

ВЛИЯНИЕ ПАССИВНОГО ТАБАКОКУРЕНИЯ НА ПОТОМСТВО КРЫС ВИСТАР: ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

© 2018 г. И. В. Мирошниченко, И. В. Михайлова, А. А. Исенгулова,
Л. А. Пушкарева, В. В. Тихонов, О. В. Ширшов

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации, Оренбург, Россия

Поступила: 07.05.2018. Принята: 17.06.2018

Проведенное исследование физиологических и иммунологических показателей у крысят в возрасте от 1 до 30 дней, родившихся от пассивно куривших крыс Вистар, выявило достоверное отставание их соматического и сенсомоторного развития. У крысят, родившихся от самок, подвергшихся пассивному курению, отмечено снижение массы тимуса, селезенки и числа спленоцитов.

Ключевые слова: пассивное курение, крысы, физиология, иммунология

DOI: 10.31857/S102872210002412-8

Адрес: 460000 Оренбург, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Пушкарева Людмила Анатольевна. Тел.: 8(3532)50 06 06 (доб. 203).
E-mail: problab.orenburg@mail.ru.

Авторы:

Мирошниченко И. В., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

Михайлова И. В., д.б.н., доцент, профессор кафедры химии и фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

Исенгулова А. А., к.м.н., доцент, доцент кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

Пушкарева Л. А., ст. лаборант кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России, Оренбург, Россия;

Тихонов В. В., ст. преподаватель кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

Ширшов О. В., к.м.н., доцент, доцент кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Оренбург, Россия;

ВВЕДЕНИЕ

В рамках концепции демографической политики Российской Федерации до 2025 года обеспечение и сохранение здоровья детей обозначено одним из наиболее перспективных вкладов в репродуктивный резерв общества. В последние десятилетия усилился интерес к состоянию ре-

продуктивного здоровья девушек-подростков как будущих матерей. Известно, что увеличение антропогенной нагрузки может приводить к ряду патологических процессов в организме [1]. По данным глобального исследования ВОЗ установлено, что в России постоянно курит более 44 млн. взрослых лиц. Показано, что более 20 млн. жителей России являются пассивными курильщиками. Состояние репродуктивной системы можно рассматривать в качестве маркера неблагоприятного экологического воздействия на организм девушек-подростков. Несомненный интерес представляют работы по исследованию пассивного курения на беременных женщинах и экспериментальных животных [2, 3, 4]. Всё вышесказанное является основанием для проведения комплексных исследований как в эксперименте, так и в клинике по оценке влияния пассивного курения на потомство от пассивно куривших матерей.

Целью исследования явилась оценка физиологических, иммунологических параметров крысят, матери которых во время беременности подвергались воздействию пассивного курения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования были выполнены на 60 крысах Вистар. Моделирование пассивного табакокурения проводили в камере

без поддержания четкого режима влажности [5]. Курящие крысы с 5 по 20 день гестации (ежедневно в течение 5 дней в неделю по 8 часов) подвергались фумигации табачным дымом, которая осуществлялась каждые 60 минут дымом, полученным от 1 тлеющей сигареты. Животные контрольной группы в аналогичный период помещались в камеру, вентилируемую атмосферным воздухом без табачного дыма. Родившиеся крысята были разделены на 2 группы: 1 гр. (контрольная) — 133 животных от некурящих крыс; 2 гр. — 73 животных от курящих крыс. С 1 по 21-е постнатальные сутки исследовано соматическое и сенсомоторное развитие потомства с помощью набора тестов разработанных в Институте нормальной физиологии им. П. К. Анохина [6].

Для оценки индекса своевременности соматического и сенсомоторного развития каждого крысенка период, в течение которого у крысят проявлялись признаки развития, делился на три части: раннее, среднее и позднее время появления признака. Своевременность развития каждого признака регистрировали в баллах (2, 1 и 0 баллов соответственно). Суммарный индекс своевременности соматического и сенсомоторного развития крысенка рассчитывался путем сложения баллов всех исследуемых признаков.

Эксперименты проведены в соответствии с этическими нормами и рекомендациями по гуманизации работы с лабораторными животными, отраженными в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей» (Страсбург, 1985). Эвтаназию крысят осуществляли дислокацией шейных позвонков под эфирным наркозом на 22–25 сутки после рождения.

В крови крысят определяли число лейкоцитов, в лимфоидных органах (тимус, селезенка, костный мозг) — массу и количество клеток [7]. Результаты исследования представлены в виде

медианы (Me) и интерквартильного размаха (25-й и 75-й процентиль), а также в виде среднеарифметического значения ($M \pm m$). Для сравнения групп использовали U-критерий Манна-Уитни и критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При одинаковом содержании и питании, как крыс, так и крысят, выявлено достоверное снижение выживаемости крысят, родившихся от пассивно куривших самок. Так, из 133 крысят 1-й группы к 21-му дню выжило 98 (74%) животных, тогда как из 73 крысят 2-й группы к аналогичному сроку остались живыми 45 (62%) животных.

Установлена тенденция к снижению средней массы крысят опытной группы (на 19%) по сравнению с контрольной.

По индексу своевременности соматического развития отмечается достоверное отставание развития у крысят от самок опытной группы по сравнению с крысятами контрольной группы следующих признаков: появление шерсти (на 81%), полное обшерствление (на 76%), появление верхних (на 23%) и нижних резцов (на 40%).

У крысят опытной группы отмечается снижение следующих своевременности развития сенсомоторных признаков: зрительный плейсинг (на 80%), движение ушей (на 62%), класпинг с 1,39 до 0,62 (на 55,4%), подъем и спуск по вертикальному канату с 0,69 до 0,33 (на 52,1%), аудиторный стартл с 1,6 до 0,8 (на 50,0%), избегание края обрыва с 1,32 до 0,67 (на 49,2%), избегание наклонной плоскости с 0,73 до 0,38 (на 47,9%), сгибание пальцев передних конечностей с 0,72 до 0,38 (на 47,2%), переворачивание на горизонтальной поверхности с 1,52 до 0,9 (на 40,8%).

Исследование лимфоидных органов установило (табл. 1) уменьшение массы тимуса (на 39%), селезенки (на 52%) и числа спленоци-

Таблица 1. Влияние пассивного курения у крыс Вистар на количество ядросодержащих клеток в крови и лимфоидных органах крысят (Me 25-й и 75-й процентиль)

Показатели	1 группа n=16	2 группа n=20	Показатели	1 группа n=16	2 группа n=20
Лейкоциты, 10 ⁹	4,85 [3,9;5,8]	4,20 [3,45;5,35]	Масса селезенки (мг)	195,5 [138;227]	94,0* [80;138]
Масса тимуса (мг)	118,0 [94,5;142,0]	72,0* [55,5;101,0]	Спленоциты (x10 ⁶)	182,5 [124;227]	105,0* [76;143]
Тимоциты (x10 ⁶)	187,5 [134;243]	168,0 [129;200]	Миелокариоциты, 10 ⁶ /орган	14,5 [14;16]	16,5 [11,0;25,5]

Примечание: * — обозначены достоверные отличия ($p < 0,05$) показателей 1 и 2 групп.

тов (на 42%) у крысят 2-й группы по сравнению с аналогичными параметрами 1-й группы.

Полученные результаты свидетельствуют о снижении физиологических и иммунологических показателей у крысят, родившихся от самок, подвергнутых пассивному курению.

ОБСУЖДЕНИЕ

При обсуждении полученных результатов важно отметить, что поведенческие стереотипные реакции, соматическое и сенсомоторное развитие определяются тесным взаимодействием нервной, эндокринной и иммунной систем и рассматриваются как способы экспериментальной оценки адаптивных функций организма [7]. Эндогенная интоксикация самок крыс, вызываемая пассивным курением, обладает отрицательным воздействием как на клеточные сосудистые образования головного мозга с развитием церебральных дисфункций, включает нейро-гуморальные механизмы стрессорной реакции и ведет к усилению процессов свободно-радикального окисления (СРО) [8, 9]. Учитывая ранее полученные результаты на аналогичной модели об усилении СРО [10], можно полагать, что выявленные изменения лимфоидных органов и нарушения их функции, а также снижение поведенческой активности и замедленное соматическое и сенсомоторное развитие у крысят, родившихся от куривших самок, являются следствием стрессорной реакции и нарушения процессов адаптации.

В основе установленных сдвигов лимфоидных органов, выявленных в данной работе, может лежать также токсическое действие компонентов табачного дыма (никотин, окись углерода, фенолы, бензол и др.), оказывающее негативное воздействие на нервную и иммунную системы. Токсические вещества табачного дыма вызывают усиленное высвобождение субстанции Р из нервных окончаний с последующей активацией этих рецепторов и провоспалительных цитокинов, что провоцирует нейрогенное воспаление, приводящее к повреждению нейронов головного мозга [11]. Провоспалительные цитокины поддерживают развитие патологических процессов и усугубляют церебральную дисфункцию, что приводит к нарушению соматического и сенсомоторного развития. Известно, что при действии токсикантов табачного дыма в наибольшей степени страдает лимфоидная линия клеток, так как их полигидроокисленные метаболиты аккумулируются в костном мозге

и лимфоидных органах, вызывая гипоплазию центральных и периферических органов иммунитета. Видимый признак такого явления — это уменьшение клеточности в органах кроветворения и лимфоидных органах (селезенка, тимус) [12], что установлено в настоящей работе.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о выраженном негативном влиянии пассивного курения на физиологические и иммунологические параметры крысят, матери которых во время беременности подвергались воздействию пассивного курения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Куценко С.А. Основы токсикологии: Научно-методическое издание СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2004, 720 с. [Kutsenko S.A. Foundations of Toxicology: Scientific and Methodical Edition of SPb: ООО «Publishing House Foliant», 2004, 720 p.]
2. Leonardi-Bee J. Secondhand smoke and adverse fetal outcomes in nonsmoking pregnant women: a meta-analysis *Pediatrics* 2011, 127(4), 734–741.
3. Salmasi G. Environmental tobacco smoke exposure and perinatal outcomes: systematic review and meta-analyses *Acta Obstetrica et Gynecologica* 2010, 89, 423–441.
4. Горбач Т.В., Юнусов В.Ю., Мартынова С.Н. Уровень интоксикации организма и эластичность сосудов новорожденных крысят — потомков крыс, подвергавшихся действию табачного дыма Буковинский медицинский вiсник 2014, 18(4), 20–24. [Gorbach T.V. Yunusov V. Yu., Martynova S.N. The level of intoxication of the body and the elasticity of the vessels of newborn rat pups — descendants of rats exposed to tobacco smoke *Bukovynsky Medical News* 2014, 18 (4), 20–24].
5. Большевский С.Е., Зинченко Е.А., Мирошниченко И.В. Особенности респираторной активности бульбоспинальных препаратов мозга новорожденных крыс, перенёвших в период внутриутробного развития воздействие пассивного табакокурения (*in vitro*) Бюллетень физиологии и патологии дыхания 2015, 57, 77–83. [Bolychevsky S.E., Zinchenko E.A., Miroshnichenko I.V. Peculiarities of the respiratory activity of bulbospinal preparations of the brain of newborn rats that suffered during the period of fetal development the effect of passive smoking (*in vitro*) *Bulletin of the Physiology and Pathology of Breathing* 2015, 57, 77–83].
6. Лобанов А.В., Хохлова О.Н., Суворова М.М., Зарайская И.Ю., Мурашев А.Н. Особенности соматического созревания и сенсомоторного развития у мышей C57BL/6 в раннем онтогенезе при пренатальном воздействии цитозинарабинозы Журнал высш. нерв. деят. 2007, 57(6), 725–737. [Lobanov A.V., Khokhlova O.N., Suvorova M.M., Zaraiskaya I. Yu., Murashev A.N. Features of somatic maturation and sensorimotor development in C57BL / 6 mice

- in early ontogenesis with prenatal exposure to cytosine arabinose *Journal of Advanced Medicine*. 2007, 57 (6), 725–737].
7. Волчегорский И. А., Долгушин И. И., Колесников О. Л. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск, 2000, 167 с. [Volchegorsky I. A., Dolgushin I. I., Kolesnikov O. L. Experimental modeling and laboratory evaluation of adaptive reactions of the organism. Chelyabinsk: Publishing house of the Chelyabinsk State Pedagogical University, 2000, 167 p.].
 8. Аль-Табиб М. М., Петрова И. В., Фархутдинов Р. Р., Герасимова Л. П. Влияние табачного дыма на свободнорадикальное окисление *in vitro* и *in vivo* Медицинский альманах 2013, 3(27), 29–30. [Al-Tabib M. M., Petrova I. V., Farkhutdinov R. R., Gerasimova L. P. Effect of tobacco smoke on free radical oxidation *in vitro* and *in vivo* Medical Almanac 2013, 3 (27), 29–30.].
 9. Владимиров Ю. А. Свободные радикалы в биологических системах. Соросовский образовательный журнал 2000, 6(12), 13–19. [Vladimirov Yu. A. Free radicals in biological systems. Soros Educational Journal 2000, 6 (12), 13–19].
 10. Пушкарева Л. А., Васильева Е. А., Михайлова И. В., Мирошниченко И. В. Воздействие табачного дыма на потомство крыс Вистар Российский иммунологический журнал, 2016, 10(19), 3, 340–342. [Pushkareva L. A., Vasilyeva E. A., Mikhailova I. V., Miroshnichenko I. V. Effects of tobacco smoke on offspring of rats Wistar Russian Immunological Journal, 2016, 10 (19), 3, 340–342].
 11. Захарчук Н. В., Невзорова В. А., Шуматов В. Б., Шестакова Н. В., Гончар Е. Ю. Субстанция Р в механизмах развития церебральной дисфункции при хроническом табакокурении Тихоокеанский медицинский журнал, 2016, 2, 62–66. [Zakharchuk N. V., Nevzorova V. A., Shumatov V. B., Shestakova N. V., Gonchar E. Yu. Substance P in the mechanisms of development of cerebral dysfunction in chronic tobacco smoking. Pacific Medical Journal, 2016, 2, 62–66].
 12. Snyder R. The toxicology of benzene R. Snyder G. Witz B. D. Goldstein Environmental Health Perspectives 1993, 100, 293–306.

INFLUENCE OF PASSIVE TOBACCO COULD ON THE RATE OF RATS VISTAR: PHYSIOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL ASPECTS

© 2018 I. V. Miroshnichenko, I. V. Mikhailova, A. A. Isengulova,
L. A. Pushkareva, V. V. Tikhonov, O. V. Shirshov

Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

Received: 07.05.2018. Accepted: 17.06.2018

A study of physiological and immunological parameters in rats aged 1 to 30 days, born from passively smoking Wistar rats, revealed a significant lag in their somatic and sensorimotor development. In rats born from females exposed to passive smoking, there was a decrease in the mass of the thymus, spleen, and splenocytes.

Key words: passive smoking, rats, physiology, immunology

Authors:

Miroshnichenko I. V., MD, professor, head of the Department of Normal Physiology, FSBEI HE «Orenburg State Medical University», of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Orenburg, Russia;

Mikhailova I. V., Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Professor of the Department of Chemistry and Pharmaceutical Chemistry, FSBEI HE «Orenburg State Medical University», of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Orenburg, Russia;

Isengulova A. A., Candidate of Medical Science, associate professor of the Normal Physiology Department, FSBEI HE «Orenburg State Medical University», of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Orenburg, Russia;

Pushkareva L. A., ✉ Senior laboratory assistant of the Department of Normal Physiology, FSBEI HE «Orenburg State Medical University», of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Orenburg, Russia;
460000 Orenburg, FSBEI HE «Orenburg State Medical University», of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. Phone: 8(3532)50 06 06 (add. 203). **E-mail:** probllab.orenburg@mail.ru.

Tikhonov V. V., Senior lecturer of the Department of Normal Physiology, FSBEI HE «Orenburg State Medical University», of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Orenburg, Russia;

Shirshov O. V., Ph.D., Associate Professor of the Normal Physiology Department, FSBEI HE «Orenburg State Medical University», of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Orenburg, Russia.