

ЛИМФАТИЧЕСКИЙ РЕГИОН ПЕЧЕНИ МАТЕРИ И ПОТОМСТВА ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ, ОСЛОЖНЕННОЙ ДЕЙСТВИЕМ ЭКОТОКСИКАНТОВ**Лилия Евгеньевна КОПЫЛОВА, Елена Владимировна СТАРКОВА, Вадим Васильевич АСТАШОВ***ГУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН
630117, г. Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 4*

Исследование лимфатического региона печени выявило, что хроническая интоксикация тетрахлорметаном вызывает выраженные дистрофические и воспалительные изменения в печени и регионарных лимфатических узлах. При беременности эти изменения выражены меньше, более сохранены дренажно-детоксикационные функции лимфатических узлов. У потомства выявлены идентичные материнским изменения как в ткани печени, так и в регионарных лимфатических узлах, причем у потомства преимущественные изменения отмечены в В-зависимой зоне печеночных узлов, у матерей — в Т-зависимой зоне. Подобная однотипная реакция соименных органов реализуется, скорее всего, через механизм внегенетической передачи «родительского эффекта».

Ключевые слова: лимфатический регион печени, беременность, экотоксиканты.

Одной из наиболее сложных и актуальных проблем современной медицины и экологии является воздействие на организм экотоксикантов, особенно хронической экзогенной интоксикации. Возникновение и развитие такой интоксикации, являясь интегративным процессом, вызывает стереотипные реакции организма — нарушение гемодинамики, процессов проницаемости, изменение функции дыхательных ферментов, метаболический и циркуляторный ацидоз и т.д. В этих условиях наиболее часто поражается основная гомеостатирующая система организма — печень, ее регионарный лимфатический аппарат, часто с развитием токсического гепатита. Поскольку именно в гепатоцитах осуществляется метаболизм, в том числе и стероидных гормонов, то при наличии патологического процесса в печени возможно нарушение гормонального баланса и, соответственно, процессов оплодотворения, наступления и течения беременности. В данной ситуации актуально исследование не только ткани печени, но и ее лимфатического региона, выполняющего функции дополнительного поддержания лимфатического дренажа и детоксикации как на уровне прелимфатических пространств, лимфатических сосудов, так и в регионарных (печеночных) лимфатических узлах согласно концепции Ю.И. Бородина. [1]. Исследование состояния печени и ее лимфатического региона при действии экотоксикантов проводились многими авторами [2, 3]. В этих

работах убедительно показано, что лимфатический регион печени представляет собой единую функциональную гомеостатическую единицу, в которой печень осуществляет детоксикацию на организменном уровне, а печеночные лимфатические узлы обеспечивают лимфодетоксикацию самого органа. Внутриутробному состоянию плодов и плаценты при действии различных агрессивных факторов среды посвящены серии работ Н.И.Цирельникова [4], в которых показано, что плод в подобных ситуациях страдает от ухудшения фетоплацентарного кровообращения и эндогенной интоксикации.

В настоящей работе выявлены морфофункциональные изменения в соименных составляющих лимфатического региона печени у матерей, перенесших токсический гепатит, и у 14-ти дневного потомства.

Цель исследования

Выявить особенности структурно-клеточных преобразований в лимфатическом регионе печени матери и потомства экспериментальных животных при физиологической и осложненной хронической интоксикацией тетрахлорметаном (CCl₄) беременности.

Материалы и методы

Эксперимент проведен на 95 крысах-самках линии Вистар в возрасте 4-5 месяцев, у 75 из которых моделировали токсический гепатит. У животных, участвующих в эксперименте, создавалась модель хронического токсического поражения печени [5]. В течение 28 суток

Асташов В.В. — зав. отделом профилактической и экологической лимфологии, доктор медицинских наук, профессор, e-mail: astashov@online.nsk.su

Старкова Е.В. — зав. лабораторией механизмов регуляции лимфатической системы в онтогенезе, канд.м.н., ведущий научный сотрудник, e-mail: starlena2000@mail.ru

Копылова Л.Е. — н.с. лаборатории механизмов регуляции лимфатической системы в онтогенезе, e-mail: aleksey-allagulov@yandex.ru

энтерально вводился 25%-масляный раствор четыреххлористого углерода дважды в неделю за 30 мин до кормления и ежедневно *ad libitum* в виде питья (вместо воды) — 5%-этанол. Спустя 30 дней животных подсаживали к самцам. Наступление беременности оценивали по наличию сперматозоидов в вагинальных мазках. Объект исследования — тканевой микрорайон печени, печеночный лимфатический узел. Исследуемый материал забирали у экспериментальных животных на 21-е сутки беременности и у их 14-суточного потомства. Группами сравнения выбраны интактные беременные самки (группа «беременные») и самки вне беременности с моделью гепатита (группа «гепатит»).

Все эксперименты проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755). Для изучения особенностей структурно-функциональных характеристик лимфатических узлов были использованы следующие методы: морфометрия гистологических срезов лимфатических узлов, изучение клеточного состава в отдельных структурно-функциональных зонах лимфатических узлов.

В настоящее время для оценки степени тяжести морфологических изменений ткани печени широко применяются различные способы медицинской морфометрии. Однако традиционные морфометрические исследования (определение удельной площади цитоплазмы и ядер гепатоцитов, синусоидов и синусоидальных клеток) не дают полную картину патологических изменений в печени и степени их тяжести. Поэтому в проведенном исследовании использован способ определения удельной площади патоморфологических изменений тканей органов [6]. В качестве морфологических факторов были выбраны стереотипные морфологические изменения, возникающие при токсическом поражении печени: некроз и дистрофия гепатоцитов, лейкоцитарная инфильтрация ткани печени, расширение синусоидов и центральных вен, наличие стаза крови в синусоидах и в центральных венах. Кроме того, учитывались основные нормальные гистоструктуры ткани печени: неизменные гепатоциты, синусоидные клетки, синусоиды. У потомства подсчитывались очаги кроветворения в ткани печени.

Материал забирали и обрабатывали по общепринятой гистологической методике. Для морфометрии зон лимфатических узлов готовили срезы толщиной 7 мкм, для анализа клеточного состава — толщиной 5 мкм. Для

морфометрического исследования применяли окраску гематоксилином Майера и эозином, для цитологического исследования — окраску азуром II и эозином. Все полученные данные обрабатывались методом вариационной статистики Стьюдента-Фишера с определением средней арифметической (\bar{x}), ее ошибки ($S_{\bar{x}}$) и доверительного интервала с надежностью 95 %.

Результаты

Из всех самок с моделью токсического гепатита забеременело всего 69% животных. Оценить влияние любого фактора на течение беременности и эмбриотоксичность можно по показателям эмбриональной смертности. В группе беременных здоровых животных предимплантационная смертность составила 10,42%, постимплантационная — 6,98% и, соответственно, общая эмбриональная — 16,67%. У беременных животных с моделью гепатита предимплантационная смертность достоверно выше и составляет 29,17%, постимплантационная не отличается от смертности здоровых животных и составляет 11,76%, общая эмбриональная — очень высокая, 37,5%.

Морфометрическое исследование тканевого микрорайона печени у беременных крыс на фоне перенесенного токсического гепатита выявило, что удельная площадь цитоплазмы гепатоцитов уменьшается по сравнению с группой «гепатит» и группой «беременные» на 16%, а площадь ядер, наоборот, возрастает. Соответственно, ядерно-цитоплазматическое соотношение увеличивается. В этой группе повышается относительная площадь синусоидов печени (в 2,1 раза по сравнению с группой «гепатит»), также как и отношение площади синусоидов к площади паренхиматозных клеток. В группе беременных самок с моделью гепатита уменьшается численная плотность гепатоцитов. При патоморфологическом исследовании в описываемой группе выявлено (табл. 1) увеличение удельной площади нормальных гепатоцитов на 22,5% по сравнению с группой «гепатит», однако по сравнению с интактными беременными крысами площадь уменьшена на 28% (в 1,3 раза). У беременных животных с моделью гепатита определяются гепатоциты в состоянии дистрофии (12,8%) среди неизменных клеток и очаги некрозов в печени (3,9%). 12,7% удельной площади занимают очаги лейкоцитарной инфильтрации, чаще, чем в других группах, встречаются расширенные синусоиды (7,2%) и значительно уменьшена площадь, занимаемая синусоидными клетками. Лимфатические щели в области портальных трактов

Таблица 1

Удельная площадь морфологических изменений ткани печени ($x \pm Sx$) (%)

Показатели	Экспериментальные группы		
	Беременные животные без гепатита	Небеременные животные с гепатитом	Беременные животные с гепатитом
Нормальные гепатоциты	76,3 \pm 1,99	43,4 \pm 1,9*	56,0 \pm 1,44*, #
Гепатоциты в состоянии дистрофии	2,9 \pm 0,09	33,1 \pm 1,75*	12,8 \pm 1,19*, #
Зоны некроза	0	7,3 \pm 0,7*	3,9 \pm 0,01*, #
Синусоидные клетки	3,5 \pm 0,05	3,9 \pm 0,15	1,9 \pm 0,06*, #
Неизмененные синусоиды	8,5 \pm 0,19	6,7 \pm 0,09	3,3 \pm 0,03*, #
Расширенные синусоиды	2,6 \pm 0,08	2,1 \pm 0,16	7,2 \pm 0,15*, #
Расширенные центральные вены	0,3 \pm 0,03	0*	0*
Наличие стаза крови в центральных венах	0,3 \pm 0,03	0*	1,3 \pm 0,18#
Наличие стаза крови в синусоидах	0,1 \pm 0,01	0*	0,9 \pm 0,05#
Зоны лейкоцитарной инфильтрации печени	2,6 \pm 0,05	3,5 \pm 0,2*	12,7 \pm 0,2*, #

Примечание: * — отличия достоверны в сравнении с беременными животными без гепатита при $P < 0,05$; # — отличия достоверны в сравнении с небеременными животными с гепатитом при $P < 0,05$.

расширены, в единичных случаях в этой группе животных в тканевом микрорайоне печени выявлены плотные скопления лимфоидных клеток по типу формирования лимфоидных узелков (рис. 1).

При морфометрии регионарного печеночного лимфатического узла выявлено, что узел сохраняет свою функциональную специализацию (по классификации Ю.И.Бородина) и относится к узлам компактного типа — корково-мозговой (К/М) индекс узла составляет $2,05 \pm 0,05$. Достоверных отличий по зонам в сравнении с показателями у интактных беременных не обнаружено. По сравнению с данными в группе «гепатит» выявлено, что в описываемой группе площадь вторичных лимфоидных узелков уменьшается в 2 раза, в 2,3 раза уве-

личивается площадь межузелковой зоны. В то время как при изучении цитоархитектоники структурно-функциональных зон узла беременных животных с моделью гепатита выявлены значительные отличия от групп сравнения. В герминативном центре уменьшается количество иммунобластов в 2,4 и в 1,8 раза по сравнению с группой «беременные» и «гепатит» соответственно. Значительно увеличивается количество малых лимфоцитов, клеток с фигурами митозов (в 5 раз по сравнению с группой «беременные» и в 1,5 раза по сравнению с группой «гепатит»). Клеточный состав мозговых синусов печеночного узла исследуемой экспериментальной группы представлен, в основном, зрелыми плазматическими клетками, незрелыми плазмочитами и малыми лимфоцитами, достоверных отличий от группы «беременные» и группы «гепатит» не выявлено.

При исследовании тканевого микрорайона печени у 14-суточного потомства от крыс с моделью токсического гепатита выявлено, что печень имеет характерное дольчатое строение и некоторые структурные особенности. У данной экспериментальной группы обнаружено пропорциональное увеличение относительной площади цитоплазмы и ядер гепатоцитов, при этом ядерно-цитоплазматическое отношение достоверно не меняется. Незначительно возрастает численная плотность гепатоцитов и отношение площади паренхиматозных клеток к численной плотности гепатоцитов на фоне уменьшения в 1,5 раза (по сравнению со здоровым

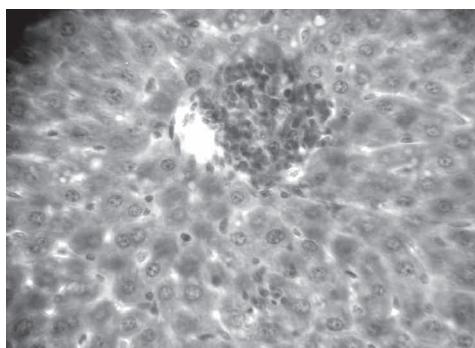


Рис. 1. Тканевой микрорайон печени самок крыс при беременности, осложненной экотоксикантом. Формирование «лимфоидных узелков» в ткани печени. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив 40, окуляр 10.

Таблица 2

Удельная площадь морфологических изменений ткани печени потомства ($x \pm Sx$) (%)

Показатели	Экспериментальные группы	
	Потомство от intactных самок	Потомство от самок с гепатитом
Нормальные гепатоциты	$83,2 \pm 1,3$	$72,0 \pm 1,32^*$
Гепатоциты в состоянии дистрофии	$1,0 \pm 0,05$	$14,3 \pm 0,9^*$
Зоны некроза	0	$3,7 \pm 0,26^*$
Зоны лейкоцитарной инфильтрации	0	$2,3 \pm 0,13^*$
Синусоидные клетки	$2,9 \pm 0,14$	$2,1 \pm 0,02$
Неизмененные синусоиды	$10,8 \pm 1,3$	$1,4 \pm 0,26^*$
Расширенные синусоиды	0	$2,4 \pm 0,06$
Расширенные центральные вены	0	$0,2 \pm 0,02^*$
Очаги кроветворения	$1,8 \pm 0,04$	$2,6 \pm 0,08^*$

Примечание: * — отличия достоверны в сравнении с контрольным потомством от intactных беременных животных при $P < 0,05$.

потомством) количества двудерных клеток. В исследуемой группе уменьшается относительная площадь и численная плотность синусоидных клеток печени в 1,6 раз по сравнению со здоровым потомством. Характерной особенностью является изменение микроциркуляторного русла печени: практически в 2 раза уменьшается относительная площадь синусоидов и отношение площади синусоидов к площади паренхиматозных клеток.

При морфологическом исследовании выявлено (табл. 2), что относительная площадь неизмененных гепатоцитов уменьшается, диффузно появляются клетки с вакуолизированной цитоплазмой (на долю этого показателя приходится 14,3%). По периферии долек появляются очаги некроза гепатоцитов — 3,7% относительной площади. В микроциркуляторном русле появляются расширенные синусоиды (рис. 2), встречается расширение центральных вен.

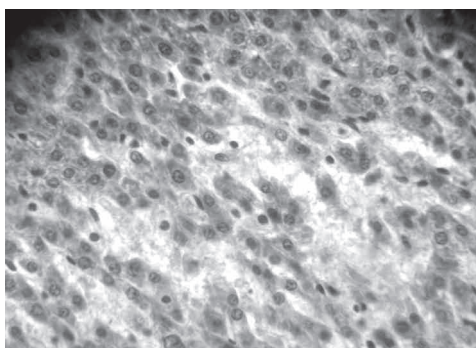


Рис. 2. Расширенные синусоиды, лейкоцитарная инфильтрация печени потомства от крыс при беременности, осложненной экотоксикантом. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив 40, окуляр 10.

Относительная площадь очагов кроветворения в печени потомства экспериментальной группы достоверно возрастает на 30% по сравнению с контрольным потомством. Отмечена диффузная лейкоцитарная инфильтрация паренхимы.

Печеночный лимфатический узел у 14-суточного потомства от крыс с перенесенным токсическим гепатитом меняет свою функциональную специализацию и становится узлом компактного типа (К/М индекс — 4,65). У контрольного здорового потомства печеночный узел является промежуточным. В исследуемой группе животных в узле значительно возрастает площадь коркового вещества (в 1,5 раза по сравнению с контрольным потомством), преимущественно за счет увеличения относительной площади паракортикальной зоны (в 1,9 раза). В корковом веществе появляются вторичные лимфоидные узелки (рис. 3) (у здорового потомства вторичные лимфоид-

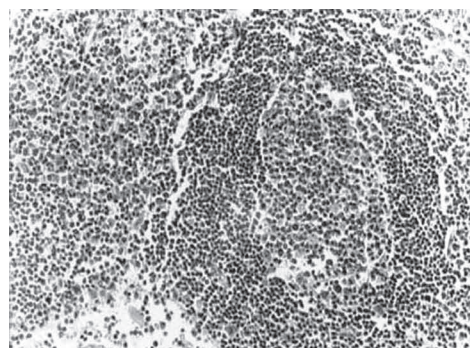


Рис. 3. Формирование вторичных лимфоидных узелков в печеночном лимфатическом узле у потомства. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив 40, окуляр 10.

ные узелки не определялись) на фоне значительного уменьшения относительной площади первичных лимфоидных узелков и межузелковой зоны. Площадь мозгового вещества уменьшается в 3,1 раза по сравнению с аналогичным показателем контрольного потомства за счет уменьшения площади как мозговых тяжей, так и мозговых синусов. У данной экспериментальной группы возрастает относительная площадь капсулы. В цитоархитектонике герминативных центров преобладают иммунобласты и средние лимфоциты (14,6% и 16,9% соответственно), встречаются в небольшом количестве макрофаги и ретикулярные клетки, появляются клетки с фигурами митозов. В мозговых тяжах в 2 раза увеличивается количество незрелых плазматических клеток и уменьшается количество зрелых форм клеток. В мозговых синусах печеночного узла увеличиваются относительное число малых и средних лимфоцитов, появляются иммунобласты; количество ретикулярных клеток уменьшается почти в 2 раза по сравнению с контролем.

Заключение

При исследовании гистологических препаратов печени самок крыс с осложненной токсическим гепатитом беременностью выявлено значительное изменение морфологической картины по сравнению с небеременными животными с моделируемым гепатитом: увеличивается относительная площадь нормальных гепатоцитов, дистрофия и некроз гепатоцитов встречаются в 2 раза реже, возрастает ядерно-цитоплазматическое соотношение и относительная площадь синусоидов. Однако сохраняется диффузная лейкоцитарная инфильтрация паренхимы печени и расширенные синусоиды. По всей видимости, беременность оказывает гепатопротективное действие на фоне перенесенного токсического гепатита. Возможно, для улучшения морфологической картины имеет значение и время, прошедшее после воздействия тетрахлорметаном и 5%-алкоголем. Регионарный печеночный лимфатический узел в этой группе животных сохраняет свою функциональную специализацию. При сравнении относительных размеров структурно-функциональных зон узла у беременных с моделируемым гепатитом и интактных беременных значимых различий не выявлено. При сравнении с группой «гепатит» у животных на фоне беременности уменьшается площадь Т-зависимой зоны, площадь В-зависимой зоны достоверно не меняется; увеличиваются площади мозговых, краевых и промежуточных синусов,

что свидетельствует как об относительной физиологической иммуносупрессии, всегда развивающейся на фоне беременности, так и об активации дренажных функций регионарного лимфатического аппарата.

При исследовании печени 14-суточного потомства от животных с токсическим гепатитом выявлены характерные изменения паренхимы органа: уменьшается относительная площадь нормальных гепатоцитов, появляются клетки с вакуолярной дистрофией и очаги некрозов, уменьшается количество двуядерных гепатоцитов и синусоидных клеток, отмечается тенденция к увеличению ядерно-цитоплазматического соотношения. Реагирует микроциркуляторное русло: значительно уменьшаются относительные площади нормальных синусоидов, появляются расширенные синусоиды. Таким образом, несмотря на отсутствие непосредственного токсического воздействия, многие морфологические изменения печени потомства аналогичны структурным изменениям в печени материнского организма. При исследовании лимфатического узла выявлено изменение его функциональной специализации. В корковом веществе появляются вторичные лимфоидные узелки, которые не определяются у здорового потомства. Цитоархитектоника зон печеночного узла отличается увеличением доли средних лимфоцитов, возникновением иммунобластов и клеток с фигурами митозов, в мозговых синусах появляются иммунобласты и средние лимфоциты, уменьшается относительное число ретикулярных клеток.

Таким образом, хроническая интоксикация тетрахлорметаном вне беременности приводит к выраженным деструктивным и цитолитическим изменениям ткани печени. Беременность, наступившая на фоне хронического токсического гепатита, оказывает некоторое гепатопротекторное действие - изменения иммунного статуса и гормонального фона при беременности действуют на паренхиму печени «органосохраняюще» несмотря на то, что сохраняются стереотипные патологические изменения в ткани печени при перенесенном воспалительном процессе: сохраняется лейкоцитарная инфильтрация и реакция микроциркуляторного русла. В регионарном печеночном лимфатическом узле у потомства по всем группам более выраженные изменения отмечены в В-зависимой зоне узла (формирование лимфоидных узелков, увеличение относительных площади мякотных тяжей), в то время как у матерей — преимущественно в Т-зависимой зоне. Выявленная

взаимосвязь и однотипная реакция соименных органов матери и плода реализуется, по всей видимости, через механизм передачи «родительского эффекта», т.е. внегенетических изменений у потомства, обусловленных условиями жизни матери.

Литература

1. Бородин Ю.И., Мичурина С.В. Лимфатический регион печени как маркер экологического прессинга на организм // Морфология. 1998. 113 (3): 27.
Borodin Y.I., Michurina S.V. Lymphatic region of liver as marker of ecological pressure on an organism // Morphology. 1998. 113 (3): 27.
2. Ищенко И.Ю., Мичурина С.В. Морфофункциональные изменения в тканевом микрорайоне печени и регионарных лимфатических узлах у крыс Вистар с моделью хронического токсического гепатита, созданного комбинированным действием четыреххлористого углерода и этанола. // Бюлл. СО РАМН. 2005. (1): 62-65.
Ischenko I.Yu., Michurina S.V. Morphofunctional changes in liver tissue microregion and in the regional lymph nodes in Wistar rats with chronic toxic hepatitis model created by combination of carbon tetrachlorid and ethanol action // Bul. SB RAMS. 2005. (1): 62-65.
3. Колпаков М.А. Восстановительные процессы в печени при лимфотропной терапии хронических гепатитов (экспериментально-клиническое исследование) // Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Новосибирск, 2001.
Kolpakov M.A. Regenerative processes in a liver at lymphotrope therapies of a chronic hepatitis (experimental-clinical research)//The auth. abstract of the direct of the PhD. Novosibirsk. 2001.
4. Цирельников Н.И. Плацентарно-плодные взаимоотношения как основа развития и дифференцировки дефинитивных органов и тканей // Архив патологии. 2005. (1): 54.
Tsirelnicov N.I. Platsentarno-fetal relation as a basis of development and a differentiation of definitive bodies and fabrics // Arch. Pathol. 2005. (1): 54.
5. Скакун Н.П., Мосейчук И.П., Гиль Я.Я. Эффективность витогепа и сирепара в сочетании с карсилом при хроническом поражении печени // Клиническая и экспериментальная фармакология. 1992. Т. 55. (1): 61-63.
Skakun N.P., Moseychuk I.P., Gil Y.Y. Effective using the combination of vitohepat and seripar with karsil under the treatment of the chronic diseases of the liver//Clinical and experimental pharmacology.1992. T. 55. (1): 61-63.
6. А.С. №2131124 РФ, МКИ 6 G 01 №33.48 Способ оценки морфологических изменений в печени при острой ишемии / В.А. Журавлев, В.П. Сухоруков, А.В. Муратов, Т.И. Субботин.
The copyright certificate № 2131124 RF, MKI 6 G 01 № 33.48. Way of an estimation of morphological changes in a liver at a sharp ischemia / V.A.Zhuravlev, V.P.Suhorukov, A.V.Muratov, T.I.Subbotin.

LYMPHATIC REGION OF A LIVER AT MOTHER AND AT THE CHILDREN DURING RATS PREGNANCY, COMPLICATED BY ECOTOXICANTIES

Lilia Evgenevna KOPYLOVA, Elena Vladimirovna STARKOVA, Vadim Vasilevich ASTASHOV

State Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology SB RAMS
4, Ac. Timakov str., Novosibirsk, 630117

The researches of lymphatic region of a liver has revealed. The chronic intoxication tetrachlormetanum causes the significant dystrophic and inflammatory changes in a liver tissue and hepatic lymph nodes. At pregnancy this changes are expressed less, longer safety of potential opportunities functions of lymph nodes. At posterity changes obtained in a hepatic tissue and in hepatic lymph nodes. At posterity significant changes obtained in a B-depended zone of lymph hepatic nodes, at mothers in the thymus-depended zone. Similar changes are realized through the mechanism extragenetical transfers of «parental effect».

Key words: lymphatic region of a liver, pregnancy, ecotoxicianties.

Astashov V. V. — Head of division preventive and ecological lymphology of Institute of Clinical and Experimental Lymphology, doctor of medical sciences, professor, e-mail: astashov@online.nsk.su

Starkova E.V. — managing laboratory of mechanisms of regulation of lymphatic system in ontogenesis of Institute of Clinical and Experimental Lymphology, the candidate of medical sciences, e-mail: starlena2000@mail.ru

Kopylova L.E. — scientific employee of laboratory of mechanisms of regulation of lymphatic system in ontogenesis of Institute of Clinical and Experimental Lymphology, e-mail: aleksey-allagulov@yandex.ru