

УДК 611.41:615.37

С.А. Іваненко, М.В. Золотаревська
Луганський державний медичний університет, г. Луганськ

ОРГАНОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕЛЕЗЕНКИ БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ИМ ЦИКЛОФОСФАНА И ИМУНОФАНА

В эксперименте были выявлены органомерические изменения строения селезенки белых крыс-самцов различного возраста после однократного введения циклофосфана и имунофана по схеме. Выявленные отличия морфологических показателей от контрольных указывают на высокую реактивность селезенки в ответ на действие иммуноотропных препаратов.

Ключевые слова: крысы, селезенка, органомерия, циклофосфан, имунофан.

Проведенное экспериментальное исследование является составной частью научно-исследовательской темы кафедры гистологии, цитологии, эмбриологии «Особенности строения органов иммунной, эндокринной и нервной систем под действием экзогенных факторов» (номер государственной регистрации 0106U006009).

В настоящее время, в связи с ухудшением экологической обстановки за счет накопления в воздухе ксенобиотиков и других вредных выбросов химической, металлургической и угледобывающей промышленности, происходят изменения в системе иммунитета человеческого организма с формированием вторичных иммунодефицитных состояний [1, 2, 5, 8]. Поэтому огромный интерес врачей различных специальностей вызывают лекарственные иммуноотропные методы воздействия на организм, способные модулировать иммунные реакции. К лекарственным веществам, обладающим иммунокорректирующими свойствами (иммуномодуляторам), относится имунофан - синтетический гексапептидный препарат нового, четвертого поколения, гомолог тимопоэтина. Клиническая эффективность имунофана основывается на его способности частично или полностью восстанавливать показатели Т-клеточного, фагоцитарного, гуморального противовирусного и антибактериального иммунитета, нормализовать продукцию промедиаторов воспаления и иммунитета, обеспечивать коррекцию окислительно-антиокислительной системы и уровня липидного обмена организма [4, 7].

Селезенка является важным периферическим органом иммунной системы, обеспечивающим иммунный ответ, в ней происходит антигензависимая пролиферация и дифференцировка иммунокомпетентных клеток, обеспечивающих обезвреживание антигенов [1, 2, 3, 5, 6]. В научной литературе широко освещены вопросы влияния экзогенных и эндогенных факторов на структуру и функционирование иммунных органов, однако, морфологическое строение селезенки в условиях воздействия иммуноотропных препаратов изучено мало, что обуславливает актуальность наших исследований.

Целью работы было изучение органомерических показателей селезенки половозрелых и неполовозрелых крыс при иммуносупрессии, индуцированной применением циклофосфана, и иммунокорректирующем воздействии имунофана.

Материал и методы исследования. Эксперимент проведен на 72 половозрелых с начальной массой 130-150 г и 72 неполовозрелых белых крысах-самцах с начальной массой 40-45 г. Животные были разделены на 4 группы по 12 крыс, в каждой группе по 2 подгруппы. Крысам 1 группы вводили циклофосфан однократно внутримышечно 200 мг/кг массы тела. Животным 2 группы вводили имунофан 50 мкг/кг массы тела внутримышечно по схеме на 1, 3, 5, 7, 9 сутки. Крысам 3 группы вводили циклофосфан однократно внутримышечно 200 мг/кг массы тела, затем производили иммунокоррекцию имунофаном 50 мкг/кг массы тела на 1, 3, 5, 7, 9 сут. 4 группа - контрольные (интактные) животные.

Животные выводились из эксперимента методом декапитации под эфирным наркозом через 7, 30 и 90 дней после окончания введения препаратов. Селезенку извлекали из брюшной полости, взвешивали на торсионных весах, измеряли размеры с помощью штангенциркуля (рис.1 а, б, в). Для статистической обработки полученных данных использовали программу «Statistica 6.0». Оценку статистической значимости различий между показателями контрольной и экспериментальных групп определяли с помощью критерия Стьюдента ($p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение. Масса селезенки у интактных половозрелых животных на протяжении всех сроков наблюдения увеличивается от 1106,67±2,88 мг до 1195±7,18 мг, у интактных неполовозрелых крыс - от 731,33±12,83 мг до 964±4,13мг (табл.1). В 1 группе среди половозрелых животных, получавших циклофосфан, масса селезенки уменьшается на протяжении 7,30,90 суток наблюдения: на 37,15% (7 сутки), 26,22% (30 сутки), 11,36% (90 сутки) ниже контрольных показателей соответственно.

Среди неполовозрелых животных данной группы также отмечается уменьшение массы селезенки: на 8,92%, 3,65%, 0,3% меньше массы селезенки контрольных крыс соответственно. Следовательно, данный показатель наиболее отличается от контрольных значений на 7 сутки наблюдения.

Во 2 группе животных среди половозрелых крыс наблюдается резкое уменьшение массы селезенки до 901,5±4,21 мг в ранние сроки наблюдения (7 сутки), что ниже контрольных показателей на 24,56%. Затем отмечается постепенное увеличение массы селезенки, на 90 сутки она приближается к показателям интактных крыс. Неполовозрелые крысы, получавшие имунофан, реагируют на введение препарата также снижением

массы селезенки на 7 сутки наблюдения на 27,6% в сравнении с показателями контрольных животных. Затем наблюдается постепенное увеличение массы селезенки, однако показатели меньше соответствующих контрольных на 27,53% (30 сутки) и 14,9% (90 сутки). Таким образом, полученные данные массы органа наиболее отличаются от контрольных значений на 7 и 30 сутки наблюдения.

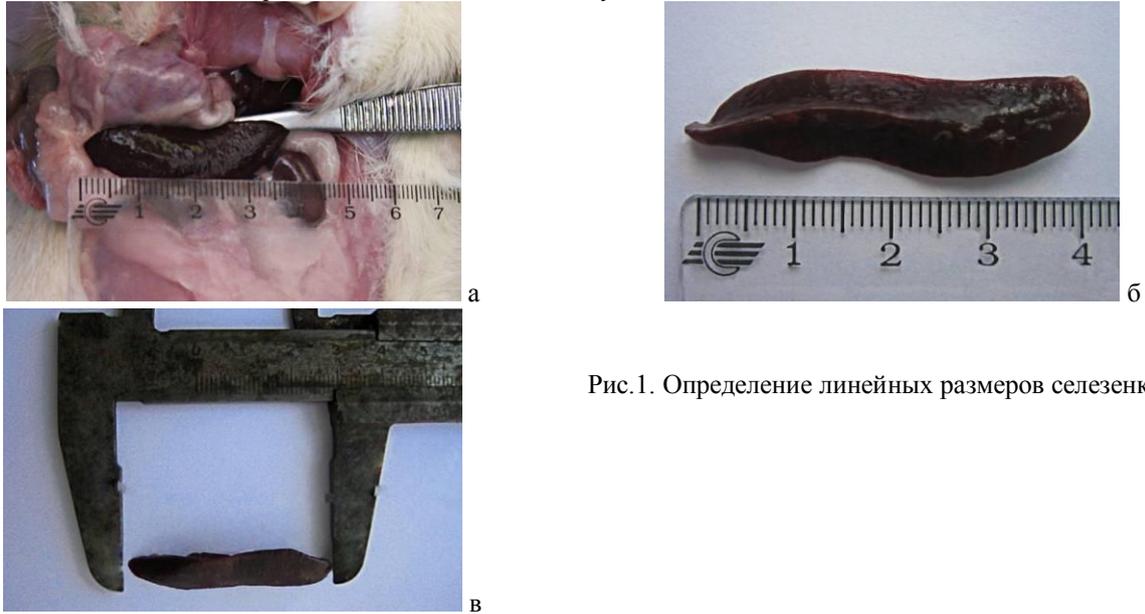


Рис.1. Определение линейных размеров селезенки.

Таблица 1

Масса селезенки белых крыс-самцов (мг) на различных этапах исследования (M±m, n=144)

Возраст животных	Срок наблюдения (сутки)	1 группа (циклофосфан)	2 группа (имунофан)	3 группа (циклофосфан и имунофан)	4 группа (контрольные)
Половозрелые	7	751,01±7,95*	901,5±4,21	1092,67±7,21	1106,67±2,88
	30	836,83±2,13*	985,16±4,37*	1135,33±5,76	1134,17±4,09
	90	981±15,23	1097,17±9,89	1079,5±11,33	1195±7,18
Неполовозрелые	7	729,17±4,32	529,5±12,59	823,67±14,77	731,33±12,83
	30	769,5±6,71	578,83±2,55*	973,33±5,58*	798,67±5,36
	90	878±3,77	820,33±5,31*	1058,67±10,65	964±4,13

Примечание: * - различия с контрольной группой статистически значимые (p<0,05).

Среди половозрелых животных 3 группы масса селезенки на 7 и 30 сутки наблюдения близка по значению с показателями контрольных крыс. В поздние сроки наблюдения масса селезенки возрастает и превышает нормальные показания на 9,67%. Масса селезенки неполовозрелых крыс из 3 группы на 7 и 30 сутки наблюдения на 12,63% и 21,87% больше массы органа контрольных животных соответственно. Затем отмечается уменьшение данного показателя на 90 сутки, однако он превышает соответствующие значения массы селезенки животных контрольной группы на 8,94%. Следовательно, показатели массы селезенки в группе неполовозрелых животных наиболее отличаются от контрольных значений на 30 сутки наблюдения и не отличаются от них при всех сроках наблюдения среди половозрелых крыс. Линейные размеры селезенки коррелировали с изменениями массы органа (табл.2,3).

Таблица 2

Линейные размеры селезенки половозрелых крыс-самцов (мм) на различных этапах исследования (M±m, n=72)

№ группы и воздействие	Срок наблюдения (сутки)	Длина (мм)	Ширина (мм)	Толщина (мм)
1 группа (циклофосфан)	7	35,67±0,56	7,33±0,34	3,95±0,12
	30	37,06±0,32	7,08±0,25	3,88±0,09
	90	38,95±0,55	8,11±0,54	4,06±0,23
2 группа (имунофан)	7	35,53±0,18	7,02±0,32	4,28±0,22
	30	38,33±0,39	7,35±0,24	3,65±0,19
	90	40,63±0,77	8,17±0,35	4,15±0,24
3 группа (циклофосфан и имунофан)	7	44,42±0,15*	9,25±0,34	5,17±0,38
	30	42,15±0,21	8,67±0,53	2,93±0,38
	90	44,25±1,17	9,07±0,44	5,07±0,29
4 группа (контрольные)	7	37,77±0,75	7,25±0,2	4,41±0,25
	30	39,84±0,45	7,14±0,33	3,75±0,11
	90	40,22±0,78	8,18±0,22	4,23±0,16

Примечание: * - различия с контрольной группой статистически значимые (p<0,05).

Линейные размеры селезенки неполовозрелых крыс-самцов (мм) на различных этапах исследования (M±m, n=72)

№ группы и воздействие	Срок наблюдения (сутки)	Длина (мм)	Ширина (мм)	Толщина (мм)
1 группа (циклофосфан)	7	26,54±0,54	5,73±0,17	2,47±0,09
	30	31,67±0,65	5,88±0,15	3,27±0,08
	90	35,47±0,75	6,58±0,18	4,08±0,17
2 группа (имунофан)	7	23,03±0,42	5,07±0,08	2,38±0,12
	30	27,85±0,78	5,35±0,37	2,58±0,18
	90	35,44±0,82	6,97±0,33	3,92±0,25
3 группа (циклофосфан и имунофан)	7	39,75±0,25*	8,33±0,51	3,67±0,33
	30	43±0,18*	9,08±0,17*	3,65±0,27
	90	35,5±0,22	9,83±0,21	4,33±0,21
4 группа (контрольные)	7	25,25±0,64	5,43±0,28	2,42±0,08
	30	33,14±0,76	5,91±0,16	3,25±0,14
	90	26,54±0,54	5,73±0,17	2,47±0,09

Примечание: * - различия с контрольной группой статистически значимые (p<0,05).

Выводы

1. Селезенка активно реагирует на воздействие иммунотропных препаратов. Введение циклофосфана вызывает снижение массы и линейных размеров селезенки половозрелых и неполовозрелых крыс в сравнении с интактными животными, особенно выраженное в ранние сроки наблюдения, что может быть связано с его иммуносупрессорным воздействием.
2. Применение имунофана у половозрелых крыс приводит к уменьшению массы и линейных размеров селезенки в сравнении с интактными животными, однако данные показатели превышают значения после иммуносупрессорного воздействия циклофосфана на всех сроках наблюдения.
3. Применение имунофана у неполовозрелых животных приводит к значительному снижению массы и линейных размеров селезенки в сравнении с контрольной группой в ранние сроки наблюдения. Исследуемые параметры при всех сроках наблюдения ниже данных, полученных после воздействия циклофосфана. Следовательно, неполовозрелые животные проявляют более выраженную реакцию на введение имунофана, чем половозрелые крысы.
4. Введение имунофана половозрелым крысам на фоне иммуносупрессии, вызванной воздействием циклофосфана, вызывает нормализацию органометрических показателей селезенки, что указывает на иммуномодулирующий эффект имунофана.
5. Совместное введение циклофосфана и имунофана неполовозрелым крысам вызывает увеличение массы и размеров селезенки при всех сроках наблюдения, поэтому можно сделать вывод о высокой реактивности иммунной системы неполовозрелых животных на воздействие иммунотропных препаратов.

Полученные данные вызывают интерес для дальнейшего изучения морфологических особенностей строения селезенки белых крыс при иммуносупрессии, вызванной циклофосфаном, и иммуномодулирующем воздействии имунофана, что будет отражено в последующих публикациях.

Литература

1. Кашенко С.А. Особенности строения вилочковой железы и селезенки крыс после введения им циклофосфана / С.А. Кашенко // Проблемы екологічної та медичної генетики і клінічної імунології : Зб. наук. праць – 2003. - №3 (49). - С. 62-75.
2. Кашенко С.А. Морфологические особенности строения периферических органов иммуногенеза и рост костей крыс после тимэктомии / С.А. Кашенко // Роль імунної, ендокринної та нервової систем в процесах морфогенезу та регенерації : Науково-практична конференція морфологів : Мат. конф. Вип. XI. – Запоріжжя. - 2003. – С. 81-87.
3. Клименко Н.А. Морфофункциональное состояние селезенки в динамике хронического иммунного воспаления / Н.А. Клименко, С.В. Татарко, И.В. Сорокина // Експериментальна і клінічна медицина. - 2009. -№1. - С. 35-38.
4. Лебедев В.В. Имунофан - синтетический пептидный препарат нового поколения: иммунологические и патогенетические аспекты клинического применения / В.В. Лебедев // Имунологія. - 1999. - №1. - С. 25-30.
5. Стаценко Е.А. Органометрические показатели строения селезенки крыс при введении им гидрокортизона и бисфосфоната «Зомета» в различные возрастные периоды / Е.А. Стаценко // Український морфологічний альманах. - 2009. - Т.7, №3. - С. 84-87.
6. Шапкин Ю.Г. Селезенка и иммунный статус организма / Ю.Г. Шапкин, В.В. Масляков // Вестник хирургии. - 2009. -Т.168, №2. - С.110-113.
7. Ясеновий С.П. Досвід застосування препарату імунофан у монотерапії хворих на гепатит С / С.П. Ясеновий, В.І. Матяш, В.Б. Шевчук // Нова медицина. - 2004. - №6(17). - С. 40-41.
8. Хаитов Р.М. Физиология иммунной системы / Хаитов Р.М. // Рос. физиолог. журн. им. И.М. Сеченова. - 2000. - Т.86, №3. - С. 252-267.

Реферат

**ОРГАНОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ СЕЛЕЗІНКИ
БІЛИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ ЇМ
ЦИКЛОФОСФАНУ ТА ІМУНОФАНУ**

Кашенко С.А., Золотаревська М.В.

В експерименті були виявлені органомеричні зміни будови селезінки білих щурів-самців різного віку після одноразового введення циклофосфану та імунофану за схемою. Виявлені відмінності морфологічних показників від контрольних вказують на високу реактивність селезінки у відповідь на дію імунотропних препаратів.

Ключові слова: щури, селезінка, органомерія, циклофосфан, імунофан.

Стаття надійшла 4.10.10 р.

**THE ORGANOMETRIC PARAMETERS OF
WHITE RATS' SPLEEN AFTER INJECTIONS OF
CYCLOPHOSPHANUM AND IMUNOFANUM**

Kashchenko S.A., Zolotarevskaya M.V.

The organomethric changes of the structure of the white rats males spleen of the different ages have been investigated after injections of the cyclophosphanum one time and imunofanum from scheme. Finding changes of the morphological parameters from control show on the high reactivity of the spleen under influence immune drugs.

Key words: rats, spleen, organomethric, cyclophosphanum, imunofanum.

УДК 612.017.1:616-092.9

С.А. Кашенко, Е.Н. Морозова

Луганський державний медичний університет, м. Луганськ

**ВЫЯВЛЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ЛИМФОИДНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ
ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ ОКРАСКЕ НАТИВНОГО ПРЕПАРАТА**

Изучены морфологические особенности лимфоидных образований тонкой кишки при окраске нативных препаратов. Результаты после воздействия натуральных соков вишни и черной смородины позволяют визуализировать лимфатические узелки на фоне меняющейся окраски тонкой кишки.

Ключевые слова: пейеровы бляшки, тонкая кишка, вишневый сок, сок черной смородины.

Работа является частью научно-исследовательской темы кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ЛуГМУ «Особливості будови деяких органів імунної, ендокринної та нервової систем під впливом екзогенних чинників», Государственный регистрационный номер 0106U006009.

Большинство вопросов патогенеза, клиники, лечения и профилактики заболеваний связаны с состоянием иммунной системы. Данные литературы показывают, что вопросы резервных возможностей лимфоидных органов при обеспечении иммунного гомеостаза организма остаются открытыми в связи с неполными сведениями об их количестве, топографии и морфологической характеристике [5]. Организм постоянно контактирует с окружающей средой, поэтому на пути огромного потока антигенов из внешней среды важной линией защиты являются слизистые оболочки, где ведущую роль выполняет иммунный аппарат тонкой кишки, который является местом контакта со многими сапрофитами, патогенными микроорганизмами и токсинами. Иммунный аппарат тонкой кишки представлен скоплениями и одиночными лимфатическими узелками, которые расположены на противоположном крае брыжейки. Скопления, включающие более 5 лимфатических узелков, Д. С. Конерс (1987) считает пейеровой бляшкой [6]. В разные возрастные периоды и при патологических состояниях организма соотношение одиночных и групповых лимфатических узелков изменяется. В практической деятельности при подсчете лимфатических узелков на нативном препарате морфологи встречаются с рядом сложностей, так как данные образования в свежем препарате недостаточно отчетливо видны. Поэтому для выявления лимфатических узелков нами был предложен экспресс-метод визуализации, который занимает незначительное время, прост и экономически дешев при использовании. В обычной практике морфологи для этой цели пользуются гистологическими методами, которые требуют длительного времени, связанного с изготовлением постоянного гистологического препарата и его окраской.

Учитывая отсутствие данных об использовании экспресс-метода нативной окраски для выявления лимфатических узелков пейеровых бляшек, а так же то, что на долю иммунного аппарата тонкой кишки приходится 60-70% от всей иммунной ткани нашего организма,

Целью работы была разработка способа экспресс выявления иммунного аппарата тонкой кишки красящими веществами соков вишни и черной смородины [4].

Материал и методы исследования. Исследование проводили на 12 белых беспородных крысах-самцах репродуктивного периода молодого возраста массой 250-280 г. Содержание, уход за животными осуществляли согласно закону Украины «Про захист тварин від жорсткого поводження» от 21.02.2006 р., № 3447, положениям Европейского научного сообщества «Использование животных в исследованиях», (2000) [3]. Перед проведением исследования были приготовлены соки из свежих плодов вишни и черной смородины, химические параметры которые соответствовали ГОСТу Р 53137-2008 (табл. 1) [1].