

# Клинико-экспериментальные сопоставления при фетальном алкогольном синдроме

В.И. Шилко, Ж.Л. Малахова, А.А. Бубнов, А.И. Исайкин, К.С. Женыспаев кафедра  
детских болезней лечебного факультета ГОУ ВПО «УГМА» Росздрава

## Clinical and experimental comparisons of fetal alcohol syndrome

Shilko V.I., Malakhova Z.L., Boubnov A.A., Bazarnyj V.V., Klejn A.V.

### Резюме

Данная статья посвящена клинико-экспериментальным сопоставлениям антенатального воздействия алкоголя на центральную нервную систему развивающегося организма ребенка. С этой целью нами проведен эксперимент на крысах стадного разведения линии Вистар, алкоголизованных в течение месяца до беременности и во время беременности. У полученного потомства в возрасте одного месяца для светооптического исследования брали головной мозг. Также проанализирован уровень трансформирующего фактора роста  $\beta 1$  (TGF-  $\beta 1$ ) у животных во время беременности с использованием метода гетерогенного твердофазного иммуноферментного анализа.

**Ключевые слова:** дети, алкогольные эффекты плода, факторы роста.

### Summary

The adverse effects of alcohol on the developing human represent a spectrum of structural anomalies and behavioral and neurocognitive disabilities, most accurately termed fetal alcohol spectrum disorders (FASD). In animal models of FASD, ethanol causes a number of changes in brain development, with many of these changes being very transient. In the same number it is necessary to carry experimental works: to estimate intra-uterine influence of alcohol on development structures of the central excitatory system at experimental animals.

Researches on rats of line Vistar. Animals received instead of water within a month up to pregnancy and during all pregnancy of 15 % a solution of spirit. From the received posterity in the age of one month for optical research took a brain of a bark of a touch zone, hypothalamic areas and a cerebellum. Except for that for 9-12 day of pregnancy defined a level of the transforming factor of growth beta one (TGF- $\beta 1$ ) at animals of the given experiment. At animals developmental anomalies of eyes, ears, and skulls were observed. The expressed changes have been found. Dystrophic changes neurons have been expressed. Comparing obtained data with parameters TGF-  $\beta 1$ , we had noted been increase of concentration in skilled group. Thus, revealed features TGF-  $\beta 1$  are comparable to morphological changes in a brain, can be conditionally connected on similar by the processes, arising mammals and the person.

**Key Words:** children, factors of growth, fetal alcohol syndrome

### Введение

Неблагополучно протекающая беременность и роды оказывают часто более пагубное воздействие на нервную систему и психику человека, чем эндо- и экзогенные факторы в постнатальном периоде. Среди факторов, нарушающих оптимальность течения беременности и закономерно влияющих на формирование разнообразных девиаций у плода и ребенка, наряду с соматическими и инфекционными заболеваниями

беременной, особое место занимают токсические воздействия в том числе употребление женщиной алкоголя во время беременности. Развернутая клиническая картина, возникающая у плода, вследствие внутриутробного воздействия алкоголя, носит название фетального алкогольного синдрома (ФАС) [1]. В настоящее время диагностика ФАС базируется на документировании 3-х лицевых отклонений (сглаженный носогубный желобок, тонкая кайма верхней губы, короткая глазная щель), наличии дефицита веса и роста, доказательств структурно-функциональных отклонений со стороны центральной нервной системы, данных употребления матерью алкоголя во время беременности [2].

Большинство детей с ФАС имеют задержку физического, нервно-психического развития, гиперактивны, гиперактивны. У них наблюдается снижение мышечного тонуса, нарушения сна, снижена концентрация, внимание, устные навыки лучше, чем интеллектуальные, замедлено развитие моторных, познавательных, речевых навыков, трудности перехода от

---

*В.И. Шилко, профессор, зав.кафедрой детских болезней лечебного факультета ГОУ ВПО «УГМА» Росздрава,*

*Ж.Л. Малахова, доцент кафедры детских болезней лечебного факультета ГОУ ВПО «УГМА» Росздрава,*

*А.А. Бубнов, ассистент кафедры детских болезней лечебного факультета ГОУ ВПО «УГМА» Росздрава,*

*А.И. Исайкин, зав. Клиникой экспериментальной медицины и биологии (иварий) ГОУ ВПО «УГМА» Росздрава,*

*К.С. Женыспаев, ветеринарный врач Клиники экспериментальной медицины и биологии ГОУ ВПО «УГМА» Росздрава*

одной деятельности к другой, не «чувствуют» опасность (не обучаются социально). Бедная моторная координация может приводить к травмам. Могут иметь высокую терпимость к боли. В школьном возрасте продолжают расти медленно, наблюдаются трудности в общении. По литературным данным именно ФАС занимает лидирующую позицию в списке известных причин задержки умственного развития [3].

В настоящее время ведутся широким фронтом исследования по разработке и анализу морфоанатомических и биохимических данных. В этот же ряд следует отнести экспериментальные работы.

Цель исследования: оценить внутриутробное воздействие алкоголя на развитие цитоморфологической структуры центральной нервной системы у экспериментальных животных.

### Материалы и методы исследования

Исследования проводились в осенне-зимний период на 26 крысах стадного разведения линии Вистар в возрасте 1-2 месяцев, массой 280-300г. Животные содержались при комнатной температуре в условиях свободного доступа к пище. Они были разделены на две группы: 1 – основная (13 животных, получавших вместо воды в течение 1 месяца до беременности и в течение всей беременности 15% раствор спирта), 2 – контрольная (13 интактных крыс). У полученного потомства (по 11 животных от каждой группы) в возрасте одного месяца для светооптического исследования брали головной мозг. Который помещали в 5% нейтральный формалин в объемном соотношении не менее 1:10. После фиксации вырезали блоки мозгового вещества из конвексимальной коры сенсомоторной зоны, гипоталамической области и мозжечка. Проводилась заливка материала в парафин. Применялась окраска гематоксилином-эозином, по Ван Гизон и по Нисслю.

В тоже время мы посчитали не безынтересным проанализировать уровень трансформирующего фактора роста  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) у животных данного эксперимента двух групп во время беременности (9-12 день беременности). Для определения TGF- $\beta 1$  использовали метод гетерогенного твердофазного иммуноферментного анализа (тест-система Bender MedSystems, Австрия). Учет результатов производился с использованием фотометра STAT FAX.

Статистическая обработка фактического материала осуществлялась на персональном компьютере при помощи программы Microsoft Excel 2002 (10.3506.2625), в приложении Microsoft Office 2002, используя метод альтернативного варьирования с определением t-критерия [4].

Алкогольный синдром плода впервые научно описан в 1967 году французским ученым Лемье с соавторами, как результат злоупотребления алкоголем беременными женщинами. В настоящее время применяется более «широкий» термин алкогольные эффекты плода (АЭП), включающий в себя АСП, т.е. от-

клонения, выявляющиеся у новорожденных уже сразу после рождения, и алкогольные расстройства плода (АРП), последствия, проявляющиеся на более поздних этапах жизни. АРП характеризуется задержкой развития плода, аномалиями лицевого черепа, врожденными пороками различных систем и органов, умственной неполноценностью [1, 2]. АРП связаны с отставанием развития нервной системы и так же умственной неполноценностью [3]. Воздействие алкоголя впервые 3-7 недель беременности вызывает задержку клеточной миграции (в частности, нейронов из зародышевого слоя), нарушение пролиферации нейронов, структурную дезорганизацию ЦНС. Именно АЭП занимает лидирующую позицию в списке известных причин задержки умственного развития. За рубежом большое распространение получил термин фетальный алкогольный спектр нарушений (ФАСН).

Эпидемиологическая характеристика АСП в некоторых наиболее завершенных исследованиях проведенных на Западе показывает частоту рождения детей с этим синдромом от 0,5 до 3 случаев на 1000 новорожденных [4, 5]. Так, в США, ежегодно рождается около 40 000 детей с АРП. В России подобные исследования находятся в стадии сганоления и поэтому не имеется четкого определения состояний, связанных с АРП.

### Результаты исследования и обсуждение

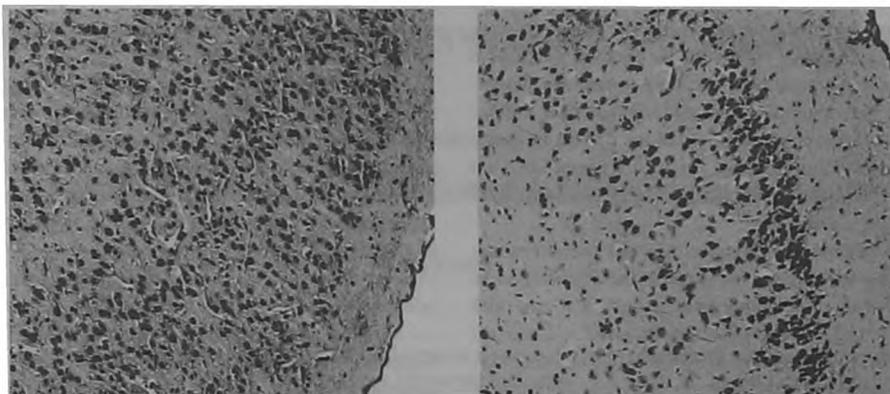
Уже визуально у части животных наблюдались пороки развития глаз, ушей, черепа. В 1-ой опытной группе были найдены выраженные изменения. Кора имела очаги разрежения нервных клеток, чередовавшихся по выраженности и распространенности (рис. 1). Участки разрежения локализовались преимущественно в средних слоях коры, но встречались единичные зоны разрежения, которые шли через все слои. Были выражены дистрофические изменения нейронов, главным образом, в виде хроматолиза в средних слоях и пикнотических изменений в верхних слоях.

В ядрах гипоталамуса (рис. 2) также отмечалось разрежение нервных клеток и их дистрофические изменения. Преобладал гиперхроматоз и пикнотические изменения, а также субтотальное снижение (иногда полное отсутствие) нейрокринных гранул.

В мозжечке (рис. 3) имело место истончение извилин. В зернистом слое наблюдались полосы разрежения и резкое уменьшение количества корзинчатых клеток. Сохранные клетки располагались на разных уровнях и неравномерно. В них преобладали гиперхроматоз и пикнотические изменения.

При гистологическом исследовании тканей мозга в контрольной группе животных не удалось отметить каких-либо существенных отклонений от нормы. В коре была сохранена четкая стратификация нервных клеток, отмечался легкий периваскулярный отек в виде непостоянного расширения пространства Вирхова-Роден-Снесарева. Это явление, по-видимому, следует рассматривать как результат острой гипок-

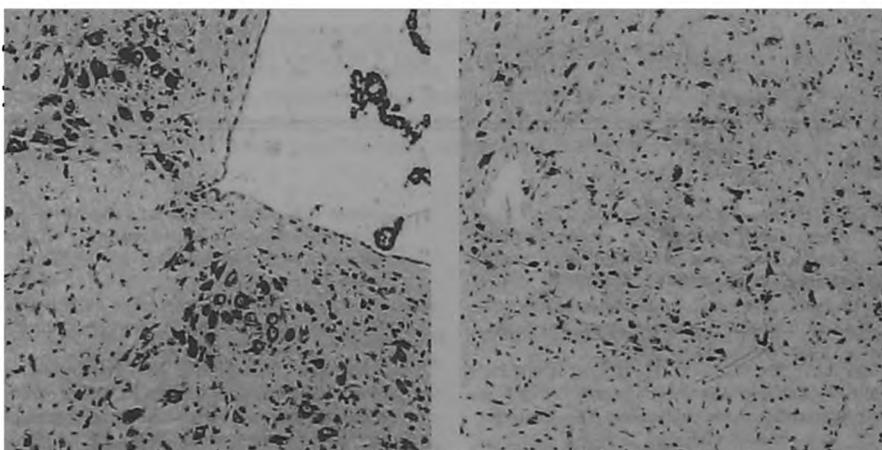
Рисунок 1. Морфологическая характеристика коры больших полушарий



А. основная группа

Б. контрольная группа

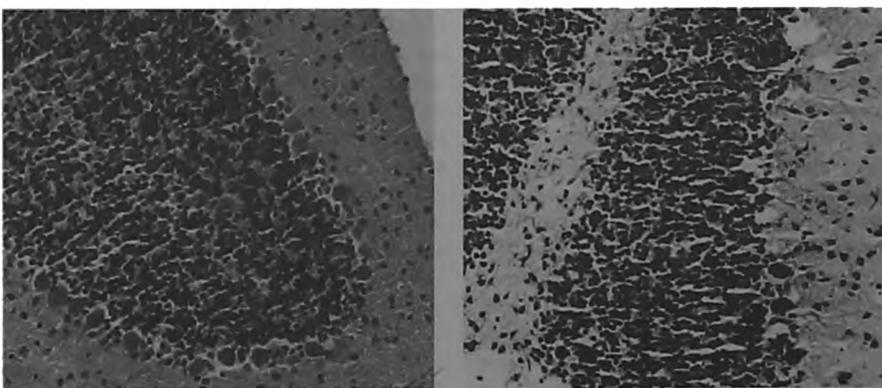
Рисунок 2. Морфологическая характеристика ядер гипоталамуса



А. основная группа

Б. контрольная группа

Рисунок 3. Морфологическая характеристика мозжечка



А. основная группа

Б. контрольная группа

сии, связанной с эфтаназией животных. В ядрах гипоталамической области нервные клетки располагались равномерно, в их цитоплазме можно было увидеть светлые секреторные гранулы, свидетельствующие о сохранности нейрокринии. В коре мозжечка зернистый слой был хорошо выражен, корзинчатые нейроны (клетки Пуркинне) располагались на одном уровне по границе зернистого слоя и белого вещества. Они имели округлые очертания цитоплазмы, четко выраженное ядро и ядрышко.

Сопоставляя полученные данные патологоанатомического характера с показателями TGF- $\beta$ 1, нами было отмечено повышение концентрации в опытной группе  $M = 187,9$  нг/мл (в контрольной  $M = 129,7$  нг/мл),  $t = 2,68$ ,  $p < 0,02$ . Как известно, TGF- $\beta$ 1 участвует в регуляции роста клеток, их дифференцировке и апоптозе, начиная с оплодотворения клетки.

По данным ряда авторов накопление этого фактора в крови [5] может быть связано с блокированием TGF- $\beta$ 1-рецепторов развивающихся клеток алкоголя, в результате чего нарушается рост клеток и их апоптоз.

Известно также, что алкоголь индуцирует пре-

ждевременную трансформацию радиальной астроглии в астроциты, в результате чего нарушается миграция молодых нейронов к своему месту в мозге [6].

### Заключение

На основании проведенных нами экспериментальных исследований установлено высокое повреждающее действие алкоголя на клетки мозга потомства алкоголизованных животных. А именно: разряжение нервных клеток и их дистрофические изменения в виде пикнотических нарушений и хроматолиза в коре, гипоталамусе и мозжечке. А также субтотальное снижение (иногда полное отсутствие) нейрокринных гранул.

Отмеченное в тоже время повышение TGF- $\beta$ 1 у беременных алкоголизованных самок может свидетельствовать о дефектности рецепторного аппарата клеток-мишеней как у самок, так и у потомства.

Таким образом, выявленные особенности экспрессии фактора роста TGF- $\beta$ 1 сопоставимы с морфологическими изменениями в головном мозге, могут быть условно экстраполированы на подобные процессы, возникающие при алкоголизации у млекопитающих и человека (ФАС).

### Литература:

1. Шилко В.И., Малахова Ж.Л., Бубнов А.А., Сергеева Л.М. «Фетальный алкогольный спектр нарушений среди воспитанников домов ребенка», Клиническая наркология, № 11, 2008 - с.53-56.
2. Пальчик А.Б., Федорова Л.А., Легонькова С.В. «Фетальный алкогольный синдром»: методические рекомендации.- СПб, 2006 - 24 с.
3. Schonfeld A.M., Mattson S.N., Lang A.R., Delis D.S., Riley E.P. Verbal and nonverbal fluency in children with heavy prenatal alcohol exposure. J Stud Alcohol, 2001, 62, 239 - 246 [Medline]
4. Ойвин И.А. «Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований», «Патология, физиология и экспериментальная терапия», №4, 1960 - с.76-80.
5. Bredensen D.E. Keeping neurons alive: The molecular control of apoptosis (Part I, Hart II). The Neuroscientist, 1996, 2, 181- 190 (211 216), a,b.
6. Miller M.W., Robertson S. Prenatal exposure to ethanol alters the postnatal development and transformation of radial glia to astrocytes in the cortex. Journal of Comparative Neurology, 1993, 337, 253 266.