

УДК 57.085:[599.323.452:591.438]
DOI: 10.24061/1727-0847.24.4.2025.64

О. Г. Куш, Д. В. Кучеров

Кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини Запорізького національного університету, м. Запоріжжя

ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ ЛІМФОЇДНОЇ ТКАНИНИ, АСОЦІЙОВАНОЇ З ЖИРОВОЮ ТКАНИНОЮ ОСЕРДЯ ЩУРІВ В НОРМІ

Резюме. Серцево-судинні захворювання знаходяться на першому місці серед причин смертності в Україні. Важливу роль у їхньому виникненні відіграють негативні «надбання» прогресу: гіподинамія, збільшення калорійності харчових продуктів, хронічний стрес. Ці фактори викликають неухильний ріст артеріальної гіпертензії, ожиріння, дисліпідемії та цукрового діабету. Звичайно причиною є запалення з боку жирової тканини осердя. Тому актуальним є питання дослідження лімфоїдної тканини, асоційованою з жировою тканиною осердя FALC в нормі порівняно з патологією. За результатами дослідження отримані наступні результати: у щурів в нормі в осерді FALC (fat-associated lymphoid clusters) представлена представлена лімфоцитами, що розташовані дифузно і скупчення з 10-12 клітин. Кількість лімфоцитів на 1000 мкм² становить $23,15 \pm 1,33$. До складу FALC входять B-SBA⁺-лімфоцити, їх кількість становить $11,03 \pm 0,1$ клітин на 1000 мкм². Компонентом FALC (лімфоїдна тканина, асоційована з жировою тканиною) є SBA⁺, tmx⁺-стовбурові клітини, кількість яких становить $2,50 \pm 0,01$ на 1000 мкм².

Ключові слова: серцево-судинна система, осердя, щури, лімфоцити, лектини.

Нині дослідження жирового депо і його лімфоїдного компоненту, саме, осердя, що пов'язане з кардіометаболічним захворюванням, залишається до кінця не вивченим. Накопичення адипоцитів навколо артерій в осерді може сприяти патогенезу атеросклерозу в судині [1]. Атеросклероз – це хронічне запальне захворювання, що ініціюється відкладенням ліпідів в артерії, подальшим окисленням та утворенням неоантигенів, що сприяють інфільтрації імунними клітинами та запаленню [2]. В-лімфоцити є важливими імунними клітинами, що регулюють розвиток атеросклерозу, і це було широко розглянуто багатьма вченими [3].

З літературних джерел відомо, що в місцях запалення виявляли макрофаги, Т-лімфоцити, дендритні клітини, природні клітини-кілери, нейтрофіли та В-лімфоцити у бляшках. В-лімфоцити в жировій тканині навколо артерій виявлено не лише у мишей [4]. З'ясовано, що жирова тканина коронарної артерії людини містить FALC (fat-associated lymphoid clusters), які включають В-лімфоцити і Т-лімфоцити [5]. Причому домінуючою є субпопуляція В₁-лімфоцитів. Крім того, В₁-лімфоцити мають однакову частку В_{1a} та В_{1b}-лімфоцитів, що здатні виробляти антитіла IgM у депо жирової тканини [6]. Дані результати свідчать про те, що, жирова тканина навколо судин може значною мірою захищати судини від запаль-

них неоантигенів, забезпечуючи захисні антитіла Ig M. Однак цей захист, ймовірно, залежить від балансу рівнів захисних IgM та запальних адипокінів, що виробляються жировою тканиною під час гіперліпідемічних або метаболічно нездорових станів, таких як ожиріння. Отже, вони можуть модулювати інсулінорезистентність та запалення в тканині судин осердя. Схоже, що корисний баланс між захисними IgM, що виробляються лімфоїдною тканиною, асоційованою з жировою тканиною FALC, та шкідливими медіаторами є критично важливим для атеропротекції. Тому, в імуноморфологічних експериментальних дослідженнях важливо з'ясувати кількісні показники чисельності В₁-лімфоцитів на умовну одиницю площі осердя, що є інноваційним вкладом у вивчення даної наукової проблеми.

Для розуміння патологічного процесу атеросклерозу судин осердя, важливо дослідити особливості будови лімфоїдного компоненту осердя, а саме представництво В-лімфоцитів в осерді, на тваринах в нормі. Окрему увагу привертають В₁-лімфоцити. В₁-лімфоцити походять з кісткового мозку, але на відміну від звичайних (В₂) лімфоцитів, які дозрівають у кістковому мозку та печінці, В₁-клітини починають формуватися в ембріональному періоді в печінці, а потім оновлюються самостійно і довго живуть у серозних порожнинах, ви-

робляючи природні IgM-антитіла, що є важливою ланкою між вродженим та набутим імунітетом. Ці клітини є самовідновлюваними та довгоживучими, знаходяться переважно в порожнинах тіла (серозних оболонках, а саме і в осерді), а не в традиційних лімфоїдних органах [7].

Щоб пролити світло на наявність B_1 -лімфоцитів в осерді, була поставлена мета виявити B_1 -лімфоцити і стовбурові клітини В-субпопуляції лімфоцитів в осерді методом лектинові гістохімії, що є новизною дослідження.

Крім того, з попередніх робіт відомо, що в ранній плаценті є SBA^+ -стовбурові клітини, які є попередниками B_1 -лімфоцитів, що виникають на ранніх стадіях ембріогенезу, походять з аорто-гонадо-мезонефросного регіону [8]. Чи є подібні SBA^+ -стовбурові клітини в серозній оболонці – осердя, дорослих організмів, стало задачею даного дослідження.

Мета дослідження: встановити особливості будови лімфоїдної тканини, асоційованої з жировою тканиною осердя щурів в нормі.

Матеріал і методи. Об'єкт і методи дослідження тварин, що були відібрані мали здоровий вигляд, не мали попередніх травм, пошкоджень. Евтаназія відібраних до експерименту тварин відбувалась за методом передозування парами хлороформу.

Дослідження проведено з дотриманням біоетичних норм згідно основних положень Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», Директиви ЄС про захист тварин, що використовуються з науковою метою № 63 (від 22.09.2010 р.), наказів МОЗ України № 944 від 14.12.2009 р. та МОН України № 249 від 01.03.2012 р.

Під час дослідження було використано такі методи як препарування, гістологічний метод, мікроскопічний, фотографування. Виготовлялися плівкові препарати, які фарбувалися нативно гематоксиліном та еозином.

Забір плівкових препаратів осердя здійснювався за допомогою скляної палички, покритої дезінфікованим нітриловим матеріалом для покращення зчеплення досліджуваної тканини з інструментом. Взятий матеріал був розділений на шматочки, розміром $1,0 \times 1,0$ см², що закріплювалися на предметному склі дезінфікованою безворсовою ниткою для подальшої фіксації та фарбування.

Для фарбування гематоксиліном і еозином використовували гематоксилін Карацци впродовж 15 хв, а також 1% водний розчин еозину впродовж 1 хв. Пофарбовані препарати занурювали в середовище гліцерин-желатину.

Другу групу забраного для дослідження матеріалу фіксували у 10% розчині формальдегіду для проведення лектингістохімічного методу.

Для кількісного і якісного вивчення лімфоцитів осердя використовуючи морфометричну сітку С. Б. Стефанова, підраховували загальну кількість лімфоцитів. Для виявлення стовбурових клітин і В-лімфоцитів – кон'югатом лектин сої-пероксидаза хрину (SBA-HRP) [9, 10].

Препарат тамоксифен вводився тваринам згідно інструкції, з перерахуванням на масу тіла тварин.

Статистична обробка отриманих числових результатів проводилася методами варіаційного і кореляційного аналізів з використанням таблиць С. Б. Стрелкова.

Достовірність різниці між групами оцінювали за методом Ст'юдента-Фішера для порогу вірогідності результатів не менше 95%, що є загальноприйнятою в біологічних і медичних розрахунках ($p < 0,05$).

Результати дослідження та їх обговорення.

При мікроскопії плівкових препаратів осердя, пофарбованих гематоксиліном та еозином виявлялися скупчення лімфоцитів з 10-12 клітин. Лімфоцити діаметром 5-7 мкм, деякі з них, зі значною кількістю ексцентричної базофільної цитоплазми і ядром в центрі – діаметром 1-2 мкм, з чого можливо зробити висновок, що це плазматичні клітини. Плазматичні клітини, можуть бути і B_1 - і B_2 -лімфоцитарного походження, але беручи до уваги тенденцію до міграції окремих субпопуляцій В-лімфоцитів, передбачається, що це може бути, переважно B_1 -лімфоцитарна популяція. Одночасно, з ними виявляються лімфоцити малого і середнього діаметру (рис. 1).

Для виявлення В- SBA^+ -лімфоцитів використано лектингістохімічний метод. У результаті отримано картину мічених бензидином лімфоцитів, що розташовані дифузно, або утворюють невеликі скупчення з 5-6 клітин. Порівняно із загальною оглядовою мікроскопією їх в 2 рази менше, від загальної кількості лімфоцитів у полі зору (рис. 2).

Дослідження SBA^+ -стовбурових клітин з мітками тамоксифену показало, що їх кількість незначна в полі зору порівняно із загальною кількістю лімфоцитів і з кількістю В- SBA^+ -лімфоцитів. Вони мають розміри 6-7 мкм, ядро розмірами 2-3 мкм. Частіше, клітини – неправильної форми. Не виключно, що це саме стовбурові клітини В1-лімфоцитарної популяції лімфоцитів, що здатна себе само підтримувати в епітеліальному середовищі, ціломічного походження, впродовж життя організму (рис. 3, таблиця).

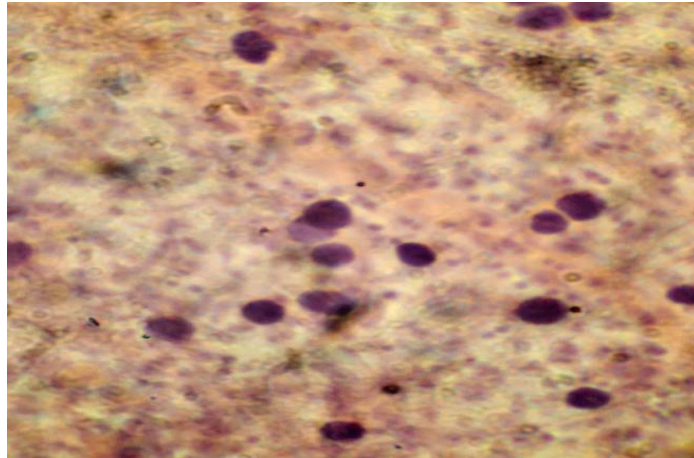


Рис. 1. Скупчення лімфоцитів в осерді статевозрілих щурів в нормі. Фарбування гематоксиліном та еозином. 10x100. Плівчастий препарат. Занурення в гліцерин-желатин

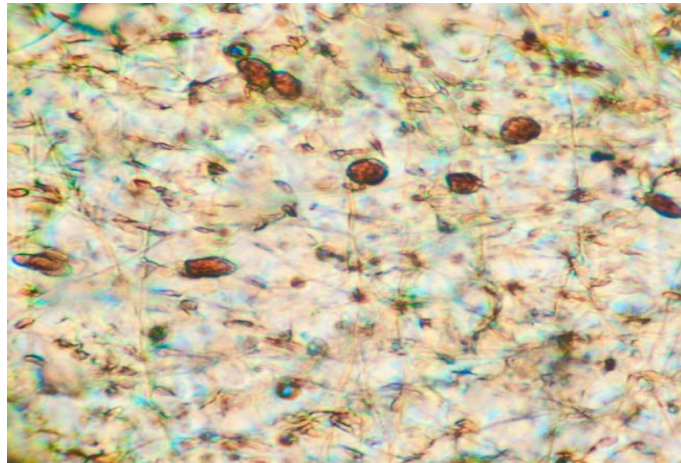


Рис. 2. Скупчення SBA+B-лімфоцитів в осерді статевозрілих щурів в нормі. Фарбування гематоксиліном та еозином. 10x100. Плівчастий препарат. Занурення в гліцерин-желатин

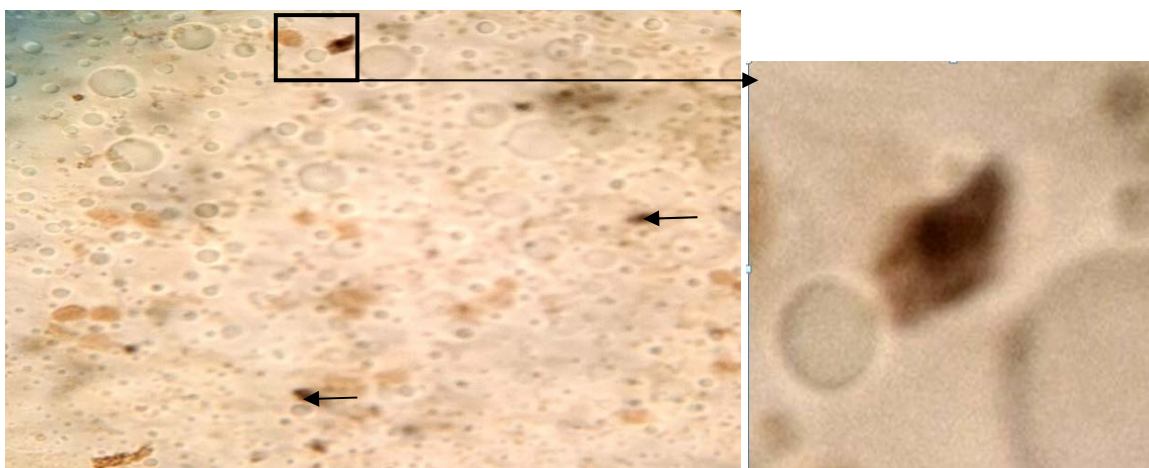


Рис. 3. Виявлення стовбурових клітин методом лектинової гістохімії (використання лектину сої) і тамаксифену в осерді серця статевозрілих щурів в нормі. а) 10x40; б) 10x100, зомт 10. Плівчастий препарат. Занурення в гліцерин-желатин

Загальна кількість лімфоцитів, чисельність B-SBA⁺-лімфоцитів і кількість SBA⁺-стовбурових клітин на 1000 мкм² осердя щурів в нормі

Лімфоцити	Загальна кількість лімфоцитів	Кількість B-SBA ⁺ -лімфоцитів	Кількість SBA ⁺ , tmx ⁺ -стовбурових клітин
Кількість	23,15±1,33	11,03±0,1	2,50±0,01

За отриманими результатами, вперше отримано результати, про загальну кількість лімфоцитів на умовну одиницю площі осердя, що доповнює уявлення про особливості будови лімфоїдної тканини, асоційованої зі серозними оболонками, а саме осердям. Дані результати буде покладено в процес вивчення механізму патологічного процесу розвитку кардіоатеросклерозу, як імунологічного компонента.

Для дослідження стовбурових клітин використано введення тамаксифену тваринам прижиттєво, по накопиченню препарату вибірково в стовбурових клітинах, можливо діагностувати дану категорію клітин [8].

Отже, не дивлячись на те, що було проведено багато досліджень для характеристики фенотипічних, онтогенетичних і функціональних профілей B₁-лімфоцитів, необхідно продовжити роботу по вивченню взаємодій B₁-лімфоцитів з клітинним мікрооточенням для розуміння механізму запального процесу при атеросклерозі [11]. Для оцінки морфофункціонального стану популяції B₁-лімфоцитів стане в нагоді дослідження антигенвуглеводного профілю мембранних рецепторів даної популя-

ції B-лімфоцитів, а саме виявлення на цитоплазматичній мембрані даних клітин вуглеводних залишків імуноглобулінової природи, що є лігандами до лектину сої. Даний аспект розширює уявлення про особливості будови і функціонування неспецифічної вродженої гуморальної ланки імунітету.

Висновки. 1. У щурів в нормі в осерді FALC (лімфоїдна тканина, асоційована з жировою тканиною) представлена лімфоцитами, що розташовані дифузно і скупчення з 10-12 клітин. Кількість лімфоцитів на 1000мкм² становить 23,15±1,33. 2. До складу FALC (лімфоїдної тканини, асоційованої з жировою тканиною) входять B-SBA⁺-лімфоцити, їх кількість становить 11,03±0,1 клітин на 1000 мкм². 3. Компонентом FALC (лімфоїдна тканина, асоційована з жировою тканиною) є SBA⁺, tmx⁺-стовбурові клітини, кількість яких становить 2,50±0,01 на 1000 мкм².

Перспективи подальших досліджень. Передбачається дослідити стовбурові клітини B-лімфоїдного ряду і B1-лімфоцити в осерді імуноцитохімічним методом. А також, провести експеримент з моделювання морфофункціонального стану жирового і лімфоїдного компонента осердя.

Список використаної літератури

1. Omar A, Chatterjee TK, Tang Y, Hui DY, Weintraub NL. Proinflammatory phenotype of perivascular adipocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014 Aug;34(8):1631-6. doi: 10.1161/ATVBAHA.114.303030.
2. Libby P. The changing landscape of atherosclerosis. *Nature.* 2021 Apr;592(7855):524-33. doi: 10.1038/s41586-021-03392-8.
3. Pattarabanjird T, Li C, McNamara C. B Cells in Atherosclerosis: Mechanisms and Potential Clinical Applications. *JACC Basic Transl Sci.* 2021 Jun 28;6(6):546-63. doi: 10.1016/j.jacbs.2021.01.006.
4. Fernandez DM, Rahman AH, Fernandez NF, Chudnovskiy A, Amir ED, Amadori L, et al. Single-cell immune landscape of human atherosclerotic plaques. *Nat Med.* 2019 Oct;25(10):1576-88. doi: 10.1038/s41591-019-0590-4.
5. Srikakulapu P, Upadhye A, Drago F, Perry HM, Bontha SV, McSkimming C, Marshall MA, et al. Chemokine Receptor-6 Promotes B-1 Cell Trafficking to Perivascular Adipose Tissue, Local IgM Production and Atheroprotection. *Front Immunol.* 2021 Feb 19;12:636013. doi: 10.3389/fimmu.2021.636013.
6. Srikakulapu P, Upadhye A, Rosenfeld SM, Marshall MA, McSkimming C, Hickman AW, et al. Perivascular Adipose Tissue Harbors Atheroprotective IgM-Producing B Cells. *Front Physiol.* 2017 Sep 22;8:719. doi: 10.3389/fphys.2017.00719.
7. Mattos MS, Vandendriessche S, Waisman A, Marques PE. The immunology of B-1 cells: from development to aging. *Immun Ageing.* 2024 Aug 2;21(1):54. doi: 10.1186/s12979-024-00455-y.
8. Куц ОГ, Злобіна ОВ. Лектингістохімічна характеристика лімфоїдної тканини, асоційованої з плодовою частиною плаценти, наприкінці першого періоду вагітності у щурів. *Запорозж. мед. журн.* 2012;(3):89-91.

9. Woods KE, Grant S, Yanovich S, Gewirtz DA. Variable effects of tamoxifen on human hematopoietic progenitor cell growth and sensitivity to doxorubicin. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1994;33(6):509-14. doi: 10.1007/BF00686510.
10. Reisner Y, Pahwa S, Chiao JW, Sharon N, Evans RL, Good RA. Separation of antibody helper and antibody suppressor human T cells by using soybean agglutinin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1980 Nov;77(11):6778-82. doi: 10.1073/pnas.77.11.6778.
11. Meher AK, McNamara CA. B-1 lymphocytes in adipose tissue as innate modulators of inflammation linked to cardiometabolic disease. *Immunol Rev.* 2024 Jul;324(1):95-103. doi: 10.1111/imr.13342.

References

1. Omar A, Chatterjee TK, Tang Y, Hui DY, Weintraub NL. Proinflammatory phenotype of perivascular adipocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014 Aug;34(8):1631-6. doi: 10.1161/ATVBAHA.114.303030.
2. Libby P. The changing landscape of atherosclerosis. *Nature.* 2021 Apr;592(7855):524-33. doi: 10.1038/s41586-021-03392-8.
3. Pattarabanjird T, Li C, McNamara C. B Cells in Atherosclerosis: Mechanisms and Potential Clinical Applications. *JACC Basic Transl Sci.* 2021 Jun 28;6(6):546-63. doi: 10.1016/j.jacbts.2021.01.006.
4. Fernandez DM, Rahman AH, Fernandez NF, Chudnovskiy A, Amir ED, Amadori L, et al. Single-cell immune landscape of human atherosclerotic plaques. *Nat Med.* 2019 Oct;25(10):1576-1588. doi: 10.1038/s41591-019-0590-4.
5. Srikakulapu P, Upadhye A, Drago F, Perry HM, Bontha SV, McSkimming C, Marshall MA, et al. Chemokine Receptor-6 Promotes B-1 Cell Trafficking to Perivascular Adipose Tissue, Local IgM Production and Atheroprotection. *Front Immunol.* 2021 Feb 19;12:636013. doi: 10.3389/fimmu.2021.636013.
6. Srikakulapu P, Upadhye A, Rosenfeld SM, Marshall MA, McSkimming C, Hickman AW, et al. Perivascular Adipose Tissue Harbors Atheroprotective IgM-Producing B Cells. *Front Physiol.* 2017 Sep 22;8:719. doi: 10.3389/fphys.2017.00719.
7. Mattos MS, Vandendriessche S, Waisman A, Marques PE. The immunology of B-1 cells: from development to aging. *Immun Ageing.* 2024 Aug 2;21(1):54. doi: 10.1186/s12979-024-00455-y.
8. Kushch OH, Zlobina OV. Lektynhistokhimichna kharakterystyka limfoidnoyi tkanyny, asotsiyovanoyi z plodovoyu chastynoyu platsenty, naprykintsi pershoho periodu vahitnosti u shchuriv. *Zaporozh. med. zhurn.* 2012;(3):89-91. [in Ukrainian].
9. Woods KE, Grant S, Yanovich S, Gewirtz DA. Variable effects of tamoxifen on human hematopoietic progenitor cell growth and sensitivity to doxorubicin. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1994;33(6):509-14. doi: 10.1007/BF00686510.
10. Reisner Y, Pahwa S, Chiao JW, Sharon N, Evans RL, Good RA. Separation of antibody helper and antibody suppressor human T cells by using soybean agglutinin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1980 Nov;77(11):6778-82. doi: 10.1073/pnas.77.11.6778.
11. Meher AK, McNamara CA. B-1 lymphocytes in adipose tissue as innate modulators of inflammation linked to cardiometabolic disease. *Immunol Rev.* 2024 Jul;324(1):95-103. doi: 10.1111/imr.13342.

FEATURES OF THE STRUCTURE OF LYMPHOID TISSUE ASSOCIATED WITH FATTY TISSUE OF THE CARDIAC OF RATS IN NORMAL

Abstract. Cardiovascular diseases are in the first place among the causes of mortality in Ukraine. An important role in their occurrence is played by negative «gains» of progress: hypodynamia, increased calorie content of food products, chronic stress. These factors cause a steady increase in arterial hypertension, obesity, dyslipidemia and diabetes mellitus. Usually, the cause is inflammation from the fatty tissue of the heart. Therefore, the issue of studying lymphoid tissue associated with fatty tissue of the heart FALC in normal conditions is relevant for comparison with pathology.

According to the results of the study, the following results were obtained: in rats in the heart FALC (fat-associated lymphoid clusters) is represented by lymphocytes that are located diffusely and clusters of 10-12 cells.

The number of lymphocytes per 1000 μm^2 is 23.15 ± 1.33 . FALC includes B-SBA⁺ lymphocytes, their number is 11.03 ± 0.1 cells per 1000 μm^2 .

The component of FALC (lymphoid tissue associated with adipose tissue) is SBA⁺, tmx⁺ stem cells, the number of which is 2.50 ± 0.01 per 1000 μm^2 .

Key words: cardiovascular system, medulla, rats, lymphocytes, lectins.

Відомості про авторів:

Куш Оксана Георгіївна – доктор біологічних наук, професор кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини Запорізького національного університету, м. Запоріжжя, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3827-3752>;

Кучеров Д. В. – випускник (магістр) освітньої програми «Біологія. Біохімія» кафедри фізіології, імунології та біохімії з курсом цивільного захисту та медицини, Запорізький національний університет, Запоріжжя, Україна.

Information about the authors:

Kushch Oksana Georgiivna – Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Physiology, Immunology and Biochemistry with a course in Civil Defense and Medicine, Zaporizhzhia National University, Zaporizhzhia, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3827-3752>;

Kuchеров D. V. – Graduate (master's degree) of the education program «Biology. Biochemistry» department of Physiology, Immunology and Biochemistry with a course in Civil Protection and Medicine, Zaporizhzhia National University, Zaporizhzhia, Ukraine.

Надійшла 12.11.2025 р.