

УДК 611.41+616.411:616-097]:57.017.645]-092.9

О.А. Ант

Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя

ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ Т-ЗАЛЕЖНИХ ЗОН СЕЛЕЗІНКИ ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОЇ ДІЇ АНТИГЕНІВ

У роботі вивчені особливості морфогенезу морфофункціональних зон білої пульпи селезінки білих щурів у різні терміни після народження в нормі та після внутрішньочеревного введення антигенів. Встановлено, що процес формування зон білої пульпи має стадійний характер; внутрішньочеревне введення антигенів різної природи призводить до змін в темпах становлення морфофункціональних зон білої пульпи та динаміці їх клітинної популяції. Незалежно від типу антигену після народження спостерігається прискорення формування внутрішньої зони періартеріальних лімфоїдних муфт та стінки центральної артерії.

Ключові слова: селезінка, біла пульпа, періартеріальна лімфоїдна муфта, морфогенез, внутрішньочеревне введення антигенів.

Робота є фрагментом НДР «Лектингістохімічна характеристика морфогенезу органів і тканин в ранньому постнатальному періоді в нормі та експерименті» (№ держреєстрації 0109U003986).

В останні десятиріччя відзначається прогресивне зростання кількості інфекційних та алергічних захворювань у дітей раннього віку, що, безумовно, пов'язане із високою частотою випадків патологічного перебігу вагітності та інфікування вагітних різними антигенами. Окрім факторів зовнішнього середовища, в цьому процесі велике значення відіграють внутрішньоутробні інфекції та порушення функції плаценти, що полегшує інфікування плоду під час вагітності. Таке антигенне навантаження викликає слабкість первинної імунної відповіді у новонароджених, що сприяє розвитку патологічних станів у дітей [5].

Метою роботи було вивчити особливості формування білої пульпи селезінки щурів у ранньому післянатальному періоді в нормі та після внутрішньоутробного введення антигенів різної природи.

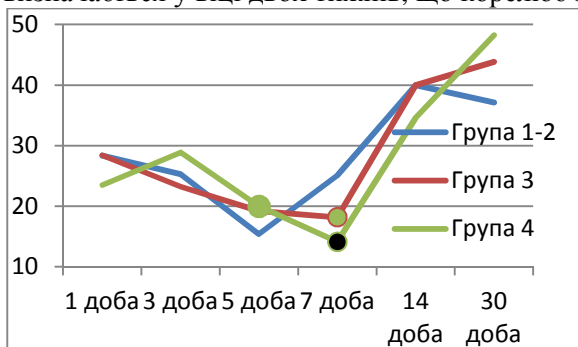
Матеріали та методи дослідження. Об'єктом дослідження була селезінка 168 білих щурів лінії Вістар у віці від 1 до 30 доби післянатального життя. Тварин розподілили на 4 групи: перша – інтактні щури (38); друга (контрольна) - тварини після внутрішньочеревного введення фізіологічного розчину (23); третя - щури, яким внутрішньочеревно вводили імуноглобулін (53); четверта – тварини після пренатального введення вакцини паротиту (54).

Внутрішньочеревне введення фізіологічного розчину та антигенів здійснювали під час лапаротомії, на 18-й добі датованої вагітності, шляхом кризьматочної, кризьоболонкової підшкірної ін'єкції в об'ємі 0,05 мл кожному з плодів за М.А.Волошиним (1981). За антигени обрані: 1- імуноглобулін людини нормальний в дозі 0,165 мг білку; 2- вакцина жива паротитна суха, яку вводили у дозі 25 ГАТЕ50. Забій тварин проводили з 13:00 до 14:00 шляхом декапітації під ефірним наркозом. При роботі з тваринами керувалися «Європейською конвенцією з захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986). Визначали масу селезінки в абсолютних та відносних величинах. Для гістологічного та гістохімічного дослідження шматочки органу фіксували у суміші Буена, а також у 10% нейтральному формаліні. Серійні парафінові зрізи завтовшки 5-6 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозином, та використовувати ШПК- реакцію з дофарбуванням ядер гематоксиліном. На зрізах селезінки вивчали абсолютну та відносну морфофункціональних зон білої пульпи (ПАЛМ, лімфоїдних вузликів, маргінальної зони), елементів строми. У ПАЛМ підраховували відносну кількість малих, середніх та великих лімфоцитів (до цієї групи клітин відносили лімфобласти), ретикулярних клітин, фібробластів та фіброцитів (одна група), макрофагів, тілець Флемінга, плазмочитів та клітин з фігурами мітозу. Обробку отриманих числових результатів проводили за допомогою статистичних методів з використанням комп'ютерної програми Statistica® for Windows 6.1. Порівнювані результати вважали достовірними при $p < 0,05$.

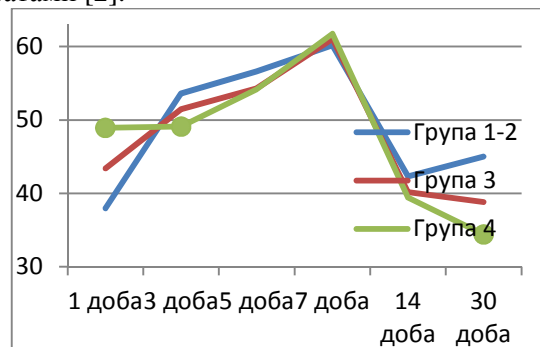
Результати дослідження та їх обговорення. У інтактних новонароджених тварин біла пульпа селезінки представлена ПАЛМ – періартеріальними лімфоїдними муфтами, $85,7 \pm 1,7\%$ яких

мають площу менш, ніж 5000 мкм². Вони складаються з трьох – чотирьох шарів переважно середніх лімфоцитів, відокремлені від червоної пульпи розташованими по периферії фібробластами та колагеновими волокнами, що співпадає з даними інших авторів [6]. У центрі Т-залежної зони визначається артерія, в стінці якої чітко диференціюється тільки внутрішня оболонка. З 3-ї доби життя виявляється маргінальна зона, представлена двома – трьома шарами лімфоцитів, ретикулярних клітин, фібробластів та маргінальним синусом. Відносна площа ПАЛІМ неухильно зростає за рахунок розширення Т-залежних зон та їхнього новоутворення. Абсолютна площа ПАЛІМ збільшується, досягає максимуму на 7-у добу (11802±2816 мкм²), зменшується наприкінці другого тижня (10843±1663 мкм²) та майже не змінюється до 30-ї доби. Зростання площі Т-залежних зон пов'язане з появою великих лімфоїдних муфт на 3-тю добу та збільшення їхньої кількості до 7-ої доби життя. Одночасно, зменшується об'єм ПАЛІМ малих розмірів. Кількість середніх муфт з 3-ї по 30-ту добу майже не змінюється. Закінчення формування стінки центральної артерії відмічається на 5-ту добу. Навколо артерій Т-залежних зон постійно виявляються судини мікроциркуляторного русла, заповнення яких лімфоцитами хвилеподібно змінюється на протязі першого місяця життя.

Для клітинної популяції Т-залежних зон характерне збільшення частки середніх (з 37,96 ± 1,91 до 60,15 ± 1,55%) та зменшення вмісту великих лімфоцитів (з 21,04 ± 1,91% до 9,02 ± 1,04%) до 7-ої доби життя у інтактних тварин. В цьому віці зафіксоване статистично вірогідне падіння відносної кількості ретикулярних клітин фібробластів в ПАЛІМ. З 14-ої доби в Т-залежних зонах селезінки інтактних та контрольних щурів знижується частка середніх лімфоцитів й збільшується вміст лімфоцитів малого діаметру (див. графіки 1-2). Подібні дані наведені в роботі [4], стосовно селезінки людини. Найбільша мітотична активність, відмічена на першу (1,22 ± 0,32%), п'яту (1,20 ± 0,31%) та тридцяту добу життя, що, можливо, є відображення процесу становлення популяції пулу цитотоксичних лімфоцитів в селезінці в цей період [7]. Таким чином, до 5-ї доби у інтактних та контрольних тварин відбувається становлення внутрішньої зони ПАЛІМ. З 5-ї доби виявляються численні лімфоїдні вузлики, що формуються; виникнення гермінативних центрів в них визначається у віці двох тижнів, що корелює з результатами [2].



Графік 1: вміст малих лімфоцитів в ПАЛІМ тварин різних груп (%).



Графік 2: вміст середніх лімфоцитів в ПАЛІМ тварин різних груп (%).

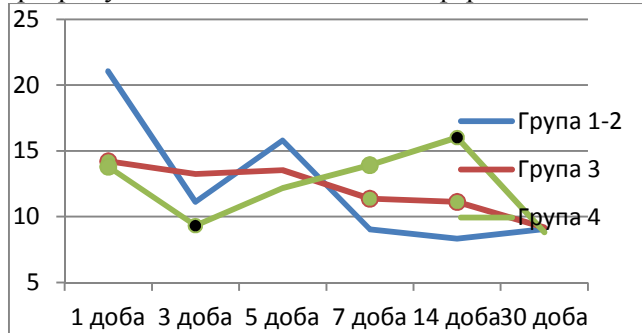
У тварин після внутрішньочеревного введення імуноглобуліну зростає відносна площа білої пульпи за рахунок більш раннього формування маргінальної зони, а також збільшення площі та кількості ПАЛІМ (середня площа Т-залежних зон 3083 ± 801 мкм² та 5876 ± 1132 мкм², відповідно). Максимум абсолютної площі ПАЛІМ у тварин цієї групи, як і у інтактних тварин, відмічається на 7-му добу, на дві доби раніше, ніж у контролі, спостерігається масовий початок утворення лімфоїдних вузликів. В клітинній популяції, в порівнянні з контролем, виявлено більш високий відсотковий вміст лімфоцитів середнього розміру (37,96 ± 1,91% та 14,21 ± 1,14%, відповідно) (графік 2). Протягом перших трьох діб життя відзначено збільшення макрофагоцитарної активності, підвищення кількості клітин з фігурами мітозу. Надалі відмічається прогресивне збільшення площі білої пульпи, яке випереджає її розвиток у інтактних щурів. Швидше, ніж в контролі, поширюється маргінальна зона, формуються лімфоїдні вузлики, в яких на 14-ту добу життя виявляються початкові етапи утворення гермінативних центрів. Абсолютна площа ПАЛІМ досягає максимуму на 5-ту добу (11246 ± 1985 мкм²), потім знижується наприкінці другого тижня (8492 ± 1795 мкм²) й зростає до 30-ї доби життя.

З 3-ї до 14-ї доби склад клітинної популяції ПАЛІМ майже не відрізняється від показників для інтактних тварин. Від 14-ї до 30-ї доби відмічається більш високий вміст лімфоцитів малого діаметру та зниження числа середніх лімфоцитів, в порівнянні з контрольними щурами того ж віку

(на 30-ту добу малих лімфоцитів $37,19 \pm 3,41\%$ та $43,83 \pm 1,95$, середніх лімфоцитів $45,00 \pm 2,99\%$ та $38,83 \pm 2,22\%$, відповідно).

Відносна площа білої пульпи у тварин, яким вводили вакцину паротита, після народження перевищує дані контролю ($1,19 \pm 0,95\%$ і $4,55 \pm 1,64\%$, відповідно) та, надалі, розвивається більш швидкими темпами, ніж у інтактних тварин. У новонароджених щурів даної групи, на відміну від контролю, виявляються великі ПАЛМ, що оточені починаючою своєю формування маргінальною зоною. Т-залежні зони у цих тварин прогресивно збільшуються до 5-ї доби життя. Утворення лімфоїдних вузликів у таких щурів до 3-ї доби життя запізнюється порівняно з контролем та тваринами після антенатального введення імуноглобуліну.

Більш швидкими темпами, ніж у інтактних щурів, іде становлення стінки центральної артерії, усі оболонки якої чітко диференціюються на 5-у добу.



Графік 3: вміст великих лімфоцитів в ПАЛМ тварин різних груп (%).

В клітинній популяції ПАЛМ у новонароджених тварин 4-ї групи виявляється вірогідно більше середніх лімфоцитів ($37,96 \pm 1,91\%$ та $48,96 \pm 2,92\%$, відповідно), ніж у контролі, та менше лімфоцитів великого діаметру, кількість яких нижча на протязі 5 днів життя (графік 2-3). Відразу після народження в ПАЛМ тварин експериментальної групи частіше зустрічаються макрофаги, тільки Флемінга та клітини з фігурами мітозу.

Це може бути пов'язане з прискоренням масового виходу незрілих лімфоцитів з тимусу та їх впливом на формування мікрооточення і стромальних елементів в периферійних лімфоїдних та паренхіматозних органах [1,5]. Надалі, площа білої пульпи у щурів після внутрішньочеревного введення вакцини паротиту збільшується швидше, ніж у інтактних тварин, за рахунок випереджаючого зростання ПАЛМ та маргінальної зони. З 14-ї до 30-ї доби відносна площа лімфоїдних вузликів у тварин даної групи нижча за контроль. Абсолютна площа Т-залежних зон досягає максимуму на 7-й добу, зменшується на 14-й день, значно зростає наприкінці першого місяця життя та є найбільшою серед усіх груп тварин.

З 7-ї до 14-ї доби відмічається збільшення вмісту великих лімфоцитів та зниження кількості лімфоцитів малого діаметру в ПАЛМ тварин після внутрішньочеревного введення вакцини паротиту. На 30-й добу у клітинній популяції Т-зон селезінки цих тварин стає більше лімфоцитів малого діаметру та менше середніх і великих лімфоцитів, порівняно з контролем.

Висновки

1. Динаміка співвідношення білої та червоної пульпи селезінки в ранньому післянатальному періоді онтогенезу характеризується прогресивним зростанням площі білої пульпи до 30-ї доби життя. Формування білої пульпи має стадійний характер. На першій стадії – від моменту народження до п'ятої доби – йде становлення внутрішньої зони ПАЛМ та стінки центральної артерії; на протязі другої стадії – до 14-ї доби формується зовнішня зона ПАЛМ та маргінальна зона, розпочинається утворення лімфоїдних вузликів; третя стадія – з 14-ї доби до 30-ї доби – характеризується завершенням формування лімфоїдних вузликів. Внутрішньочеревний вплив антигенів призводить до збільшення площі білої пульпи після народження та прискорення формування ПАЛМ.
2. Площа та кількість ПАЛМ у інтактних та контрольних щурів збільшується з першої до сьомої доби життя, з наступним зменшенням її абсолютної площі на 14-ий день та стабілізацію розмірів до 30-ї доби. Кількість ПАЛМ малого діаметру хвилеподібно змінюється, обернено пропорційним площі Т-зон та залежить від природи антигену, введеного у внутрішньочеревному періоді. Вміст муфт великих розмірів є прямо пропорційним площі ПАЛМ, і вони виявляються раніше в експерименті.
3. У клітинній популяції ПАЛМ інтактних тварин першого тижня життя, переважно зустрічаються лімфоцити середнього діаметру, кількість яких знижується до 14-ї доби. Внутрішньочеревне введення антигенів призводить до збільшення вмісту малих та середніх лімфоцитів і зниження кількості лімфоцитів великого діаметру у ПАЛМ новонароджених. Протягом першого місяця життя у інтактних та експериментальних тварин динаміка кількості муфт з малим діаметром співпадає зі змінами сумарного вмісту середніх та великих лімфоцитів, а великих ПАЛМ – з динамікою малих та середніх лімфоцитів.

Список літератури

1. Волошин Н.А. Лимфоцит – фактор морфогенеза / Н.А. Волошин // Запорозький медичинський журнал.-2005.-№5.-С.123.
2. Волошин Н.А. Внутриутробная антигенная стимуляция как модель для изучения морфогенеза органов / Н.А. Волошин, Е.А. Григорьева, О.Г. Куш, М.С. Щербаков, М.Б. Вовченко, А.А. Светлицкий, С.В. Чугин // Морфологические ведомости.-2006.-№1-2.-С.57-59.
3. Матвейшина Т.М. Особливості морфогенезу внутрішніх органів щура після внутрішньоутробного впливу інактивованої антивірусної вакцини / Т.М. Матвейшина, О.С.Таланова, Н.В.Грінівецька // Укр. морфологічний альманах. – 2011. – Т.9, №3. – С.180-182.
4. Сапин М.Р. Цитоархитектоника белой пульпы селезенки у людей различного возраста / М.Р. Сапин, Е.Ф. Амбарцумян // Архив АГЭ.-1990.-т.98.-вып.12.-С.5-13.
5. Чугин С.В. Влияние внутриутробного введения антигена на формирование лимфоидной ткани паренхиматозных органов крыс в раннем постнатальном периоде / Чугин С.В., Щербаков М.С., Вовченко М.Б.// Український морфологічний альманах. – 2010. – Т.8. – №2. – С.225-227.
6. Gomariz R.P. Postnatal development of the splenic white pulp in the Golden Hamster Mesocricetus Auratus. The Periarthral Lymphoid Sheath (PALS) / R.P. Gomariz, L. De Cardenas, A. Zapata // Tissue and Cell.-1989.-Vol.21.-N3.-P.403-417.
7. Miller J.F. The discovery of immunological function of the thymus // Immunology Today. – 1991. – Vol.12. – N1. – P.42-44.

Реферати

**ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ Т-ЗАВИСИМЫХ
ЗОН СЕЛЕЗЕНКИ ПОСЛЕ ВНУТРИУТРОБНОГО
ДЕЙСТВИЯ АНТИГЕНОВ**

Арт О.А.

В работе исследованы особенности строения морфофункциональных зон белой пульпы селезенки белых крыс в разные сроки после рождения в норме и после внутриутробной антигенной стимуляции. Установлено, что процесс становления морфофункциональных зон белой пульпы носит стадийный характер. Внутриутробное введение антигенов вызывает изменения в темпах формирования таких зон и динамике их клеточной популяции. Независимо от вида внутриутробно введенного антигена, после рождения наблюдается ускорение формирования внутренней зоны периаартериальных лимфоидных муфт и стенки центральной артерии.

Ключевые слова: селезенка, белая пульпа, периаартериальная лимфоидная муфта, морфогенез, внутриутробное введение антигенов.

Стаття надійшла 15.10.2014 р.

**FEATURES OF T-DEPENDENT ZONE OF SPLEEN
FORMATION AFTER INTRAUTERINE ANTIGENS
INJECTION**

Art O.A.

We studied the structure of the Peculiarities of morphofunctional zones of white pulp of the spleen of white rats at different times after birth in normal and post-natal antigenic stimulation. It was established that the process of becoming morphofunctional zones of white pulp is phasic character. Intrauterine administration of antigens induces changes in the rate of formation of such zones and the dynamics of the cell population. Regardless of the type of antigen administered in utero, after birth observed acceleration of the formation of the inner zone of periarthral lymphoid sleeves and sides of the central artery. **Keywords:** spleen, white pulp, periarthral lymphoid clutch, morphogenesis, intrauterine administration of antigens.

Key words: spleen, white pulp, periarthral lymphoid sheaths, morphogenesis, intrauterine antigens injection.

Рецензент Куш О.Г.

УДК 614.777:543.39:547.42

И. Ю. Багмут

Харьковская медицинская академия последипломного образования, г. Харьков

**ПОДОСТРОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ОЛИГОЭФИРОВ НА ПОКАЗАТЕЛИ НУКЛЕИНОВОГО И
БЕЛКОВОГО ОБМЕНА В ПЕЧЕНИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ**

Олигоэфиры Л-501-2-100, Л-1601-2-50 «Б» и Л-1601-2-50 «Р» в дозе 1/10 LD₅₀ ингибируют синтез белков и нуклеиновых кислот в печени экспериментальных животных, а при дозе 1/100 LD₅₀ усиливают обмены белков и нуклеиновых кислот на фоне значительного напряжения защитно-приспособительных реакций, направленных на усиление восстановительных синтезов и пластической функции печени.

Ключевые слова: ксенобиотики, нуклеиновый и белковый метаболизм, печень, белые крысы.

Изучение биосинтеза белков и нуклеиновых кислот при патологических состояниях и заболеваниях, а также при воздействии на организм вредных антропогенных факторов, в том числе химических, представляет значительный интерес, поскольку именно эти процессы в первую очередь характеризуют степень и глубину функциональных нарушений, определяют уровень репаративных процессов в органах и тканях [1]. Возникновение структурно-метаболических нарушений, по мнению многих авторов, сопряжено с дисфункцией белкового и нуклеинового обменов в печени - основного органа детоксикации [4, 7]. Актуальность изучения патофизиологических механизмов формирования структурно-метаболических нарушений при действии олигоэфиров на организм обусловлена необходимостью обоснования прогноза потенциальной опасности данных соединений для теплокровных животных и человека, разработки патогенетической коррекции метаболических изменений и антидотной терапии. Отсутствие в научной литературе данных о новой группе этих соединений исключает