

УДК:611.41:618.36-001.18-089.843

В.І. Шелітько, В.В. Калити, К.В. Шопітько  
ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Поділля

## ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНИХ ЕЛЕМЕНТІВ СЕЛЕЗИНКИ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ

Стаття присвячена питанням вивчення впливу підшкірної трансплантації кріоконсервованої плаценти на морфофункціональний стан структурних елементів селезінки. Зміни клітинного складу лімфатичних вузликів селезінки та судин гемомікроциркуляторного плинину в ранні строки дослідження обумовлені реакцією лімфоїдної тканини на дію біологічно активних речовин.

**Ключові слова:** кріоконсервована плацента, трансплантація, селезінка, лімфатичні вузлики.

*Робота є фрагментом науково-дослідної роботи: «Експериментально-морфологічне вивчення дії трансплантатів кріоконсервованої плаценти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів», номер держреєстрації 0108U001572.*

Плацента - це комора біологічно активних речовин і всіх будівельних матеріалів для мільйонів видів білків людини. У тканинах плаценти відбувається синтез білка, вітамінів, гормонів, ферментів, нуклеїнових кислот та інших біологічно активних речовин, зокрема безліч антитіл. Всі ці речовини визначають життєздатність і стійкість організму до хвороб і шкідливих дій зовнішнього середовища, тобто імунітет. Тому, її введення викликає реакцію з боку представників клітинного імунітету, а згодом, для нейтралізації антигенами клітинних залишків [1-3, 6].

В даний час отримані переконливі докази того, що ефективність застосування ембріофетоплацентарних алло- і ксеногенних клітин і тканин обумовлена не тільки відновленням цими тканинами втраченої функції гомологічного органа, але й регулюючим впливом на функцію ушкодженого органа комплексом біологічно активних речовин, які продукуються донорським матеріалом [1, 2, 5, 6].

**Метою** роботи було встановлення реакції структурних елементів селезінки на трансплантацію кріоконсервованої плаценти.

**Матеріал та методи дослідження.** Робота виконана на 50 статевозрілих щурах-самцях лінії „Вістар”. Матеріалом дослідження були селезінки щурів. Тварини були розподілені на групи: перша група – контрольна (5 щурів), другій групі (10 щурів) - одноразово проведена трансплантація кріоконсервованої плаценти [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. Евтаназію тварин проводили шляхом передозування тіопенталового наркозу. Матеріал фіксували в 2,5 % розчині глютарового альдегіду на фосфатному буфері протягом доби при температурі +4°C, після відмивання у фосфатному буфері обробляли згідно правил, прийнятих в електронній мікроскопії, та заключали в ЕПОН-812 [4]. Напівтонкі зрізи виготовляли на ультрамікротомі УМТП-7 і забарвлювали розчином толуйдинового синього та поліхромним методом Унна [4]. Дослідження проводили за допомогою світлового мікроскопа „Carl Zeiss” та окуляр-мікрометра МОВ-1-15<sup>х</sup>. Мікрофотографування здійснювали за допомогою мікроскопа фірми “BIOREX” з адаптованим пакетом програм для фотографування. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми Excel.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Встановлення динаміки змін клітинного складу структурно-функціональних елементів селезінки, а саме лімфатичних вузликів, дає нам змогу вивчити механізм відповіді органів лімфоїдної системи на підшкірне введення кріоконсервованої плаценти, оцінити характер відповіді на надходження антигенів до організму, швидкість функціонального відновлення селезінки для активного функціонування. При вивченні нами напівтонких зрізів селезінки після трансплантації кріоконсервованої плаценти людини були виявлені наступні зміни. На 2 добу маса селезінки була збільшена до 3,69±0,12 г при  $p < 0,01$  порівняно до контрольних показників. Лімфатичні вузлики селезінки щурів мали морфологічні ознаки активації, що проявлялось появою світлих реактивних центрів, збільшенням кількості мітотичних фігур, які визначались переважно в периферичних відділах вузликів.

Середній діаметр лімфатичних вузликів склав - 0,48±0,09 мм при  $p < 0,05$  в порівнянні з контрольною групою тварин. Спостерігалось розширення центральних артерій лімфатичних вузликів селезінки (порівняно з показниками контрольної групи), які були заповнені кров'ю (рис.1). При вивченні структури капілярів селезінки на 2 добу спостереження нами було встановлено, що ендотелій був сплюснений, стінка капіляра більш тонша. Виявлені морфологічні ознаки можуть свідчити про зміни гідравлічного тиску в судинному руслі і в оточуючій тканині і підвищенні проникності судинної стінки (рис.2). Периаартеріальна зона була збільшена, товщина її в середньому становила - 105,34±1,02 при  $p < 0,001$  в порівнянні з контрольними показниками. Вивчаючи кількість клітинних елементів цієї зони встановлено, що фракція малих лімфоцитів мала тенденцію до збільшення, але статистично достовірного збільшення нами встановлено не було, в порівнянні з контрольною групою тварин. Кількість середніх лімфоцитів залишалась в межах показників контрольної групи. Значно, порівняно з контролем, знизилась кількість ретикулярних клітин і макрофагів; більш, ніж вдвічі, підвищилась кількість фагоцитів.

За 2-ї доби експерименту в досліджуваній групі в два рази збільшилась кількість мастоцитів, які розміщувались групами або поодинокі. Вони переважно знаходились в безпосередній близькості до мікросудин (рис.2). Тучні клітини визначались в вузликах у вигляді клітин округлої форми з численними включеннями у вигляді хмарок. Насиченість гранулами була різною. Більшість мастоцитів знаходились в стадії дегрануляції - поряд з клітинами, що містили багато оптичнощільних базофільних гранул в цитоплазмі, визначались напівпорожні і поодинокі тучні клітини з морфологічними ознаками повної дегрануляції (рис.2).

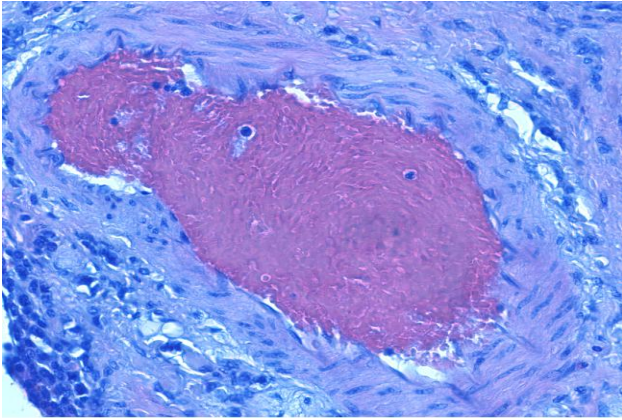


Рис.1. Розширена центральна селезінки на 2-у добу після трансплантації кріоконсервованої плаценти. Напівтонкий зріз. Заб. поліхромним барвником Унна. 36.х900.

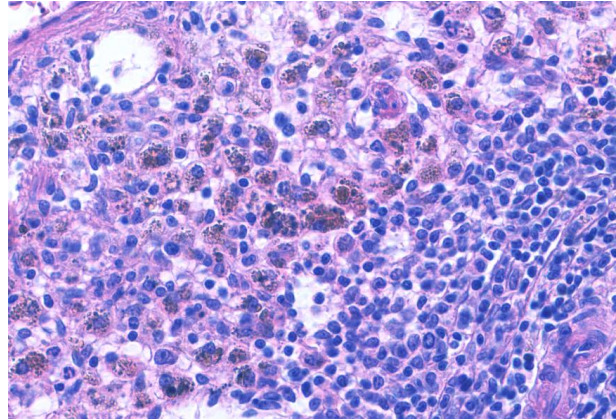


Рис.2. Тучні клітини через 2 доби після трансплантації кріоконсервованої плаценти. Напівтонкий зріз. Заб. поліхромним барвником Унна. 36.х600.

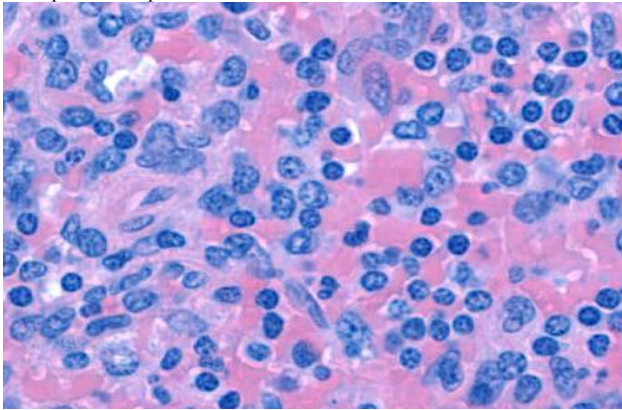


Рис.3. Плазмоцити і фагоцити в складі лімфатичного вузла селезінки щура через 2 доби після трансплантації кріоконсервованої плаценти. Напівтонкий зріз. Заб. поліхромним барвником Унна. 36.х900.

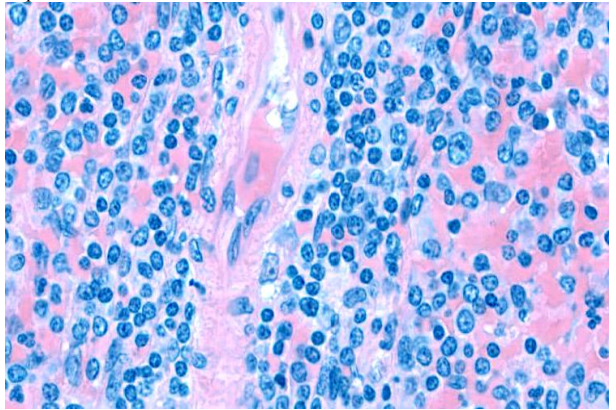


Рис.4. Тучні клітини на 5-му добу після трансплантації кріоконсервованої плаценти. Напівтонкий зріз. Заб. поліхромним барвником Унна. 36.х600.

На нашу думку, надходження в лімфатичні вузлики селезінки біологічно активних речовин з тканин кріоконсервованої плаценти і обумовило активну участь судинного компоненту лімфатичних вузликів селезінки в формуванні реакції на антигенну стимуляцію. 2-а доба експерименту характеризувалась також максимальними значеннями кількості плазмоцитів і мітозів, що є морфологічною ознакою активної імунної відповіді, які при введенні кріоконсервованої плаценти є більш активними в ранні строки після початку експерименту. Також нами було встановлено статистично достовірне наростаюче збільшення діаметрів гермінативних центрів до  $150,01 \pm 2,01$  мкм при  $p < 0,05$  в порівнянні з контрольною групою тварин. При вивченні нами показників мантийної та крайової зон статистично достовірних змін нами встановлено не було, але кількість лімфоцитів збільшена порівняно з контрольною групою тварин. В структурі червоної пульпи селезінки на другу добу спостереження нами було встановлено значні зміни в судинах гемомікроциркуляторного русла. Просвіти судин були заповнені плазмою крові середньої оптичної щільності ближче до центру з вакуолеподібними просвітленнями по периферії. Кількість формених елементів на поперечних перерізах мікросудин була незначною – вони переважно містили плазму.

Навколо посткапілярів і венул визначались морфологічні ознаки набряку. Шар ендотеліоцитів був суцільним, базальна мембрана визначалась на всьому протязі. На 2 добу спостереження після введення кріоконсервованої плаценти нами відмічена незначна активація мастоцитів, з їх частковою дегрануляцією. Зі сторони лімфоцитів виявлена тенденція до збільшення кількості клітин в периферичних зонах лімфатичних вузликів селезінки, до міграції через стінки гемомікросудин, що і забезпечує нормальний перебіг відповіді імунної системи на антигенну стимуляцію. При вивченні маси селезінки на 5-у добу спостереження, нами встановлено статистично достовірне збільшення маси селезінки щурів, яка становила в середньому –  $3,98 \pm 0,23$  г, при  $p < 0,05$  в порівнянні з контрольною групою тварин. В дослідженні нами було встановлено, що в структурі білої пульпи селезінки після введення кріоконсервованої плаценти на 5 добу спостереження виявлялись процеси активації антигензалежної проліферації (середній діаметр вузликів збільшився до

0,53±0,06 мм, що є статистично достовірно при  $p < 0,05$  в порівнянні з контрольною групою тварин) і диференціювання імуніцитів, що проявлялось наростаючим збільшенням товщини периферичних зон лімфатичних вузликів селезінки. Зміни спостерігались в судинах гемомікроциркуляторного русла і на 5 добу спостереження. Просвіти судин були заповнені плазмою. Кількість формених елементів на поперечних перерізах мікросудин була значно збільшеною. Навколо них визначались морфологічні ознаки набряку. Шар ендотеліоцитів був суцільним, клітини були сплюснені, базальна мембрана визначалась на всьому протязі. Нами була визначена активізація міграції лімфоцитів через стінки гемомікросудин. Периаеріальна зона вузликів збільшена до  $109,54 \pm 1,55$  мкм при  $p < 0,001$  в порівнянні з контрольною групою тварин. В структурі цієї зони збільшилась кількість мастоцитів, порівняно з попереднім терміном в 2 рази, всі вони були округлої форми, що є свідченням майже повної екструзії секреторних гранул. Тучні клітини розміщувались переважно в безпосередній близькості до мікросудин з тонкою стінкою і сплюсненими ендотеліоцитами (рис.4).

Мантійна зона мала такі показники -  $53,22 \pm 1,01$  мкм при  $p < 0,05$  в порівнянні з контрольною групою тварин. В крайовій зоні виявлялось наростаюче збільшення клітинних елементів крові з пропорційним збільшенням цієї зони, порівняно з попередніми термінами та контрольною групою; так, товщина цієї зони становила -  $92,03 \pm 0,67$  мкм, при  $p < 0,05$  в порівнянні з показниками контрольної групи. Діаметр гермінативного центру становив  $155,30 \pm 2,98$  мкм при  $p < 0,001$  в порівнянні з контрольною групою тварин. При дослідженні селезінки на 7 добу нами встановлено достовірне збільшення маси селезінки з попередніми термінами та показниками контрольної групи ( $4,12 \pm 0,21$  г при  $p < 0,05$ ). Мікроскопічно біла пульпа збільшена, діаметри лімфатичних вузликів в середньому становили  $0,59 \pm 0,16$  мкм, що є статистично достовірне при  $p < 0,05$  порівнюючи з показниками контролю. Сьома доба спостереження характеризувалась наростаючою диференціацією, яка проявлялась збільшеною концентрацією середніх лімфоцитів. Кількість малих лімфоцитів на 7 добу спостереження лімфатичних вузликів селезінки щурів мали мінімальні значення в порівнянні зі всіма строками експериментальної моделі з підшкірною трансплантацією плаценти, а кількість середніх лімфоцитів продовжувала збільшуватись.

#### Дискусія

Вивчення змін клітинного складу селезінки щурів після введення кріоконсервованої плаценти виявило, що остання викликає активну відповідь з боку структурних компонентів селезінки в ранні строки спостереження (2-7 доба), що на наш погляд, обумовлене дією біологічно активних речовин, які входять до складу плаценти і сприяють прискоренню формування і реалізації імунних реакцій.

#### Література

1. Грищенко В.І. Використання кріоконсервованої плаценти в лікувальній практиці / Грищенко В.І., Прокопюк О.С., Шепітько В.І. // Трансплантологія. – 2002. – Т. 3, № 2. – С. 32-37.
2. Грищенко В.І. Достижения и перспективы развития клеточной и тканевой терапии / Грищенко В.І. // Межд. медицинский журнал. – 1999. – Т. 5, № 4. – С. 6-10.
3. Грищенко В.І. Трансплантация продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения / Грищенко В.І., Гольцев А.Н. // Проблемы криобиологии. – 2002. – № 1. – С. 54-85.
4. Гольцев А.Н. Відповідь лімфогемopoетичної системи організму на введення продуктів фетоплацентарного комплексу / Гольцев А.Н., Останкова Л.В., Луценко Є.Д. // Проблеми криобіології. – 2002. - №2. - с.15-31.
5. Гольцев А.М. Корекція ембріофетоплацентарними препаратами лімфогемopoетичного комплексу при детермінованому розвитку патології, обумовленому старінням організму / Гольцев А.М., Дубравса Т.Г., Луценко Є.Д. // Сб. тезів Міжнародного симпозіуму „Біологічні механізми старіння”. – 2002. – с.86.
6. Карупу В.Я. Электронная микроскопия. / Карупу В.Я. // Київ: Вища школа. Головное вид-во. - 1984. - с 208.

#### Резюме

#### ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ СЕЛЕЗЕНКИ НА ТРАНСПЛАНТАЦИЮ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ ПЛАЦЕНТЫ

Шепітько В.І., Кацай В.В., Шепітько К.В.

Статья посвящена вопросам изучения влияния подкожной трансплантации кріоконсервированной плаценты на морфофункциональное состояние структурных элементов селезенки. Изменения клеточного состава лимфатических узелков селезенки и сосудов гемомікроциркуляторного русла в ранние сроки исследования обусловлены реакцией лимфоидной ткани на действие биологически активных веществ.

Ключевые слова: кріоконсервированная плацента, трансплантация, селезенка, лимфатические узелки.

Стаття надійшла 8.02.2011 р.

#### DESCRIPTION OF STRUCTURAL ELEMENTS OF SPLEEN ON TRANSPLANTATION OF CRYOPRESERVED PLACENTA

Shepitko V.I., Katsai V.V., Shepitko K.V.

The paper represents the effect of subcutaneous cryopreserved placenta on the morphofunctional state of spleens structural elements. The changes of cellular structure of spleens lymph nodes and vessels of the early terms of research are conditioned the reaction of Lymphoid tissues on the action of bioactive matters.

Key words: cryopreserved placenta, transplantation, lymph nodes, spleen.