

УДК 611.13:611.16:613.81:616-092.9

*Г.И. Губина-Вакулик, В.Ю. Юнусов, Е.М. Лукьянова*  
*Харьковский национальный медицинский университет*

### **ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ АОРТЫ И СОСУДОВ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА У НОВОРОЖДЕННЫХ ПОТОМКОВ РОДИТЕЛЕЙ-«КУРИЛЬЩИКОВ»**

В эксперименте на крысах линии Вистар показано, что табакокурение родителей (мать, отец, оба родителя) приводит к структурным изменениям стенки аорты и изменению формирующейся капиллярной сети в тканях их потомков. Предполагается снижение адаптационных возможностей сосудов у потомков в течение внеутробной жизни с большей вероятностью развития патологии сосудов.

**Ключевые слова:** гистология, аорта, капилляры почки, курение родителей.

Курение занимает особое место среди вредных привычек, так как в отличие от алкоголя и наркотиков – «открытых убийц» человеческого организма, действие табачного дыма на начальных этапах употребления менее заметно. Вероятно, этот фактор среди других факторов, стимулирующих табакокурение, приводит к широкой распространенности этой вредной привычки. По статистическим данным научных исследований, в условиях мегаполиса (г. Харьков) курит около 50 % взрослых мужчин и 44 % взрослых женщин [1].

Негативное действие табакокурения у активных курильщиков на организм в целом и кровеносные сосуды в частности подтверждено научными исследованиями [2–4] и медицинской практикой. Что касается возможного отрицательного влияния табакокурения на плод и дальнейшее здоровье ребенка, то исследования проводятся в основном по изучению эффектов материнского курения на плод. Доказано, что у беременных компоненты табачного дыма проникают через плаценту [5], кожу и пищеварительный тракт плода из амниотической жидкости [6]. Выявлено, что выкуривание одной сигареты беременной женщиной сопровождается спазмом маточных сосудов продолжительностью 20–30 мин, что приводит к ослаблению маточно-плацентарного кровотока [7]. Осложнения при родах у курящих матерей диагностируются в 2 раза чаще, а послеродовая смертность новорожденных детей у курящих женщин на треть выше, чем у некурящих. Риск внезапной

смерти новорожденных по вине курящих матерей возрастает на 52 % [8]. В эксперименте на крысах показано, что курение матери является одним из этиологических факторов задержки внутриутробного развития, сопровождается уменьшением абсолютной и относительной массы сердца [9].

В отдельных работах изучается состояние сосудов у детей разного возраста, рожденных курящими матерями. Обнаружено, что табакокурение матерей приводит к развитию эндотелиальной дисфункции у детей, значительному снижению продукции вазодилататора оксида азота [10]. Последние данные, полученные голландскими врачами при ультразвуковом исследовании сонных артерий 5-летних детей, чьи родители курили в течение внутриутробного периода, показали утолщение их стенки на 18 мкм и увеличение эластичности на 21 % [11].

Вопрос влияния табакокурения родителей на морфологическое состояние и развитие сосудов, в том числе аорты и микроциркуляторного русла, у потомства по сути не поднимался, и в научной литературе публикации на эту тему отсутствуют.

Цель исследования – в эксперименте выяснить особенности гистологического строения стенки аорты и развития микроциркуляторного русла на примере капиллярных клубочков почки у новорожденных потомков курящих родителей.

**Материал и методы.** В эксперимент взяты молодые половозрелые (3 мес) крысы

© Г.И. Губина-Вакулик, В.Ю. Юнусов, Е.М. Лукьянова, 2014

линии Вистар, содержащиеся в стандартных условиях вивария. Сформированы «семейные пары»: 1) «курили» только самки-матери; 2) «курили» только самцы-отцы; 3) «курили» самцы и самки, то есть оба родителя; 4) контрольная группа крыс – интактные. Моделирование табакокурения осуществляли с использованием специальной камеры, достаточной по объему для свободного перемещения, в которой распределялся табачный дым 1/2 тлеющей сигареты «Прилуки». «Курящих» животных выдерживали в камере на протяжении 15 мин ежедневно в течение 1 мес до зачатия (самцы и самки) и на протяжении беременности самок. Животных контрольной группы помещали в аналогичную камеру без дыма на аналогичное время. Новорожденных крысят выводили из эксперимента путем декапитации с формированием контрольной К группы (интактные), группы М (потомки «курящих» матерей), группы О (потомки «курящих» отцов) и группы МО (оба родителя «курили»).

Участок дуги аорты и правая почка после фиксации в 10%-ном формалине заливали в парафин. Микропрепараты окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизон, галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону. При изучении гистологических особенностей аорты измеряли толщину стенки сосуда (интима-медиа), считали количество эластических мембран в меди аорты. Для оценки влияния табакокурения родителей на степень васкуляризации почечной ткани потомков использовали также два морфометрических показателя: количество клубочков в поле зрения при увеличении в 100 раз и площадь клубочков ( $\text{мкм}^2$ ).

Морфометрические исследования проводили на микроскопе AxioStar-plus (Zeiss, ФРГ) с использованием программного обеспечения «ВидеоТест» (Санкт-Петербург). Цифровые данные статистически обработали с использованием вариационного ряда.

**Результаты.** Гистологически на поперечном срезе стенка аорты новорожденного крысенка представлена несколькими эластическими мембранами, отделенными друг от друга слоями фуксинофильного вещества с лежащими в его толще овальными пиронинофильными клетками с продолговатым ядром.

Изучение строения стенки аорты контрольных животных показало ее морфофунк-

циональную незрелость, а именно эластические мембраны в некоторых участках по периметру, предположительно по внутреннему диаметру дуги аорты, отсутствуют вовсе, и стенка аорты представлена только соединительной тканью.

У потомков группы М наблюдается очень заметное утолщение стенки аорты и ускорение созревания эластического каркаса аорты, так как практически нет участков по периметру аорты, где эластические мембраны не были представлены. Кроме того, количество эластических мембран на пересечении стенки увеличено по сравнению с их количеством у потомков группы К.

Новорожденные потомки группы О имеют аорту также с утолщенной стенкой, хотя и в меньшей степени, чем в группе М. При этом, оказывается, эластический каркас стенки аорты развит в меньшей степени, чем в группе К.

В группе МО гистологической разницы с группой М в строении стенки аорты не обнаружено, то есть имеет место утолщение стенки и большая зрелость эластического каркаса по сравнению с группой К.

Измерение толщины двух слоев стенки аорты (интима-медиа) отдельно у новорожденных потомков мужского и женского пола показало, что у самок стенка аорты более толстая, чем у самцов (таблица), и эта особенность сохраняется во всех основных груп-

*Толщина стенки аорты (интима-медиа) у новорожденных крысят, мкм*

Группа	Крысята-самцы	Крысята-самки
К	32,2±0,7	39,2±0,8 $p_{\sigma-\varphi} < 0,01$
М	51,9±2,2 $p_{\text{к-м}} < 0,001$	53,0±1,5 $p_{\sigma-\varphi} > 0,05$ $p_{\text{к-м}} < 0,001$
О	43,3±0,9 $p_{\text{к-о}} < 0,001$ и $p_{\text{м-о}} < 0,01$	48,2±1,9 $p_{\sigma-\varphi} < 0,05$ $p_{\text{к-о}} < 0,01$ $p_{\text{м-о}} < 0,05$
МО	48,3±1,5 $p_{\text{к-мо}} < 0,001$ $p_{\text{м-мо}} > 0,05$ $p_{\text{о-мо}} < 0,05$	52,0±1,9 $p_{\sigma-\varphi} > 0,05$ $p_{\text{к-мо}} < 0,001$ $p_{\text{м-мо}} > 0,05$ $p_{\text{о-мо}} > 0,05$

пах, хотя курение матери групп М и МО уменьшает разницу в толщине стенки между самками и самцами в каждой из этих групп.

Подсчет эластических мембран на срезе стенки аорты в местах наибольшей их представленности позволил выявить, что потомки «курящей» матери имеют наибольшее количество эластических мембран –  $(7,8 \pm 0,3)$  экз., тогда как в группе К –  $(5,0 \pm 0,2)$  экз.;  $p_{к-м} < 0,001$ . В группе О максимальное количество слоев эластических мембран в стенке аорты составляет  $(5,3 \pm 0,3)$  экз.;  $p_{о-к} > 0,05$ . В группе МО значение этого показателя занимает среднее положение между значениями в группах М и О:  $(6,6 \pm 0,4)$  экз.;  $p_{к-о} < 0,001$ .

Таким образом, «курение» самки до и во время беременности приводит к ускорению созревания ткани стенки аорты новорожденных потомков, утолщению ее и увеличению количества эластических мембран в каркасе. «Курение» самца в течение 1 мес перед спариванием приводит к задержке созревания эластического каркаса стенки аорты у новорожденных потомков, но при этом стенка аорты более толстая, чем у контрольных животных. В группе МО эти два противоположных эффекта нивелируются, но стимулирующий эффект материнского «курения» все-таки преобладает.

Для изучения особенностей развития сосудов микроциркуляторного русла у потомков при табакокурении родителей использована почка, а именно капиллярные клубочки. Почечные клубочки новорожденных крысят выглядят комочком плотной ткани в полости капсулы Шумлянско-Боумена. Капилляры клубочков находятся в спавшемся состоянии, так как имеют мягкую стенку, а кровь, очевидно, после умерщвления животных вытекает в венозные сосуды. Поэтому, изучая размеры клубочков, можно судить о степени развития капилляров в них.

У контрольных животных в коре почки имеется большое количество клубочков, которые распределены равномерно. Среднее количество клубочков в поле зрения при  $\times 100$  составляет  $(5,4 \pm 0,3)$  экз.

У всех потомков курящих родителей (в разных семейных комбинациях) наблюдается или уменьшение или увеличение количества клубочков в коре. В группе М они распределены неравномерно, местами обнаруживаются

рудименты клубочков, пустые капсулы Шумлянско-Боумена. Среднее количество клубочков в поле зрения при  $\times 100$  в группе М составляет  $(3,5 \pm 0,2)$  экз.,  $p_{к-м} < 0,05$ . При курении отца среднее количество клубочков, наоборот, растет и при  $\times 100$  составляет  $(6,5 \pm 0,3)$  экз.,  $p_{к-о} < 0,05$ .

В группе МО в ряде случаев отмечено уменьшение количества клубочков [ $(3,9 \pm 0,2)$  экз.,  $p_{к-мо} < 0,05$ ], в других случаях – увеличение по сравнению с контрольной группой [ $(7,0 \pm 0,3)$  экз.,  $p_{к-мо} < 0,05$ ].

Другой изученный показатель, позволяющий судить о степени развития капилляров, – это площадь клубочков почки. У крысят-потомков курящих матерей (группы М) площадь клубочков увеличена, что можно объяснить увеличением количества и длины капилляров в клубочке [ $S = (259,9 \pm 10,4)$  мкм<sup>2</sup>], тогда как в группе К – [ $(224,5 \pm 8,6)$  мкм<sup>2</sup>,  $p_{к-м} < 0,05$ ]. При отцовском курении (группа О) капилляры в клубочках, наоборот, гипопластичны, так как клубочек имеет достоверно меньший размер [ $S = (167,1 \pm 9,5)$  мкм<sup>2</sup>,  $p_{к-о} < 0,05$ ]. У потомков, выношенных в условиях курения обоих родителей (группа МО) наблюдается формирование двух видов изменений площади клубочков: у одних наблюдается их гипертрофия, обусловленная, очевидно, гиперплазией капилляров, у других – наоборот: гипотрофия клубочков в связи с внутриутробной гипоплазией капилляров. В первом варианте средняя площадь клубочков почки составляет  $(263,2 \pm 8,3)$  мкм<sup>2</sup>,  $p_{к-мо} < 0,05$ , во втором –  $(159,5 \pm 11,2)$  мкм<sup>2</sup>,  $p_{к-о} < 0,05$ .

Индивидуальное сопоставление количества клубочков и их размеров в группе МО показало, что именно малое количество внутриутробно заложенных клубочков, а также их внутриутробная гибель, их неполное развитие сопровождаются гипертрофией заложенных клубочков, а значит, увеличением количества или длины капилляров в клубочке, что, очевидно, является компенсаторной реакцией, возникающей внутриутробно в ответ на внутриутробную гибель части клубочков. У других крысят наблюдается внутриутробная гиперплазия клубочков, то есть увеличение их количества в коре почки, что сочетается с малым ростом капилляров в отдельном клубочке.

Таким образом, микроскопическое исследование, дополненное морфометрией стенки

аорты и капиллярных клубочков почки, проведенное на новорожденных крысятах – потомках курящих родителей, позволило выявить значительные внутриутробные различия, которые позволяют предположить наличие своеобразного внутриутробного действия компонентов табачного дыма на сердце и сосуды.

Картина утолщения стенки аорты, ускорения ее созревания с увеличением количества эластических мембран в стенке аорты на фоне значительного уменьшения количества капиллярных клубочков в почке с компенсаторным их укрупнением наблюдается у новорожденных крысят группы М, что можно предположительно объяснить результатом прямого действия компонентов табачного дыма, поступающих в плодовой кровотоке через плаценту, на сердечно-сосудистую систему плода. Возможно, происходит периодическое усиление систолы, и удары потока крови в стенку аорты «тренируют» ее, вызывая ускоренное и чрезмерное развитие эластического каркаса. Другие компоненты табачного дыма, поступившие в плодовой кровотоке, вызывают повреждение и гибель отдельных эндотелиоцитов сосудов, что стимулирует их пролиферацию с регенераторной целью.

Можно предположить, что отцовское курение (группа О) оказывает на плод эпигенетное воздействие через генный аппарат сперматозоида [12, 13] с некоторым ослаблением систолы и торможением развития эластического аппарата аорты у потомка внутриутробно. Эпигенетное воздействие компонентов табачного дыма готовит потомка к существованию в условиях табакокурения, поэтому сразу экспрессирует внутриутробное формирование сосудов микроциркуляторного русла, но, так как при этом отсутствует прямое повреждение эндотелия компонентами табачного дыма, наблюдаем увеличенное количество клубочков.

Реакция стенки аорты и сосудов микроциркуляторного русла плода на курение обоих родителей двухвариантна, что, вероятно,

обусловлено разным полом потомков, а именно у крысят самок более выраженное действие по типу материнского курения, а у крысят-самцов – менее выраженное, нивелированное.

Таким образом, ранее обнаруженное другими исследователями повреждение эндотелия сосудов у курящих людей, приводящее к развитию как васкулитов, так и атеросклероза крупных артерий [2, 4, 6], очевидно, происходит и в сосудах плода при курении матери. Курение отца, исходя из полученных результатов, влияет на сосуды плода предположительно по эпигенетному механизму, так сказать, происходит подготовка потомка к существованию в контакте с фактором курения в постнатальной жизни.

### Выводы

1. Табакокурение родителей приводит к изменению изученных морфометрических показателей аорты и капиллярных клубочков почки у новорожденных крысят-потомков. При «курении» матери максимально утолщается стенка аорты и развивается эластический каркас, уменьшается количество клубочков в почке и компенсаторно увеличивается их площадь, а при «курении» отца созревание эластического каркаса аорты заторможено, внутриутробно закладывается большое количество капиллярных клубочков с уменьшенной площадью, то есть с уменьшенным количеством/длиной капилляров в клубочке. У новорожденных потомков группы МО обнаруживаются два варианта нарушения внутриутробного развития сосудов, у потомков-самок – с доминированием картины материнского курения, а у потомков-самцов – с менее выраженной картиной.

2. Внутриутробное нарушение формирования аорты и сосудов микроциркуляторного русла и раннее развитие компенсаторных реакций могут привести к снижению адаптационных возможностей сосудов в течение внеутробной жизни с большей вероятностью развития патологии сосудов.

### Литература

1. *Беляев С.Г.* Антенатальная охрана плода в условиях табакокурения супружеской пары: в помощь практическому врачу / С.Г. Беляев // *Український медичний альманах.* – 2009. – Т. 12, № 2. – С. 34–36.
2. *Ксенобіотики в сигаретах / Д.Д. Зербіно, Т.М. Соломенчук, С.А. Леснік [та ін.] // Серце і судини.* – 2003. – № 3. – С. 156–159.

3. Шульцев Г.П. Системные эффекты курения (обзор иностранной литературы) / Г.П. Шульцев, А.Н. Висин // Клиническая медицина. – 1992. – Т. 70, № 2. – С. 17–22.
4. Pittili R.M. Cigarette smoking, endothelial injury and cardiovascular disease / R.M. Pittili // Int. J. Exp. Pathol. – 2000. – Vol. 81 (4). – P. 219–230.
5. Курение при беременности / А.А. Левченко, П.Е. Устинова, П.А. Линчевский [и др.] // Неонатология. – 2009. – № 3. – С. 18.
6. Heall S. Smoking during pregnancy may damage children's blood vessels / S. Heall // Pregnancy. – 2011. – Vol. 2. – P. 18
7. Нерсесян-Брыткова Е. Курение во время беременности: влияние на плод / Е. Нерсесян-Брыткова // <http://www.medweb.ru/articles/kurenje-vo-vremja-beremennosti-vlijanie-na-plod>.
8. Никитин А. Влияние курения на плод, или о чем думают курящие матери? / А. Никитин // <http://radiorivne.com.ua/vlijanie-kurenija-na-plod-ili-o-chem-dumajut-kurjaschie-materi>.
9. Гаргин В.В. Антропометрические показатели и масса сердца плодов и новорожденных при симметричном и асимметричном вариантах задержки внутриутробного развития / В.В. Гаргин, М.С. Мирошниченко, В.М. Закревский // Одеський медичний журнал. – 2009. – Т. 114, № 4. – С. 18–21.
10. Хоценко А.А. Влияние табакокурения матерей на функциональное состояние эндотелия у детей / А.А. Хоценко // Медицина сьогодні і завтра. – 2008. – № 4. – С. 99–101.
11. Parental smoking and vascular damage in their 5-year-old children / C.C. Geerts, M.L. Bots, C.K. van der Ent [et al.] // Pediatrics. – 2012. – Vol. 129 (1). – P. 45–54.
12. Duncan E.J. Epigenetics, plasticity, and evolution: How do we link epigenetic change to phenotype? / E.J. Duncan, P.D. Gluckman, P.K. Dearden // J. Exp. Zool. B. Mol. Dev. Evol. – 2014 Apr 9. doi: 10.1002/jez.b.22571.
13. Joo J.G. Epigenetic mechanisms in physiologic and pathologic pregnancies / J.G. Joo, C. Karabelyos, H. Nejja [et al.] // Orv. Hetil. 2014 Apr 1. – Vol. 155 (15). – P. 566–574.

**Г.І. Губіна-Вакулік, В.Ю. Юнусов, Е.М. Лук'янова**

**ОСОБЛИВОСТІ РОЗВИТКУ АОРТИ І СУДИН МІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА У НОВОНАРОДЖЕНИХ НАЩАДКІВ БАТЬКІВ-«КУРЦІВ»**

В експерименті на щурах лінії Вістар показано, що тютюнопаління батьків (мати, батько, обоє батьків) призводить до структурних змін стінки аорти і зміни капілярної мережі, яка формується в тканинах їх нащадків. Передбачається зниження адаптаційних можливостей судин у нащадків протягом позаутробного життя з більшою ймовірністю розвитку патології судин.

**Ключові слова:** гістологія, аорта, капіляри нирки, куріння батьків.

**G.I. Gubina-Vakulik, V.Yu. Yunusov, E.M. Lukyanova**

**FEATURES OF THE AORTA AND VESSELS OF MICROVASCULATORY BED IN NEWBORN DESCENDANTS OF PARENTS-«SMOKERS»**

Experimentally on Wistar rats were showed that smoking parents (mother, father, both parents) leads to structural changes in the aortic wall and to change the capillary network in the tissues of their descendants. It is assumed a reduction of vessels adaptive capacity in the offspring during extrauterine life with more likely to vascular pathology development.

**Key words:** histology, aorta, kidney capillaries, parental smoking.

Поступила 17.04.14