ворота узла измеряли продольные и поперечные размеры узлов, используя программу «Score Photo», для определения площади срезов узлов — программу «Image». Все морфометрические параметры и клеточный состав КБЛУ определяли у каждого животного в 10 полях зрения. Полученные цифровые показатели обрабатывали с использованием статистического пакета Microsoft Excel, рассчитывали среднее арифметическое и его стандартную ошибку.

Результаты исследования. КБЛУ у новорожденных крыс располагались в брыжейке тонкой кишки по ходу КБА и по топографии были разделены на 3 группы. 1-я топографическая группа объединила узлы, расположенные в начальном отрезке КБА и ее ветвей, до места отхождения от нее подвздошно-ободочной артерии; 2-я топографическая группа локализовалась в брыжейке тонкой кишки, по ходу продолжения КБА и подвздошно-ободочной артерии; 3-я топографическая группа состояла из узлов, расположенных в области илеоцекального угла на нижнемедиальной поверхности слепой кишки или в подвздошно-слепокишечной связке, на некотором расстоянии от илеоцекального угла.

У новорожденных крыс, развивавшихся в физиологических условиях, общее количество КБЛУ составило $9,33 \pm 0,12$. При этом в 1-й топографической группе определялось $5,71 \pm 0,18$ узлов, во 2-й — $2,52 \pm 0,20$ и в 3-й — $1,10 \pm 0,09$ (рис. 1). Суммарная площадь всех продольных срединных срезов КБЛУ у новорожденных крыс составляла $115\,073 \pm 5368$ мкм². Из них на узлы 1-й топографической группы приходилось $56\,505 \pm 1344$ мкм², 2-й — $39\,684 \pm 1078$ мкм² и 3-й — $18\,884 \pm 949$ мкм² (рис. 2). Соотношение общих площадей срезов в различных топографических группах КБЛУ составило соответственно 3:2:1. Таким образом, отмечался отчетливый краниокаудальный градиент уменьшения, как количества, так и площади среза КБЛУ. КБЛУ в норме были представлены следующими формами. В 1-й топографической группе обнаружены узлы круглой, овальной, бобовидной и веретеновидной формы. Во 2-й топографической группе встречались узлы лентовидной, бобовидной и овальной формы. В 3-й топографической группе регистрировались узлы только круглой формы. Наибольшей степенью

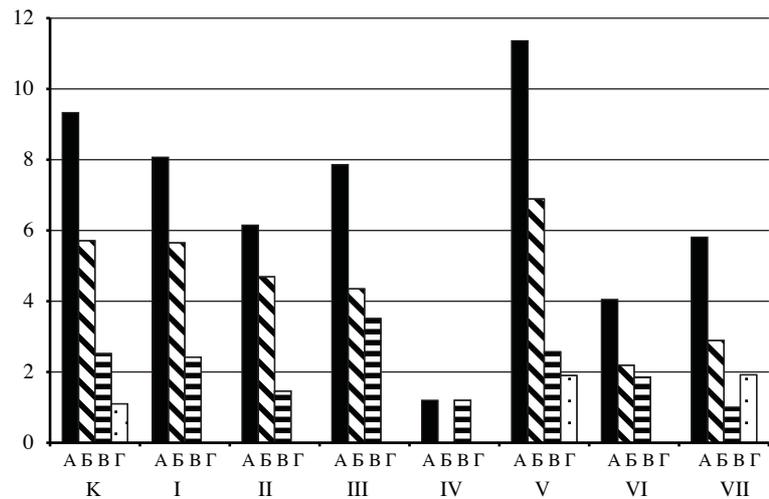


Рис. 1. Динамика изменения количества краниальных брыжеечных лимфатических узлов (КБЛУ) у новорожденных крыс после пренатального воздействия этанола.

По горизонтальной оси — А — общее количество КБЛУ; В — количество узлов в 1-й топографической группе; Г — количество узлов в 3-й топографической группе; К — контроль; I–VII — группы экспериментальных животных; по оси ординат — исследуемый показатель.

дифференцировки отличались КБЛУ бобовидной и лентовидной формы, в которых были сформированы ПЛУ и другие структурно-функциональные зоны. В узлах веретеновидной формы на их периферии отмечалось более плотное расположение лимфоидных клеток (формирование коркового вещества), с абсолютным и относительным преобладанием в этой зоне малых лимфоцитов. Паренхима КБЛУ овальной и круглой формы была однородной по составу, но доминирующими в ней были ретикулярные клетки.

У животных I экспериментальной группы общее количество КБЛУ составляло $8,07 \pm 0,16$. Сохранялся краниокаудальный градиент уменьшения как количества, так и площади продольных срединных срезов узлов, но при этом отсутствовали узлы в 3-й топографической группе (см. рис. 1, 2). В 1-й топографической группе были выявлены КБЛУ треугольной, бобовидной, овальной и круглой формы. КБЛУ 2-й топографической группы были представлены узлами лентовидной и овальной формы. Узлы всех топографических групп и форм объединяло отсутствие дифференцировки на корковое и мозговое вещество. В их паренхиме, непосредственно под капсулой, отмечалось повышение количества лимфоидных клеток, особенно значимое в узлах 2-й топографической группы.

Общее количество КБЛУ у крыс II экспериментальной группы составляло $6,2 \pm 0,9$. У этих животных, как и в I экспериментальной группе,

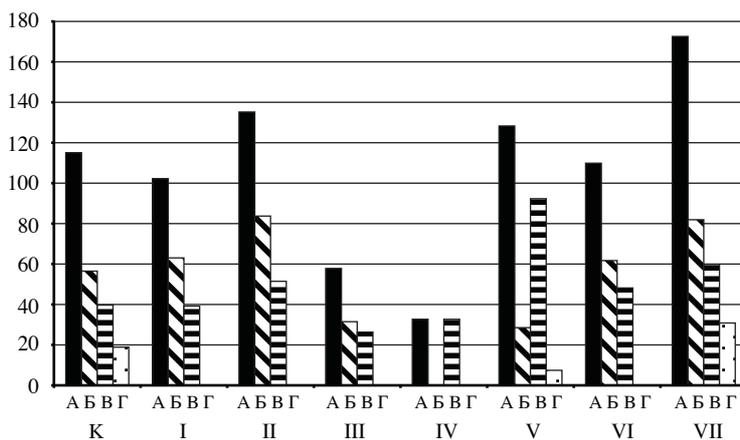


Рис. 2. Динамика изменения площади продольных срединных срезов краниальных брыжеечных лимфатических узлов (КБЛУ) у новорожденных крыс после пренатального воздействия этанола.

По горизонтальной оси — площади срезов: А — суммарная; Б — в 1-й топографической группе КБЛУ; В — во 2-й топографической группе КБЛУ; Г — в 3-й топографической группе КБЛУ; К — контроль; I–VII — группы экспериментальных животных; по оси ординат — исследуемый параметр ($\text{мм}^2 \times 10^3$).

наибольшее количество и площадь срединного среза узлов отмечались в 1-й топографической группе и также отсутствовали узлы в илеоцекальной области (см. рис. 1, 2). В 1-й топографической группе КБЛУ были обнаружены узлы неправильной вытянутой или круглой формы. КБЛУ 2-й топографической группы всегда имели треугольную форму. В периферических отделах всех узлов этой экспериментальной группы было зарегистрировано абсолютное и относительное увеличение лимфоидных клеток, главным образом за счет малых лимфоцитов.

У животных III экспериментальной группы общее количество КБЛУ составляло $7,9 \pm 0,9$. При сохраняющемся преобладании количества КБЛУ и площади их срединного среза в 1-й топографической группе была отмечена тенденция к некоторому уменьшению выраженности краниокаудального градиента за счет относительного увеличения узлов во 2-й топографической группе (см. рис. 1, 2). В области илеоцекального угла КБЛУ выявлены не были. В 1-й топографической группе определялись узлы бобовидной и круглой формы, во 2-й — бобовидной, круглой и лентовидной формы. КБЛУ бобовидной формы характеризовались сформированными структурно-функциональными зонами, в том числе и ПЛУ. В узлах лентовидной и овальной формы (1-я топографическая группа) разделение на корковое и мозговое вещество можно было определить лишь по увеличению количества малых лимфоцитов в периферической зоне узла, но выделить структурно-функциональные зоны было

невозможно. Паренхима узлов круглой формы была однородна и в ней преобладали ретикулярные клетки.

Общее количество КБЛУ у крыс IV экспериментальной группы составляло $1,20 \pm 0,18$ (см. рис. 1, 2). При этом они обнаруживались лишь в 15% случаев, только во 2-й топографической группе и имели овальную форму. Клеточный состав этих КБЛУ был представлен преимущественно ретикулярными клетками. В паренхиме узлов обнаружены множественные полнокровные сосуды и свободно расположенные эритроциты — как единичные, так и образующие массивные гемолизированные скопления.

У животных V экспериментальной группы общее количество КБЛУ составляло $11,4 \pm 0,6$. Их максимальное количество было отмечено в 1-й топографической группе, а наименьшее — в 3-й (см. рис. 1). Суммарная же площадь срединных срезов узлов была наибольшей во 2-й топографической группе, а минимальная в 3-й (см. рис. 2). 1-я топографическая группа была представлена узлами круглой, овальной и бобовидной формы, 2-я — узлами овальной и лентовидной формы и 3-я — узлами круглой формы. Дифференцировка на корковое и мозговое вещество с оформлением всех структурно-функциональных зон была отмечена только в КБЛУ бобовидной и лентовидной формы. Паренхима в узлах круглой и овальной формы (1-я и 3-я топографические группы) была однородна, в ее клеточном составе преобладали ретикулярные клетки. В периферических отделах овальных узлов 2-й топографической группы отмечено абсолютное и относительное увеличение количества малых лимфоцитов, где они являлись доминирующей клеточной популяцией.

Общее количество КБЛУ у крыс VI экспериментальной группы составляло $4,05 \pm 0,16$. В 1-й топографической группе как количество узлов, так и площадь их срединных срезов были наибольшими. В области илеоцекального угла узлов обнаружено не было (см. рис. 1, 2). КБЛУ 1-й топографической группы были представлены узлами неопределенной формы, а 2-й — узлами бобовидной и овальной формы. На периферии КБЛУ неопределенной и бобовидной формы в подкапсульных отделах отмечалось более плотное скопление лимфоидных клеток. В этих участках узлов бобовидной формы преобладали малые лимфоциты, а в узлах неопределенной формы количество малых лимфоцитов и ретикулярных

клеток было одинаковым. В КБЛУ овальной формы разделение на корковое и мозговое вещество отмечено не было, а преобладающими были ретикулярные клетки.

У животных VII экспериментальной группы общее количество КБЛУ составляло $5,81 \pm 0,29$. Больше всего узлов было зарегистрировано в 1-й топографической группе, меньше всего — во 2-й (см. рис. 1). Соотношение суммарных площадей срединных срезов узлов разных топографических групп составляло 2,6:2:1 (см. рис. 2). В 1-й топографической группе преимущественными формами КБЛУ являлись овальная и неправильная, во 2-й — лентовидная и в 3-й — бобовидная. Узлы неправильной и лентовидной формы отличались сформированными ПЛУ и другими структурно-функциональными зонами. Овальные и бобовидные узлы имели однородную структуру паренхимы, в которой преобладали ретикулярные клетки.

В КБЛУ животных всех экспериментальных групп были обнаружены изменения в пространственной организации, выраженность которых коррелировала со степенью уменьшения количества лимфоцитов. Так, в диффузной части коркового вещества, где в норме преобладала мелкопетлистая сеть ретикулярных волокон (РВ), появлялись незамкнутые петли и свободные РВ. В ПЛУ отмечено значительное снижение количества РВ. В КБЛУ с начинающейся дифференцировкой на корковое и мозговое вещество РВ располагались преимущественно свободно или формировали редкие незамкнутые петли. В КБЛУ с однородной паренхимой количество РВ всегда было снижено, отсутствовали незамкнутые петли. Другой характерной особенностью КБЛУ экспериментальных животных была отчетливо выраженная макрофагальная и сосудистая реакция. Степень выраженности последней достигала максимума в IV экспериментальной группе.

Обсуждение полученных данных. В результате проведенного исследования установлено, что количество КБЛУ у новорожденных крыс, развивавшихся в обычных условиях, значительно больше, чем было обнаружено другими исследователями, которые указывали, что количество брыжеечных узлов колеблется от 3 до 5 [10].

КБЛУ новорожденных крыс контрольной группы имеют различную форму, а не только круглую и овальную [10]. Л.С. Беспалова [1] также отмечала, что форма лимфатических узлов у млекопитающих животных и человека более разнообразная, чем принято считать. Неоднородное строение КБЛУ подтверждает гетерохронность их развития [3, 11, 16, 17]. В популяции всех КБЛУ у новорожденных крыс можно выделить

3 типа узлов, находящиеся на разных стадиях дифференцировки. Первый тип характеризуется отсутствием дифференцировки на корковое и мозговое вещество. Для второго типа узлов характерно начинающееся разделение паренхимы на корковое и мозговое вещество. Узлы третьего типа отличаются сформированным корковым и мозговым веществом, а также наличием ПЛУ.

Основные изменения в строении КБЛУ новорожденных крыс, родившихся от самок, подвергшихся воздействию 15% этанола, заключаются в следующем. У животных I экспериментальной группы, по сравнению с контролем, исчезают различия в строении паренхимы КБЛУ, независимо от их принадлежности к топографической группе: не определяются узлы с однородной паренхимой и с ПЛУ. У животных II экспериментальной группы отмечено появление узлов без дифференцировки на корковое и мозговое вещество, но лишь в 1-й топографической группе. У крыс III экспериментальной группы имеются КБЛУ всех трех типов во всех трех топографических группах. У крыс IV экспериментальной группы обнаруживаются узлы только с гомогенной паренхимой и только во 2-й топографической группе. КБЛУ новорожденных крыс V экспериментальной группы меньше всего отличаются от таковых у контрольных животных. У крыс VI экспериментальной группы обнаруживаются КБЛУ только первого и второго типов, у крыс VII экспериментальной группы имеются КБЛУ всех трех типов.

Выявленные изменения свидетельствуют о влиянии этанола на развитие КБЛУ, в частности происходит изменение количества, размеров и формы узлов, а также степени дифференцировки паренхимы.

Показанное в настоящем исследовании пренатальное воздействие этанола, приводящее к значительным изменениям в периферических органах лимфоидной системы — лимфатических узлах, согласуется с полученными ранее данными о его влиянии на развитие центрального органа этой системы — тимуса [7, 8, 14, 15].

ЛИТЕРАТУРА

1. Беспалова Л.С. Материалы сравнительно-анатомического исследования лимфатических узлов брюшной полости млекопитающих и их значение в учении об эволюции лимфатической системы человека. В кн.: Морфогенез сосудистой и нервной систем. Киев, Здоровье, 1967, с. 19–33.
2. Бородин Ю.И., Сапин М.Р., Этинген Л.Е. и др. Функциональная анатомия лимфатического узла. Новосибирск, Наука, 1992.
3. Жарикова Е.Н. Периферические органы системы иммунитета (развитие, строение, функция). Минск, Беларусь, 1979.
4. Иосифов И.М. Лимфатическая система серой крысы. Труды Ереванск. зооветеринарного ин-та, 1944, вып. 8, с. 227–255.

5. Концепция реализации государственной политики по снижению масштабов злоупотребления алкогольной продукцией и профилактике алкоголизма среди населения Российской Федерации на период до 2020 года. Одобрена распоряжением Правительства Российской Федерации от 30 декабря 2009 г. № 2128-р.
6. Медведев Д.А. Из выступления на совещании «О мерах по снижению потребления алкоголя в России». Российская газета, 13 августа 2009 г., № 4973, с. 1.
7. Надыров Э.А. Постнатальное развитие и реактивность тимуса у потомства крыс, алкоголизованных во время беременности: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1991.
8. Пугач П.В., Карелина Н.Р., Круглов С.В. и Свиринов С.В. Особенности строения тимуса и лимфатических узлов новорожденных крыс после пренатального воздействия алкоголя. В кн.: Современные проблемы морфологии. СПб., изд. ВНОАГЭ, ВМА им. Кирова, 2008, с. 125–128.
9. Рахимов Я.А. Грудной проток млекопитающих. Душанбе, Ирфон, 1968.
10. Савицкая Т.Н. Строение трахеобронхиальных и брыжеечных лимфатических узлов в антенатальном и постнатальном периодах онтогенеза (Анатомо-экспериментальное исследование): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ярославль, 1985.
11. Сушко А.А. и Чернышенко Л.В. Некоторые особенности функциональной анатомии лимфатической системы. Киев, Здоровье, 1966.
12. Таболин В.А., Жданова С.А., Пятницкая И.Н. и Урывчиков Г.А. Алкоголь и потомство. М., Высш. школа, 1988.
13. Тимошенко Л.В., Скакун Н.П. и Скакун Г.К. Алкогольный синдром плода. Киев, Здоровье, 1987.
14. Торбек В.Э. Микро- и ультраструктура тимуса потомства крыс после их алкоголизации. Арх. анат., 1999, т. 100, вып. 6, с. 61–65.
15. Торбек В.Э. Морфофункциональное состояние ретикулоэпителиальных клеток тимуса у потомства алкоголизованных крыс. Морфология, 2010, т. 137, вып. 4, с. 91.
16. Хлыстова З.С. Становление системы иммуногенеза плода человека. М., Медицина, 1987.
17. Шуркус В.Э., Шуркус Е.А. и Роман Л.Д. Генез, топография и связи лимфопроводящих путей брюшной полости (теоретический и прикладной аспект). СПб., изд. Ленинградск. обл. онкол. диспансера, 2002.
18. Evrard S.G. Diagnostic criteria for fetal alcohol syndrome and fetal alcohol spectrum disorders. Arch. Argent. Pediatr., 2010, v. 108, № 1, p. 61–70.
19. McGill J., Meyrholz D.K., Edsen-Moore M. et al. Fetal exposure to ethanol has long-term effects on the severity of influenza virus infections. J. Immunol., 2009, v. 182, № 12, p. 7803–7808.

Поступила в редакцию 14.09.10
Получена после доработки 10.10.10

STRUCTURE OF THE CRANIAL MESENTERIC LYMPH NODES IN NEWBORN RATS UNDER NORMAL CONDITIONS AND AFTER PRENATAL EXPOSURE TO ETHANOL

P.V. Pugach

The purpose of the present research was to study the peculiarities of topography and structure of cranial mesenteric lymph nodes of newborn rats that were prenatally exposed to ethanol during their development. Female rats received 15% ethanol solution for 1, 2, 3, 4, 5 and 6 months preceding pregnancy and throughout it. Morphometric and routine histological methods were used. The number of lymph nodes and their cross-sectional area in the newborn rats were changed depending on the duration of maternal pregravid ethanol exposure. The minimum values of these parameters were found in rats born to females that were exposed to ethanol for three months. With the increase of ethanol exposure duration, lymph node numbers and their cross-sectional areas were increasing too. The largest numbers of lymph nodes was observed in rats born to females exposed to ethanol for four months, while the maximum cross-sectional areas was found in rats born to mothers after six month-long ethanol exposure.

Key words: *lymph node, ethanol, pregnancy, prenatal exposure*

Department of Human Anatomy, St. Petersburg State Pediatric Medical Academy