

УДК 599.323.4-114.44.03:599.323.4-114.76  
ББК Е623.362.423\*743.12\*737.13

О.Ю. КОСТРОВА, Г.Ю. СТРУЧКО, Л.М. МЕРКУЛОВА,  
М.Н. МИХАЙЛОВА, Е.В. МОСКВИЧЕВ

### ВЛИЯНИЕ УДАЛЕНИЯ СЕЛЕЗЕНКИ У КРЫС-САМОК НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НАДПОЧЕЧНИКОВ ПОТОМСТВА

**Ключевые слова:** надпочечники, спленэктомия, иммунодефицит.

*Установлено, что удаление селезёнки у крыс-самок приводит к функциональным изменениям в надпочечниках у их потомства. Это выражается снижением площади мозгового вещества надпочечников, незначительным увеличением коркового вещества, повышением количества синаптофизин-положительных и нейронспецифически-положительных клеток, которые причисляются к клеткам АПУД-серии.*

**O. KOSTROVA, G. STRUCHKO, L. MERKULOVA, M. MIKHAYLOVA, E. MOSKVICHEV**  
**INFLUENCE OF SPLEEN REMOVAL IN FEMALE RATS**  
**ON OFFSPRING'S ADRENALS MORPHOFUNCTIONAL CONDITION**

**Key words:** adrenal glands, splenectomy, immunodeficiency.

*It is found out that removal of the spleen in female rats leads to functional changes in the adrenal glands in their offspring. The removal results in the reduction of the adrenal medulla area, a slight growth of the cortex, increase in the number of synaptophysin-positive and neuron-positive cells, which are referred to the APUD series cells.*

Основная роль в формировании приспособительной реакции организма на различные воздействия окружающей среды принадлежит эндокринной системе [2]. Известно, что надпочечники обеспечивают регуляцию жизненно важных функций во всем организме [5].

На стресс организм реагирует тремя основными симптомами: увеличением коркового слоя надпочечников с повышением его активности, уменьшением тимуса и лимфатических узлов, появлением точечных кровоизлияний, эрозий и язв на слизистой оболочке желудка и кишечника [3]. В условиях современной жизни человек подвергается воздействию стрессоров различной природы ежедневно. К одному из таких факторов некоторые авторы относят и хирургический стресс [4].

Хирургическое удаление селезенки – спленэктомия – проводится не только при травмах и разрывах органа, но и при некоторых гематологических заболеваниях, например, таких, как лейкоз. Известно, что удаление селезенки приводит к стойкому нарушению клеточного и гуморального иммунитета [10, 11].

Формирование иммунодефицита при спленэктомии верифицировали с помощью морфологических, иммуногистохимических и общегистологических методов исследования. Это выражалось развитием акцидентальной инволюции тимуса. Результаты описаны нами в более ранних работах [4]. Кроме того, удаление селезенки приводит к волнообразным изменениям морфофункционального состояния надпочечников [6].

В последние десятилетия интенсивно изучается проблема влияния пренатальной патологии на процессы постнатального развития организма [7]. До сих пор до конца не изучено влияние спленэктомии у матери на реактивность и резистентность потомства.

Изучение изменений морфофункционального состояния надпочечников на фоне иммунодефицитной беременности, на наш взгляд, способно улучшить понимание этапов развития врожденного иммунодефицита у потомства и обеспечить патогенетически обусловленный подход к профилактике перинатальной патологии и заболеваний у новорожденных.

**Цель исследования** – оценка морфофункционального состояния надпочечников трех- и шестимесячных крысят, родившихся от спленэктомированных самок.

**Материал и методы исследования.** В качестве модели врожденного иммунодефицита была выбрана спленэктомия, которая проводилась половозрелым крысам-самкам. Через месяц после операции к самкам подсаживали самцов. Эксперименты проведены на 40 белых беспородных крысах-самках массой 170–300 г. Все процедуры по уходу осуществлялись согласно правилам и нормам обращения с лабораторными животными.

Животные были разделены на четыре группы: 1-я – интактные крысята в возрасте 3 месяцев (10 крыс); 2-я – трехмесячные крысята, родившиеся от спленэктомированных самок (10 крыс); 3-я – интактные крысы в возрасте 6 месяцев (10); 4-я – шестимесячные крысы, родившиеся от спленэктомированных самок ( $n = 10$ ).

Для морфологического исследования выполняли забор надпочечников. Взятие проб осуществлялось не позднее 30 мин после забоя. Органы брали целиком, фиксировали в 10%-ном растворе формалина. Парафиновые срезы толщиной 4–4,5 мкм получали с помощью санного электронного микротомы MSE.

Методы исследования:

1. Иммуногистохимические методы с использованием моноклональных антител (МКАТ) фирмы Santa Cruse (США) [9]: 1) МКАТ к синаптофизину (маркер нейроэндокринных клеток); 2) МКАТ к CD68 (маркер макрофагов); 3) МКАТ кNSE (маркер нейроэндокринных клеток).

Материал для исследования фиксировали 10%-ным нейтральным формалином в течение 24 ч, заливали в парафин, готовили срезы толщиной 4 мкм, которые наносили на высокоадгезивные стекла и высушивали при температуре 37°C в течение 18 ч. Восстановление антигенной активности осуществлялось в цитратном буфере pH 6,0 в автоклаве при температуре 96°C в течение 20 мин с последующим остыванием в течение 90 мин. Для выявления иммуногистохимических реакций в работе применялась система визуализации LSAB-2. В качестве внутреннего контроля реакции служила неиммунизированная кроличья сыворотка. Результаты реакции оценивали с применением микроскопа МИКРОМЕД 3 ЛЮМ путем подсчета позитивно окрашенных клеток на 100 клеток в 10 полях зрения, выражая результаты в процентах и единицах в поле зрения.

2. Окраска гематоксилином и эозином с последующей морфометрией коркового и мозгового вещества надпочечников.

3. Морфометрический метод с использованием программы Микро-Анализ для измерения толщины коркового и площади мозгового вещества надпочечников.

4. Результаты исследования обрабатывали статистически. Достоверность различия сравниваемых средних величин определяли на основании  $t$ -критерия Стьюдента, достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

В процессе наблюдения за самками выявлено, что способность к зачатию и вынашиванию у спленэктомированных крыс понижена: лишь 63% смогли забеременеть и родить. Замечено, что у самок с удаленной селезенкой рождалось по 5–7 крысят, при этом жизнеспособными из них были лишь 57%, в то время как здоровая самка приносит в помете 10–12 крысят.

При обработке росто-весовых показателей выявлено, что трехмесячные крысята, родившиеся от спленэктомированных самок, отстают от своих сверстников: наблюдалось снижение массы тела и роста на 10–15% (табл. 1). Некоторые животные выглядели измученными, вялыми и больными. У шестимесячных крыс наблюдалось лишь достоверное снижение коэффициента соотношения массы тимуса и надпочечников (КСТ/Н).

Таблица 1

**Изменение массы крыс, надпочечников, тимуса  
и коэффициента соотношения массы тимуса  
и надпочечников (КСТ/Н)**

Условия эксперимента	Интактные животные в возрасте 3 месяцев	Животные, родившиеся от спленэктомированных самок в возрасте 3 месяцев	Интактные крысы в возрасте 6 месяцев	Животные, родившиеся от спленэктомированных самок в возрасте 6 месяцев
Масса крысы, г	175,25±11,8	<b>116,5±16,5</b>	295,75±35,4	293,25±31,8
Масса надпочков, мг	14,7±0,95	13,45±1,3	16,88±0,66	16,93±0,7
Масса тимуса, мг	261,57±29,3	202,8±39,3	258±46	207,63±25
КСТ/Н	17,8±0,28	15,1±2,3	15,2±0,3	<b>12,2 ±1,02</b>

Примечание. \* – при  $p \leq 0,05$ .

При окраске препаратов надпочечников гематоксилином и эозином у животных всех групп хорошо определяется более светлое мозговое вещество, окруженное более темным корковым. Проведенная морфометрия показала, что площадь мозгового вещества у опытных трех- и шестимесячных крысят по сравнению с интактной группой животных соответствующего возраста достоверно снижается в 1,3 и 2 раза, соответственно (табл. 2). Площадь же коркового вещества, наоборот, незначительно увеличивается на 13% и 18%, соответственно.

Таблица 2

**Динамика изменения площади  
мозгового вещества надпочечников**

Условия эксперимента	Интактные трехмесячные крысят	Трехмесячные крысят, родившиеся от спленэктомированных самок	Интактные шестимесячные крысят	Шестимесячные крысят, родившиеся от спленэктомированных самок
Площадь мозгового вещества надпочечников, мм	0,1±0,02	0,07±0,01*	0,3±0,02	0,1±0,01*

Примечание. \* – при  $p \leq 0,05$ .

Иммуногистохимическое окрашивание препаратов надпочечников крысят антителами к синаптофизину и нейронспецифической енолазе позволило зарегистрировать клетки нейроэндокринного происхождения (рис. 1).

Наблюдалось достоверное увеличение количества клеток нейроэндокринного происхождения у всех групп крысят, родившихся от спленэктомированных самок, по сравнению с аналогичным показателем в интактной группе животных соответствующего возраста. Особенно было повышено количество NSE-позитивных клеток в корковом веществе надпочечников шестимесячных крыс (30,5±1,2% против 10,3±2,2% в контрольной группе) (рис. 2).

Таким образом, у крысят, родившихся от спленэктомированных самок, в надпочечниках в течение всех сроков исследования наблюдались гистологические и иммуногистохимические отличия от интактных животных.

Суть этих изменений состоит в том, что у опытных крысят по сравнению с контрольной группой животных выявлялись снижение площади мозгового вещества надпочечников, незначительное увеличение коркового вещества, повышение количества синаптофизин-положительных и нейронспецифически-положительных клеток, которые причисляются к клеткам АПУД-серии.

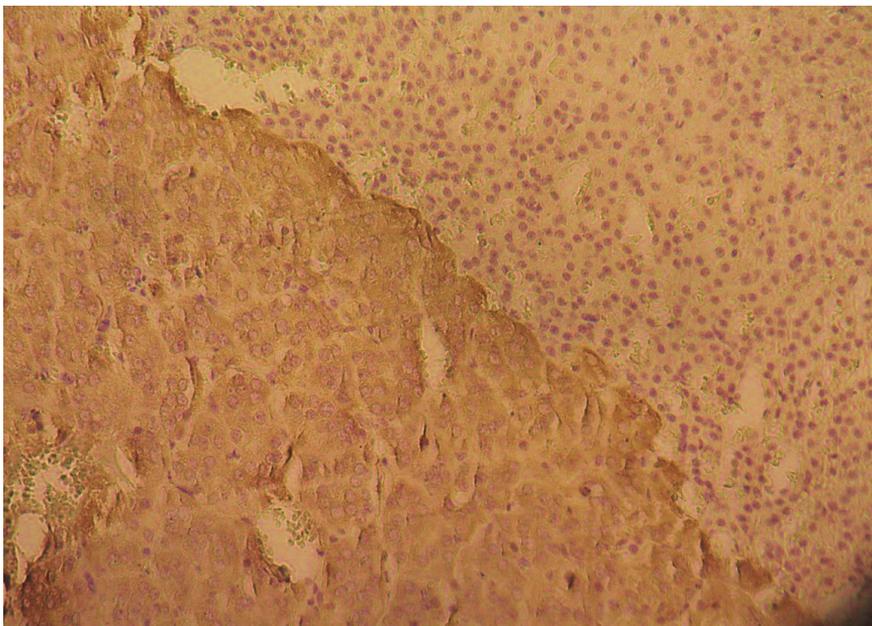


Рис. 1. Синаптофизин-положительные клетки в мозговом веществе надпочечников у трехмесячных интактных крысят. Иммуногистохимическая реакция. Микроскоп МИКРОМЕД 3 ЛЮМ. Ув.×40

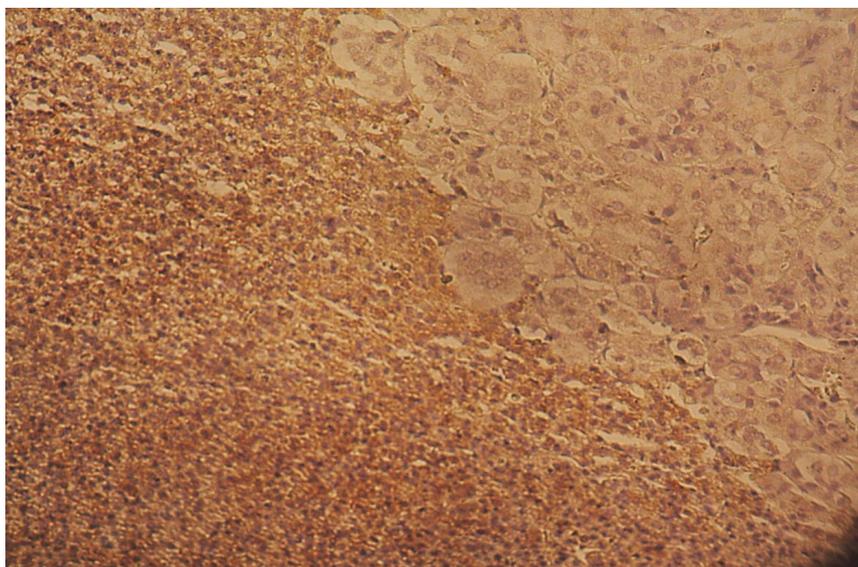


Рис. 2. Увеличение NSE-положительных клеток в корковом веществе надпочечников у шестимесячных крысят, родившихся от спленэктомированных самок. Иммуногистохимическая реакция. Микроскоп МИКРОМЕД 3 ЛЮМ. Ув.×40

По-нашему мнению, основной причиной таких изменений является дисфункция в системе надпочечники – гипофиз – тимус. Ведь, согласно данным литературы, тимус участвует в регуляции гормонального равновесия, действуя параллельно с гипофизарно-надпочечниковым комплексом на иммуногенез и лимфопоэз [1]. В свою очередь, функциональное состояние надпочечников зависит от активности тимуса. Посредниками взаимодействия эндокринной и иммунной систем в этом случае являются клетки АПУД-серии, которые способны при их стимуляции секретировать те или иные иммунорегулирующие факторы [8].

### Литература

1. Григорьева В.Н. Структурно-функциональные взаимосвязи иммунной и эндокринной систем у детей раннего возраста: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2007.
2. Изатулин А.В. Морфофункциональные изменения надпочечников в условиях токсико-стрессорной реакции (экспериментальное исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2013.
3. Киселева Н.М., Кузьменко Л.Г., Нкане Нкоза М.М. Стресс и лимфоциты // Педиатрия. 2012. Т. 91, № 1. С. 137–143.
4. Москвичев Е.В. Иммуногистохимическая характеристика тимуса при экспериментальном канцерогенезе на фоне спленэктомии // Фундаментальные исследования. 2013. № 3. С. 346–351.
5. Сапин М.Р., Милуков В.Е., Долгов Е.Н., Богданов А.В. Современные представления о строении и функциях надпочечников // Клиническая и экспериментальная морфология. 2012. № 1. С. 14–20.
6. Стоменская И.С. Морфофункциональное состояние надпочечников в условиях экспериментального удаления селезенки: автореф. дис... канд. мед. наук. М., 2003. 24 с.
7. Худавердян Д.Н., Сароян М.Ю., Худавердян А.Д., Арутюнян А.А. Влияние психоэмоционального стресса на содержание адренокортикотропного гормона и кортизола в крови беременных крыс и их потомства // Медицинская наука Армении НАН РА. 2014. Т. LIV, № 3. С. 39–46.
8. Улитко М.В. Роль моноцитов-макрофагов в адаптивных реакциях кроветворной ткани при действии на организм экстремальных факторов: дис... канд. биол. наук. Екатеринбург, 2008. 183 с.
9. Dabbs D.J. Diagnostics immunohistochemistry. Edinburg, Churchill Livingstone Publ., 2002, 673 p.
10. Morgan T.L., Tomish E.B. Overwhelming Post-splenectomy Infection (OPSI): A Case Report and Review of the Literature. *J Emerg Med.*, 2012, vol. 43, no. 4, pp. 758–763.
11. Takehiro O., Kazuhiro H. Overwhelming postsplenectomy infection syndrome in adults – A clinically preventable disease. *World Journal of Gastroenterology*, 2008, vol. 14, no. 2, pp. 176–179.

### References

1. Grigor'eva V.N. *Strukturno-funktsional'nye vzaimosvyazi immunnou i endokrinnoi sistem u detei rannego vozrasta: avtoref. dis. ... kand. med. nauk.* [Structural-functional relationships of the immune and endocrine systems in young children. Abstract of PhD thesis] Moscow, 2007.
2. Izatul'in A.V. *Morfofunktsional'nye izmeneniya nadpochechnikov v usloviyakh toksikostressornoj reaktsii (eksperimental'noe issledovanie): avtoref. dis. ... kand. med. nauk.* [Morphological changes in the adrenal conditions toksikostressornoj reaction (experimental study). Abstract of PhD thesis]. Novosibirsk, 2013.
3. Kiseleva N.M., Kuz'menko L.G., Nkane Nkoza M.M. *Stress i limfotsity* [Stress and lymphocytes]. *Pediatriya* [Pediatry], 2012, vol. 91, no. 1, pp.137–143.
4. Moskvichev E.V. *Immunogistokhimicheskaya kharakteristika timusa pri eksperimental'nom kantserogeneze na fone splenektomii* [Immunohistochemical characteristic of the thymus in experimental carcinogenesis in the background splenectomy]. *Fundamental'nye issledovaniya* [Fundamental Research], 2013, no. 3, pp. 346–351.
5. Sapin M.R., Milyukov V.E., Dolgov E.N., Bogdanov A.V. *Sovremennye predstavleniya o stroenii i funktsiyakh nadpochechnikov* [Modern ideas about the structure and function of the adrenal glands] *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya* [Clinical and experimental morphology], 2012, no. 1, pp. 14–20.
6. Stomenskaya I.S. *Morfofunktsional'noe sostoyanie nadpochechnikov v usloviyakh eksperimental'nogo udaleniya selezenki. Avtoref. dis... kand. med. nauk.* [Morphofunctional state of adrenal in experimental removal of the spleen. Abstract of PhD thesis]. Moscow, 2003, 24 p.
7. Khudaverdyan D.N., Saroyan M.Yu., Khudaverdyan A.D., Arutyunyan A.A. *Vliyaniye psikhomotsional'nogo stressa na sodержание adrenokortikotropnogo gormona i kortizola v krovi beremennyykh zhenshchin* [Influence of psychomotional stress on the content of adrenocorticotrophic hormone and cortisol in the blood of pregnant women]. *Meditsinskaya nauka Armenii* [Medical Science of Armenia], 2014, vol. LIV, no. 3, pp. 39–46.

*nykh kryis i ikh potomstva* [The impact of emotional stress on the content of adrenocorticotropic hormone and cortisol in the blood of pregnant rats and their offspring]. *Meditinskaya nauka Armenii NAN RA* [Medical science in Armenia], 2014, vol. LIV, no. 3, pp. 39–46.

8. Ulitko M.V. *Rol' monotsitov-makrofagov v adaptivnykh reaktsiyakh krovetvornoy tkani pri deystvii na organizm ekstremal'nykh faktorov. Dis... kand. biol. nauk* [The role of monocyte-macrophages in the adaptive response of hematopoietic tissue under the influence of extreme factors on the body]. Ekaterinburg, 2008, 183 p.

9. Dabbs D.J. *Diagnostics immunohistochemistry*. Edinburg, Churchill Livingstone Publ., 2002, 673 p.

10. Morgan T.L., Tomish E.B. Overwhelming Post-splenectomy Infection (OPSI): A Case Report and Review of the Literature. *J Emerg Med.*, 2012, vol. 43, no. 4, pp. 758–763.

11. Takehiro O., Kazuhiro H. Overwhelming postsplenectomy infection syndrome in adults – A clinically preventable disease. *World Journal of Gastroenterology*, 2008, vol. 14, no. 2, pp. 176–179.

---

**КОСТРОВА ОЛЬГА ЮРЬЕВНА** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры функциональной и лабораторной диагностики, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (evkbiz@yandex.ru).

**KOSTROVA OLGA** – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Functional and Laboratory Diagnostics Department, Chuvash State University, Cheboksary, Russia.

**СТРУЧКО ГЛЕБ ЮРЬЕВИЧ** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой функциональной и лабораторной диагностики, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (glebstr@mail.ru).

**STRUCHKO GLEB** – M.D., Professor, Head of Functional and Laboratory Diagnostics Department, Chuvash State University, Cheboksary, Russia.

**МЕРКУЛОВА ЛАРИСА МИХАЙЛОВНА** – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (merkulova192@mail.ru).

**MERKULOVA LARISA** – M.D., Professor, Head of Normal and Topographic Anatomy Department, Chuvash State University, Cheboksary, Russia.

**МИХАЙЛОВА МАРИНА НИКОЛАЕВНА** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (mar3007@mail.ru).

**MIKHAYLOVA MARINA** – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Normal and Topographic Anatomy Department, Chuvash State University, Cheboksary, Russia.

**МОСКВИЧЕВ ЕВГЕНИЙ ВАСИЛЬЕВИЧ** – доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (moskvichev@rambler.ru).

**MOSKVICHEV EVGENII** – M.D., Professor, Normal and Topographic Anatomy Department, Chuvash State University, Cheboksary, Russia.

---