

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ЛУГАНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ
«ЛУГАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ СВЯТИТЕЛЯ ЛУКИ»

ISSN 2313-1780

ISSN 2409-4617 (Online)

ПРОБЛЕМЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ И МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ И КЛИНИЧЕСКОЙ ИММУНОЛОГИИ

Сборник научных трудов

Выпуск 5 (161)

Луганск
2020

Главный редактор
д.мед.н., проф. Я.А. Соцкая

Сборник рекомендован к печати Ученым советом ГУ ЛНР «ЛГМУ ИМ. СВЯТИТЕЛЯ ЛУКИ» ЛНР (протокол № 8 от 05.11.2020).

Каждая работа, представленная в сборнике, обязательно рецензируется независимыми экспертами - докторами или кандидатами наук, специалистами в соответствующей области медицины (биологии, иммунологии, генетики, экологии, биохимии, фармации, иммунофармакологии и др.).

ISSN 2313-1780

ISSN 2409-4617 (Online)

Свидетельство о регистрации № ПИ 000127 от 20.03.2018 г.

Сборник внесен 27.11.2018 г. в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Луганской Народной Республики (протокол №9 от 26.11.2018 г.)

© ГУ ЛНР «ЛГМУ ИМ. СВЯТИТЕЛЯ ЛУКИ», 2020

PROBLEMS OF ECOLOGICAL AND MEDICAL GENETICS AND CLINICAL IMMUNOLOGY

Volume 161, № 5

Editor in Chief
prof. Ya.A. Sotskaya, M.D., Sci.D.

The collection of scientific articles was recommended for print by Academic Council of SAINT LUKA LSMU (proceeding № 8 from 05.11.2020).

Each article introduced in this collection is necessarily reviewed by independent experts - Doctors of Sciences, specialists in the applicable area of medicine (biology, immunology, genetics, ecology, biochemistry, immunofarmacology and other).

ISSN 2313-1780

ISSN 2409-4617 (Online)

© SAINT LUKA LSMU, 2020

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Введение</i>	6
-----------------------	---

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОВРЕМЕННОЙ БИОЛОГИИ, АНАТОМИИ И МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ

<i>Кардаш А.М., Кардаш В.П., Коровка С.Я, Кишеня М.С., Чернобриццев П.А. Влияние полиморфизма rs2010963 гена васкуло-эндотелиального фактора роста на развитие хронических субдуральных гематом</i>	9
<i>Левенец С.В., Луговсков Д.А., Нестеренко А.Н., Грищук М.Г. Особенности структурных изменений в тимусе при воздействии на организм табачного дыма</i>	16
<i>Нижельский В.Е., Лузин В.И. Прочность костей скелета белых крыс при воздействии паров формальдегида в разные возрастные периоды</i>	24
<i>Серкина А.Н., Лузин В.И. Влияние внутривенного введения мезенхимальных стволовых клеток на органомерические показатели почек белых крыс в ранние сроки после нанесения дефекта большеберцовых костей</i>	30
<i>Соловьева И.В., Лузин В.И., Оберемок С.Е. Строение надпочечников после введения мезенхимальных стволовых клеток различными способами на разных стадиях формирования регенерата большеберцовых костей</i>	37

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТИМУСЕ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ ТАБАЧНОГО ДЫМА

С.В. Левенец¹, Д.А. Луговсков², А.Н. Нестеренко², М.Г. Грищук²

¹ГОУ ВО ЛНР «Луганский государственный педагогический университет»

²ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки»

Введение

Здоровье и работоспособность человека в значительной степени зависят от условий микроклимата и качественной характеристики воздушной среды закрытых помещений жилых и общественных зданий. Одним из факторов ухудшения качества воздуха внутри жилых и общественных помещений является табачный дым. В настоящее время известно около 2500 химических веществ, входящих в состав табачного листа, и более 4700 веществ, входящих в состав табачного дыма. Вредные вещества образуются путем возгонки летучих и полуметучих веществ из табачных листов и расщепления их составных частей под воздействием высокой температуры. Помимо того, имеются нелетучие вещества, которые превращаются в дым без распада. Основной поток дыма образуется в горящем конусе и в горячей зоне сигареты во время затяжки. Побочный - в моменты между затяжками. Около 30% от общего количества веществ, высвобождается из сигареты с основным потоком дыма, остальные - из окружающего воздуха, протягиваемого через сигарету при курении. Более 92% от общей массы выделяемого дыма состоит из 400-500 отдельных газообразных компонентов, основными из которых являются азот (58%), кислород (12%), двуокись углерода (13%) и окись углерода (3,5%); остальная часть - цианистый водород, метан и другие углеводороды, летучие альдегиды и кетоны, никотин, ацетон, аммиак, формальдегид, гидразин, бензол и другие. Вещества, содержащиеся в газообразной составляющей дыма, оказывают раздражающее действие на дыхательные пути, приводящее к хроническим неспецифическим воспалительным заболеваниям верхних дыхательных путей и лёгких. Кроме того, целый

ряд компонентов газообразной составляющей табачного дыма оказывает общетоксическим действием.

В настоящее время накоплены убедительные данные, свидетельствующие о том, что иммунная система во многом определяет устойчивость организма к воздействию химических факторов и быстро реагирует на воздействие повреждающих агентов [1, 2, 3].

Токсические эффекты никотина изучены достаточно хорошо. При этом следует отметить, что в литературе вопросы морфологических сдвигов в тимусе практически отсутствуют, зачастую обсуждаются фрагментарно [6, 7] и в основном касаются функциональных иммунологических сдвигов.

Исследования по изучению биологических эффектов воздействия табачного дыма, реализующихся через морфологическое состояние структурно-клеточных элементов тимуса, не проводились, поэтому **целью** нашего исследования явилось изучение строения тимуса крыс половозрелого возраста, находившихся в условиях воздействия табачного дыма, на светооптическом уровне.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на 48 половозрелых белых крысах-самцах с начальной массой тела 130-150 г. Контрольную серию (К) составили интактные животные. В экспериментальную серию (Т) включены животные, у которых изучались гистоморфометрические параметры тимуса при воздействии на организм крыс табачного дыма. Животных получали из вивария ГУ ЛНР «ЛУГАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ СВЯТИТЕЛЯ ЛУКИ». Исследование планировалось в соответствии с требованиями «Правил лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ МЗ РФ № 708-н от 23.08.2010 г.) и Директивы Европейского союза по защите животных, используемых в научных целях. При содержании животных и выведении их из эксперимента руководствовались законом «О защите животных от жестокого обращения» (01.12.1999). Протокол исследования утвержден на заседании комиссии по биоэтике ГУ ЛНР «ЛГМУ ИМ. СВЯТИТЕЛЯ ЛУКИ», протокол № 3 от 26 апреля 2018 г. Экспериментальное моделирование пассивного курения выполнено в затравочной камере объемом 0,2 м³, в которую помещалась группа, состоящая из 6 крыс. Дым от 3-х сигарет «Прима» через отверстие в стенке камеры нагнетался резиновым баллоном в течение 4 минут. Сеансы воз-

действия проводились 2 раза в сутки ежедневно. В зависимости от продолжительности опыта животные были разделены на группы: 1, 2, 3, 4 (крысы находились в эксперименте соответственно 7, 15, 30 и 60 дней).

Забор тимуса проводили по общепринятой методике. Для светооптического исследования тимус фиксировали в 10% забуференном растворе формалина, обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации и заливали в смесь парафина с добавлением пчелиного воска (5–6%). Срезы изготавливали на санном микротоме. Окрашенные гематоксилином и эозином препараты заключали в канадский бальзам. Препараты тимуса изучали под микроскопом, используя цитоморфологический комплекс, в состав которого входит микроскоп OLYMPUS BX-41 и цифровая видеокамера. Определяли относительную площадь коркового и мозгового вещества, капсулы и междольковых перегородок. Изучали клеточный состав тимуса. Подсчитывали абсолютное количество разных видов клеток на площади 4900 мкм². Дифференцировали иммунобласты, средние и малые лимфоциты, клетки с фигурами митозов, клетки с пикнотическими ядрами, эпителиальные клетки и макрофаги. Подсчет клеток проводили в субкапсулярной и внутренней зонах коркового вещества и в мозговом веществе. Для всех морфологических данных вычисляли абсолютные и относительные показатели.

Количественные данные обрабатывались с применением методов вариационной статистики в программе «Statistica 10.0». Достоверной считали статистическую ошибку при $p < 0,05$.

Полученные результаты и их обсуждение

Исследование тимуса крыс экспериментальной серии показало наличие проявлений акцидентальной инволюции органа. На малом увеличении подобно контролю четко различаются между собой кора и мозговое вещество тимуса. Более интенсивная окраска коркового вещества вызвана большей плотностью расположения в этой области тимоцитов и большим процентом малых лимфоцитов. Граница между корковым и мозговым веществами у крыс, подвергавшихся воздействию табачного дыма, была достаточно выраженной. На некоторых срезах тимуса обнаруживались проявления инверсии коркового вещества. Капсула, покрывающая орган, выглядит утолщенной по отношению к контролю и имеет признаки разволокнения коллагеновых структур. В трабекулах, которые отходят от внутреннего слоя капсулы в толщу органа наблюдались

кровеносные сосуды. Стенка артерий имеет большую толщину, чем у контрольных животных, за счет пролиферации эндотелиоцитов. Вокруг сосудов наблюдали пространства, содержащие тимоциты. Кое-где встречались кровоизлияния в паренхиму тимуса. Дольки органа в разной степени были замещены жировой тканью. По отношению к показателям контроля мы наблюдалось увеличенное количество макрофагов в корковом веществе. Эти клетки имеют относительно большую площадь цитоплазмы, в которой находятся обломки ядер тимоцитов. Популяция эпителиоретикулоцитов претерпевала значительные изменения и в течение эксперимента. Появлялись активированные клетки с очень светлым ядром и большой площадью цитоплазмы. В мозговом веществе их часть формировала тельца Гассалья, состоящие из 5-7 клеток. Эпителиальные каналы у крыс, которые подвергались воздействию табачного дыма, наблюдались чаще, чем в контроле.

Доля коры тимуса крыс, подвергавшихся воздействию табачного дыма, уменьшалась по отношению к контрольным показателям. В 1, 2 и 3 группах животных экспериментальной серии указанный показатель составлял 62,81%, 65,72% и 63,05% соответственно, что на 11,51% ($p < 0,05$), 4,60% ($p > 0,05$) и 10,63% ($p < 0,05$) меньше показателей соответствующих групп контроля. Соответственно, площадь мозгового вещества росла, что нашло свое отражение в уменьшении показателя корково-мозгового индекса у крыс, находившихся в условиях ингаляционного воздействия табачного дыма. Статистически достоверную разницу указанного индекса с показателями контрольной серии мы наблюдали через 30 и 60 воздействия изучаемого фактора.

У животных, подвергавшихся воздействию табачного дыма, наблюдалось уменьшение количества клеток лимфоидного ряда, как в корковом, так и в мозговом веществе тимуса. Общее количество клеток лимфоидной популяции в субкапсулярной зоне коры крыс, подвергавшихся воздействию изучаемого фактора, отличалась от контрольных значений в сторону уменьшения на 9,43% ($p < 0,05$), 7,94% ($p < 0,05$) и 9,08% ($p < 0,05$) – во 2, 3 и 4 группах животных. Более выраженное влияние табачного дыма наблюдались при изучении количества тимоцитов во внутренней зоне коркового вещества, в котором данный показатель также был меньше контроля. В 1 и 2 группах расхождение с данными контрольной серии составило 5,13% ($p > 0,05$) и 7,33% ($p > 0,05$), а в 3 и 4 группах – 14,08% ($p < 0,05$) и 12,83% ($p < 0,05$).

Общее количество клеток лимфоидной популяции в мозговом веществе тимуса крыс 4 группы экспериментальной серии выглядела следующим образом. Большие лимфоциты - 18,20%, большие лимфоциты с проявлениями деструкции - 1,81%, средние лимфоциты - 25,72%, средние лимфоциты с проявлениями деструкции - 3,88%, малые лимфоциты - 36,57%, малые лимфоциты с проявлениями деструкции - 10,37%, лимфоциты в стадии апоптоза - 3,45%.

Экстремальные факторы внешней среды, воздействующие на организм, запускают компенсаторно-адаптационные механизмы, которые изменяют обмен веществ и функциональное состояние органов и тканей. Однократное или кратковременное воздействие этих факторов, как правило, не приводит к стабильной перестройке механизмов регуляции гомеостаза, тогда как длительный и многократный стресс может стать основой развития патологии [11]. Известно, что к одному из главных эндокринных звеньев в ответ на внешние воздействия и формирование адаптации организма относят активацию симпатoadреналовой и гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы [4, 13]. Однако и другие звенья эндокринной регуляции играют весьма существенную роль в обеспечении адаптационного ответа организма на стрессорные воздействия [5, 8].

Известно, что эффекты никотина на тимус опосредуются активацией $\alpha 7$ nAChRs, экспрессируемых во многих тканях и клетках, включая клетки иммунной системы, такие как макрофаги и дендритные клетки, дыхательные пути, эпителиальные и эндотелиальные клетки [12, 14]. Никотин подавляет передачу сигналов от NF- κ B, провоспалительного фактора транскрипции [15, 16], или индуцирует экспрессию тристетрапролина через Janusкиназу 2-преобразователь сигнала и активатор транскрипции 3 (JAK2 – STAT3), тем самым увеличивая распад мессенджера РНК (мРНК) [10]. Кроме того, фосфоинозитид-3-киназа и пути АМР-активируемой протеинкиназы могут способствовать передаче сигналов, которые вмешиваются в активацию nAChRs и NF- κ B и тем самым мешают продукции различных цитокинов [9].

Выводы

1. Влияние табачного дыма на организм белых крыс приводит к изменениям как зонального, так и клеточного состава вилочковой железы. Эффекты влияния табачного дыма проявляются в уменьшении площади, занимаемой корковым веществом тимуса.

2. Действие табачного дыма приводит к снижению количества клеток лимфоидного ряда в тимусе. В большей степени эти изменения обнаруживаются в субкапсулярной зоне коркового вещества органа.

3. Выраженность гистоморфометрических изменений тимуса зависит от продолжительности действия табачного дыма.

Литература

1. Бобрышева И.В. Морфометрическое исследование тимуса крыс после экспериментальной иммуносупрессии / И.В. Бобрышева, С.А. Кащенко // Украинский морфологический альманах имени профессора В.Г. Ковешникова. – 2017. – Т.15, №3. – С. 13-18.

2. Волошин В.Н. Морфологические изменения тимуса белых крыс после ингаляционного влияния эпихлоргидрина и возможность их коррекции / В.Н. Волошин // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – №2. – С. 131-135.

3. Волошин Н.А. Тимус новорожденных / Н.А. Волошин, Е.А. Григорьева. – Запорожье: Изд-во ЗДМУ, 2011. – 154 с.

4. Гаркави Л.Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, М.А. Уколова. Ростов-на-дону: Издательство Ростовского ун-та, 1990. – 223 с.

5. Горобец Л.Н. Нейроэндокринные дисфункции и нейролептическая терапия / Л.Н. Горобец, М.: Медпрактика-М, 2007. – 312 с.

6. Пишак В.П. Никотинзависимый оксидативный стресс и роль мелатонина / В.П. Пишак, М.И. Кривчанская, О.А. Громик // Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2013. – Т.8, №4. – С. 17-19.

7. Ровда Ю.И., Ведерникова А.В., Силантьева И.В., Миняйлова Н.Н. Аспекты вилочковой железы (тимуса) детского возраста (Часть I) // Мать и дитя в Кузбассе. – 2020. – №4. – С. 59-69.

8. Cameron J.L. Stress and Reproduction. Encyclopedia of Hormones / H.L. Henry, A.W. Norman (eds.). USA: Academic Press. 2003. – P. 433-435.

9. Cheng P.Y. The involvement of AMP- activated protein kinases in the anti-inflammatory effect of nicotine in vivo and in vitro / P.Y. Cheng, Y.M. Lee, K.K. Law, [et al.] // Biochem. Pharmacol. – 2007. – Vol. 74. – P. 1758-1765.

10. Jonge W.J. Stimulation of the vagus nerve attenuates macrophage activation by activating the Jak2-STAT3 signaling pathway / W.J. de Jonge, E.P. van der Zanden, F.O. The, [et al.] // Nat. Immunol. – 2005. – Vol.6. – 2005. – P. 844-851.

11. Larzelere M.M. Stress and death / M.M. Larzelere, G.N. Jones // Primary Care: Clinics in Office Practice. – 2018. – Vol.35(4). – P. 839-856.

12. Li Q. Nicotine reduces TNF-alpha expression through an alpha7 nAChR/MyD88/NF-kB pathway in HBE16 airway epithelial cells / Q. Li, X.D. Zhou, V.P. Kolosov, J.M. Perelman // Cell. Physiol. Biochem. – 2011. – Vol. 27. – P. 605-612.

13. Selye H. *Stress without distress* / H. Selye. Philadelphia, USA: Lippincott, 1974. – 171 p.

14. Sharentuya N. *Nicotine suppresses interleukin-6 production from vascular endothelial cells: a possible therapeutic role of nicotine for preeclampsia* / N. Sharentuya, T. Tomimatsu, K. Mimura, [et al.] // *Reprod. Sci.* – 2010. Vol. 17. – P. 556-563.

15. Wang H. *Cholinergic agonists inhibit HMGB1 release and improve survival in experimental sepsis* / H. Wang, H. Liao, M. Ochani, [et al.] // *Nat. Med.* – 2004. – Vol. 10. – P. 1216-1221.

16. Yoshikawa H. *Nicotine inhibits the production of proinflammatory mediators in human monocytes by suppression of I-kappaB phosphorylation and nuclear factor-kappaB transcriptional activity through nicotinic acetylcholine receptor alpha7* / H. Yoshikawa, M. Kurokawa, N. Ozaki, [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* – 2006. – Vol. 146. – P. 116-123.

Резюме

Левенец С.В., Луговсков Д.А., Нестеренко А.Н., Грищук М.Г. Особенности структурных изменений в тимусе при воздействии на организм табачного дыма.

Работа выполнена на 48 половозрелых белых крысах-самцах с начальной массой тела 130-150 г. Контрольную серию составили интактные животные. В экспериментальную серию включены животные, у которых изучались строение тимуса на светооптическом уровне при воздействии на организм крыс табачного дыма. Экспериментальное моделирование пассивного курения выполнено в затравочной камере объемом 0,2 м³, в которую помещалась группа, состоящая из 6 крыс. Дым от 3-х сигарет «Прима» через отверстие в стенке камеры нагнетался резиновым баллоном в течение 4 минут. Сеансы воздействия проводились 2 раза в сутки ежедневно. В зависимости от продолжительности опыта животные были разделены на группы: 1, 2, 3, 4 (крысы находились в эксперименте соответственно 7, 15, 30 и 60 дней). Определяли относительную площадь коркового и мозгового вещества, капсулы и междольковых перегородок. Изучали клеточный состав тимуса.

Исследование тимуса крыс экспериментальной серии показало наличие проявлений акцидентальной инволюции органа. Граница между корковым и мозговым веществами у крыс, подвергавшихся воздействию табачного дыма, была достаточно выраженной. На некоторых срезах тимуса обнаруживались проявления инверсии коркового вещества. Капсула, покрывающая орган, выглядит утолщенной по отношению к контролю и имеет признаки разволокнения коллагеновых структур. Доля коры тимуса крыс, подвергавшихся воздействию табачного дыма, уменьшалась по отношению к контрольным показателям. Выраженность гистоморфометрических изменений зависит от продолжительности действия табачного дыма.

Ключевые слова: тимус, крыса, табачный дым, световая микроскопия.

Summary

Levenets S.V., Lugovskov D.A., Nesterenko A.N., Gryshchuk M.G. *Features of structural changes in the thymus when exposed to tobacco smoke on the body.*

The work was performed on 48 adult white male rats with an initial body weight of 130-150 g. The control series consisted of intact animals. The experimental series included animals in which the organometric parameters of the thymus were studied when the rats were exposed to tobacco smoke. Experimental modeling of passive smoking was carried out in a seed chamber with a volume of 0.2 m³, in which a group of 6 rats was placed. Smoke from 3 "Prima" cigarettes was pumped through a hole in the chamber wall with a rubber balloon for 4 minutes. Sessions of exposure were carried out 2 times a day every day. Depending on the duration of the experiment, the animals were divided into groups: 1, 2, 3, 4 (the rats were in the experiment for 7, 15, 30 and 60 days, respectively). Determined the relative area of the cortex and medulla, capsule and interlobular septa. Studied the cellular composition of the thymus.

The study of the thymus of rats of the experimental series showed the presence of manifestations of accidental organ involution. The boundary between cortical and medullary substances in rats exposed to tobacco smoke was quite pronounced. On some sections of the thymus, manifestations of inversion of the cortex were found. The capsule covering the organ appears to be thickened in relation to the control and shows signs of collagen deformation. The proportion of the thymic cortex of rats exposed to tobacco smoke decreased in relation to the control parameters. The severity of histomorphometric changes depends on the duration of exposure to tobacco smoke.

Key words: thymus, rat, tobacco smoke, light microscopy.

Рецензент: д.мед.н., профессор В.Н. Волошин

«Проблемы экологической и медицинской генетики и клинической иммунологии»: сборник научных трудов. - Луганск, 2020. - Выпуск 5 (161). - 102 с.

Адрес редакции: ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ЛУГАНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ «ЛУГАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ СВЯТИТЕЛЯ ЛУКИ», кв. 50-летия Обороны Луганска, 1Г, г. Луганск, 91045.

Editorial address: SAINT LUKA LSMU, 50-letiya Oborony Luganska, 1, Lugansk, 91045

Сайт издания: <http://ecoproblemlug.ucoz.ua/>

Главный редактор:

доктор мед. наук, профессор Я.А. Соцкая

Контактный телефон: 072-126-34-03

Ответственный секретарь выпуска:

канд. мед. наук, доцент Ю.В. Сидоренко

Контактный телефон: 072-130-60-93

Электронный адрес для направления статей:

siderman1978@mail.ru

Подписано к печати 10.11.2020 г.

Формат 60x84/16. Бумага офсетная. Book Antiqua.

Печать **RISO**. Условн. печатн. листов 17,8.

Тираж 100 экз. Заказ 154

Цена договорная.