

УДК 611.41.42:612.616-097+474.315

А.С. Головацький, А.О. Гербут, О.І. Гецько, Е.С. Добрянська, В.Й. Палапа, М.Ю. Кочмарь, Т.Ф. Росола, Т.Я. Гецько

Кафедра анатомії людини та гістології (зав. – проф. А.С. Головацький) ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, медичний факультет

ДИНАМІКА ЗМІН ЩІЛЬНОСТІ КЛІТИННИХ ЕЛЕМЕНТІВ СВІТЛИХ ЦЕНТРІВ ЛІМФОЇДНИХ ВУЗЛИКІВ БІЛОЇ ПУЛЬПИ СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ-САМЦІВ РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ ВПРОДОВЖ МІСЯЦЯ ПІСЛЯ АНТИГЕННОЇ СТИМУЛЯЦІЇ ОРГАНІЗМУ

Резюме. Досліджені зміни щільності малих, середніх і великих лімфоцитів, плазматитів і макрофагів у центрах розмноження лімфоїдних вузлів селезінки безпорідних білих щурів-самців репродуктивного віку впродовж одного місяця після антигенної стимуляції організму “Імуноглобулін людини нормальний”.

Ключові слова: селезінка, центр розмноження, лімфоцити, щурі-самці.

Погіршення екологічних умов, посилення стресових впливів, низька якість харчових продуктів та питної води призводить до зниження захисних сил організму. Ці несприятливі фактори негативно впливають і на функціональну активність імунної системи організму людини, що призводить до порушення морфо-функціонального стану як первинних, так і вторинних органів імунної системи. Селезінка є єдиним вторинним лімфоїдним органом, що розташований по ходу кровоносної системи і відіграє важливу роль в антигензалежній диференціації і проліферації різноманітних популяцій Т- та В-лімфоцитів, плазматитів і макрофагів, результатом діяльності яких є синтез антитіл та імуноглобулінів [1].

Наявність світлих центрів у лімфоїдних вузликах білої пульпи селезінки свідчить про імунну активність органу, зокрема, і всього організму в цілому. Вивчення структурної організації білої пульпи селезінки, особливостям її клітинного складу в нормі та при дії різноманітних чинників зовнішнього середовища присвячено чимало наукових робіт [2, 3]. Проте зміни щільності лімфоцитів, макрофагів та плазматитів у світлих центрах лімфоїдних вузликів селезінки у лабораторних тварин упродовж місяця після антигенної стимуляції організму вивчено недостатньо.

Мета дослідження: з’ясувати щільність малих, середніх та великих лімфоцитів, плазматитів і макрофагів у світлих центрах лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки безпорідних білих щурів-самців репродуктивного віку через 3, 7, 14 діб і один місяць після введення антигену “Імуноглобулін людини нормального”.

Матеріали і методи. Дослідження проведено на 28 експериментальних безпорідних білих 6-місячних щурах-самцях репродуктивного віку, розподілених на 3 групи: 8 щурів – інтактні тварини, 10 тварин – контрольна група, 10 тварин – експериментальна група. Експериментальній групі тварин вводили антиген – “Імуноглобулін людини нормальний” в дозі 0,02 мг імуноглобуліна із розрахунку на 100 г маси тварин в 0,2 мл ізотонічного розчину хлориду натрія в асептичних умовах підшкірно в тил стопи правої задньої кінцівки щурів. Це оптимальна доза антигена, здатна викликати імунну відповідь, вибрана шляхом підбору доз і враховуючи дані літератури. [4-6]. Контрольній групі тварин замість антигена вводили ізотонічний розчин хлориду натрія в еквівалентних до імуноглобуліна об’ємах. Забір селезінки проводили через 3, 7, 14 діб та один місяць після введення антигена після декапітації щурів під ефірним наркозом. Такий термін забору матеріалу обраний нами згідно рекомендації наукової літератури [7-9], саме в цей період відзначаються найпомітніші зміни морфологічних параметрів у лімфоїдних органах після введення антигена. Матеріал фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну, зневоднювали у спиртах висхідної концентрації і заливали у парафін. Із парафінових блоків виготовляли гістологічні зрізи товщиною 5-7

мкм, які фарбували гематоксилін-еозином і азур-ІІ-еозином.

Для електронно-мікроскопічного дослідження матеріал фіксували в 1,6% розчині глутарового альдегіду в 0,1 М фосфатному буфері Серенсена. Після зневоднення тканину заключали в суміш епоксидних смол. Особливості зразків селезінки досліджували на півтонких зрізах, забарвлених метиленовим-синім.

Утримання і догляд за тваринами та всі маніпуляції проводили у відповідності з положеннями “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986) та “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

На гістологічних препаратах на площі 625 мкм² морфометричним методом за допомогою сітки №3/16 Стефанова С. Б. [4] підраховали кількість малих, середніх та великих лімфоцитів, плазмоцитів, макрофагів у світлих центрах лімфоїдних вузликів селезінки. Досліджували гістологічні препарати під світловим мікроскопом МБИ-3 при збільшенні 1050 разів (об’єктив $\times 70$ – водяна імерсія, окуляри – $\times 10$, біокулярна насадка АУ – $\times 1,5$). Цифрові величини експериментальних даних представлені вибірковыми середніми з довірчим інтервалом ($M \pm L$) для вірогідності $p=95\%$ за Стьюдентом.

Результати дослідження та їх обговорення.

У безпородних білих щурів-самців репродуктивного віку світлі центри добре розвинені і наявні майже у всіх лімфоїдних вузликах білої пульпи (рис. 1). Їх відносна площа становить $2,63 \pm 0,55\%$ від загальної площі структурних компонентів білої пульпи.

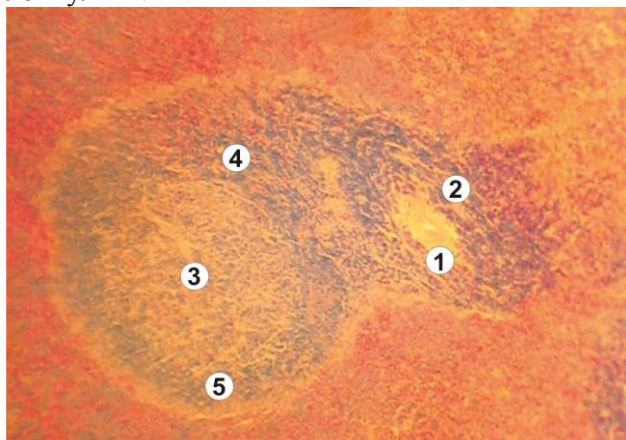


Рис. 1. Лімфоїдний вузлик білої пульпи селезінки білого щура-самця репродуктивного віку: 1 – центральна артерія; 2 – періартеріальна ділянка; 3 – світлий центр; 4 – мантіїна ділянка; 5 – крайова ділянка. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб.: об. $\times 20$, ок. $\times 7$

Серед клітинних елементів у світлих центрах переважають малі, середні та великі лімфоцити (рис. 2, таблиця).

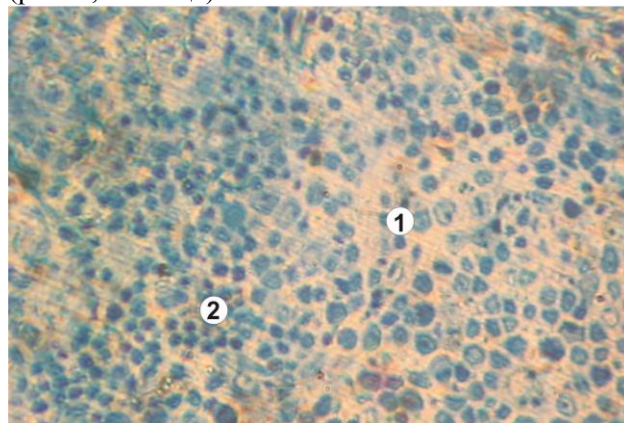


Рис. 2. Фрагмент лімфоїдного вузлика білої пульпи селезінки білого щура-самця репродуктивного віку у нормі: 1 – світлий центр; 2 – малі лімфоцити. Півтонкий зріз. Забарвлення метиленовим синім. Зб.: об. $\times 20$, ок. $\times 10$

Встановлено, що після антигенної стимуляції організму “Імуноглобуліном людини нормальним” упродовж одного місяця відбуваються фазові зміни щільності клітинних елементів світлих центрів лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки безпородних білих щурів-самців репродуктивного віку (див. табл. 1; рис. 3).

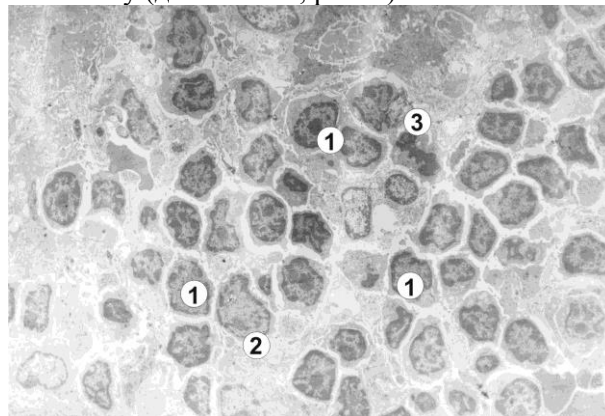


Рис. 3. Фрагмент білої пульпи селезінки білого щура-самця репродуктивного віку через 7 діб після антигенної стимуляції. Збільшується кількість малих лімфоцитів (1) і середніх лімфоцитів (2); дві клітини в стадії мітозу (3). Електронна мікрофотографія. Збільшення $\times 2500$

Як видно з таблиці 1, малих лімфоцитів у світлих центрах лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки інтактних тварин у нормі є найбільше. Вже через одну добу після дії антигена щільність цих клітин збільшується на 4,2%. Через 7 діб після введення антигену щільність малих лімфоцитів становить $8,63 \pm 0,28$, що більше на 12,1% від контрольної групи тварин. Через 14 діб після вве-

Зміни щільності клітинних елементів світлих центрів лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки щурів-самців репродуктивного віку на площі 625 мкм² після стимуляції організму “Імуноглобуліном людини нормальним”

Тип клітини	Термін спостереження, щільність клітин (M±L)					
	контроль	1 доба	3 доби	7 діб	14 діб	30 діб
Малі лімфоцити	7,53±0,41	7,87±0,22	7,89±0,33	8,63±0,28	8,27±0,27	7,72±0,39
Середні лімфоцити	1,43±0,19	1,69±0,08	1,94±0,11	2,30±0,43	1,82±0,11	1,46±0,08
Великі лімфоцити	0,55±0,05	0,50±0,06	0,67±0,04	0,87±0,09	0,62±0,08	0,52±0,08
Плазмоцити	-	-	0,01±0,01	0,09±0,01	0,04±0,01	-
Макрофаги	-	-	0,01±0,01	0,11±0,03	0,06±0,03	0,02±0,01

дення антигена щільність малих лімфоцитів дещо зменшується, а через 1 місяць знову зростає на 3,2% – до 7,72±0,39. Щільність середніх лімфоцитів порівняно з малими майже у 6 разів менша, але фазові зміни щільності цих клітин поступово зростають, досягають максимальних величин через 7 діб, а через 1 місяць коливаються в межах контрольних величин і становить відповідно 2,30±0,43 і 1,46±0,08.

Великі лімфоцити у білій пульпі селезінки білих щурів-самців репродуктивного віку переважно зосереджені у світлих центрах лімфоїдних вузликів.

Через одну добу після дії антигена щільність великих лімфоцитів у світлому центрі лімфоїдних вузликів дещо зменшується. Максимальне вірогідне зростання щільності великих лімфоцитів у цій ділянці лімфоїдних вузликів відзначено через сім діб після антигенної стимуляції організму. Щільність цих клітин збільшується у 1,6 раза – до 0,87±0,09; потім кількість цих клітин поступово зменшується і через місяць щільність великих лімфоцитів у світлому центрі коливається в межах величин інтактних тварин.

Плазмоцитів і макрофагів у світлих центрах лімфоїдних вузликів у нормі не багато. Зростати щільність цих клітин починає на 3 добу після вве-

дення антигена і становить 0,01±0,01, досягає максимальних величин на 7 добу відповідно 0,09±0,04, а макрофагів – 0,11±0,03. Через 1 місяць щільність цих клітин коливається в межах контрольних величин.

Висновки. 1. Світлі центри лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки безпородних білих щурів-самців мають чітку і добре виражену структуру і складаються переважно з малих, середніх та великих лімфоцитів, макрофагів, плазмоцитів. 2. Введення антигена викликає фазові зміни щільності цих клітин упродовж місяця з максимумом через 7 діб після антигенної стимуляції організму. У цей період щільність малих лімфоцитів збільшується на 12,01%, середніх – на 1,73%, великих – майже у 2 рази. Також у цей період спостерігається найбільша щільність плазмоцитів і макрофагів, їх щільність на площі 625 мкм² становить відповідно 0,09±0,04 і 0,11±0,03. 3. Через 1 місяць після антигенної стимуляції організму показники щільності імуннокомпетентних клітин коливаються в межах контрольних величин.

Перспективи подальших досліджень. Проводити експериментальні дослідження щодо динаміки змін клітинних елементів інших органів імунної системи.

Список використаної літератури

1. Гербут А.О. Характеристика щільності клітинних елементів структурних компонентів білої пульпи селезінки у статевонезрілих білих щурів-самців після антигенної стимуляції в експерименті / А.О. Гербут // *Клін. анатом. та оператив. хірург.* – 2007. – Т. 6, № 1 – С. 56-58.
2. Волошин М.А. Морфологія дендритних клітин плаценти щурів протягом третього періоду вагітності / М.А. Волошин, О.Г. Куц // *Ж. АМН України.* – 2007. – Т. 13, № 2. – С. 327-336.
3. Бобрышева И.В. Морфологическая реактивность селезенки крыс различных возрастных периодов при иммуностимуляции / И.В. Бобрышева // *Ж. клін. та експеримент. мед. досліджень.* – 2013. – Т.1, № 3. – С. 315-321.
4. Стефанов С.Б. Морфометрическая сетка случайного шага как средство ускоренного измерения элементов морфогенеза / С.Б. Стефанов // *Цитология.* – 1974. – Т. 25, № 6. – С. 785-787.
5. Волошин В.М. Вивчення інгалаційного впливу епіхлоргідрину на органометричні показники селезінки статевозрілих щурів / В.М. Волошин // *Таврический мед.-биол. вестн.* – 2012. – Т. 15, № 1(57). – С. 54-56.
6. Development and Application of three dimensional light IEEE / G. Yoon, A.J. Welch, M. Motamedi [et al.] // *J. quantum electronics.* – 2009. – №. 5 – P. 1721-1733.
7. Сапин М.Р. Лимфатическая система как важнейшая часть иммунной системы / М.Р. Сапин // *Морфология.* – 2000. – Т. 117, № 3. – С.106-108.
8. Штепа С.Ю.

Ультрамикроскопические изменения белой пульпы селезенки белых крыс-самцов после введения циклофосфана / С.Ю. Штепа // Укр. морфолог. альманах. – 2008. – Т. 6, № 1. – С. 179-181. 9. Abe E. Differentiation-inducing factor purified from conditioned medium of mitogen-treated spleen cell cultures stimulates bone resorption / E. Abe, H. Tanaka // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2012. – V. 83, № 5 – P. 958-962.

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ПЛОТНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ЦЕНТРОВ РАЗМНОЖЕНИЯ ЛИМФОИДНЫХ УЗЕЛКОВ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС-САМЦОВ РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА НА ПРОТЕЖЕНИИ МЕСЯЦА ПОСЛЕ АНТИГЕННОЙ СТИМУЛЯЦИИ ОРГАНИЗМА

Резюме. Исследованы изменения плотности малых, средних и больших лимфоцитов, плазмацитов и макрофагов у центрах размножения лимфоидных узелков селезенки беспородных белых крыс-самцов репродуктивного возраста на протяжении одного месяца после антигенной стимуляции организма “Имуноглобулином человека нормальным”.

Ключевые слова: селезенка, центр размножения, лимфоциты, крысы-самцы.

THE DYNAMICS OF CHANGES IN THE DENSITY OF THE CELLULAR ELEMENTS IN THE REPRODUCTIVE CENTRES OF LYMPHOID NODULES IN THE SPLEEN OF MALE RATS IN THEIR REPRODUCTIVE AGE DURING MONTH AFTER ANTIGENIC STIMULATION OF THE BODY

Abstract. The density changes of small, medium and large lymphocytes, plasmocytes and macrophages have been investigated in the centers of lymphoid nodules in the spleen of albino male rats in the reproductive age during one month after antigenic stimulation of the body by means of “Normal human Immunoglobulin”.

Key words: spleen, reproduction center, lymphocytes, male rats.

Uzhgorod National University (Uzhgorod)

Надійшла 23.04.2015 р.
Рецензент – проф. Давиденко І.С. (Чернівці)