

УДК 57.021.4:591.441

© Нужная Е.К., Стаценко Е.А., Скрыбина Е.Н., Санькова Л.Ю., Солодкая Е.С., 2011

УЛЬТРАСТРУКТУРА СЕЛЕЗЕНКИ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ БИСФОСФОНАТА «ЗОМЕТА» И ИММУНОСТИМУЛЯТОРА ТИМОГЕНА

Нужная Е.К., Стаценко Е.А., Скрыбина Е.Н., Санькова Л.Ю., Солодкая Е.С.

ГУ «Луганский государственный медицинский университет»

В настоящее время возросло количество иммунологических нарушений среди населения Украины и других стран, которые лежат в основе генеза многих заболеваний [1,3,6,8,9]. Поэтому изучение морфофункционального состояния лимфоидных органов при воздействии на организм различных неблагоприятных факторов в последние годы привлекают пристальное внимание специалистов различных отраслей медицины [2,4,5]. Иммунная защита организма от внешних патогенов и измененных собственных клеток невозможна без слаженно функционирующей клеточной и гуморальной систем иммунитета [7,10].

Связь работы с научными программами, планами, темами: работа является фрагментом НИР Луганского государственного медицинского университета «Особенности морфогенезу кісткової, імунної та ендокринної систем під впливом екологічних чинників» (государственный регистрационный номер 0103U006652).

Целью настоящей работы является определение на электронно-микроскопическом уровне структуры селезенки крыс-самцов при введении бисфосфоната «Зомета» и иммуностимулятора тимогена.

Материалы и методы. Объектом исследования послужила селезенка 36 беспородных белых крыс-самцов репродуктивного возраста со средней массой $210 \pm 0,1$ г. Крысам первой группы вводили бисфосфонат «Зомета» в дозе 0,362 мг/кг внутривенно 1 раз в 30 дней. Крысам второй группы вводили внутривенно иммуностимулятор тимоген в дозировке 0,02 мг. Животных выводили на 7 суток эксперимента в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных».

Немедленно, после извлечения из брюшной полости селезенки, кусочки размером 1 куб. мм погружали в глутаральдегидный фиксатор по Тарновскому на 24 часа. Затем материал перекладывали в 1% тетраоксид осмия по Палладе на 1 час. После дегидратации в этаноле возрастающей концентрации и абсолютном ацетоне, материал заливали смесью эпоксидных смол (эпон-алдидит). Полимеризацию проводили в течение 36 часов при 60°C.

Ультратонкие срезы изготавливали на ультратонкотоме УМТП-4 Сумского ПО «Электрон» (Украина), контрастировали в растворе уранилацетата и цитрате свинца по Рейнольдсу и просматривали в электронном микроскопе.

Результаты и их обсуждение. После ежедневного введения половозрелым крысам бисфосфоната «Зомета» на 7 сутки наблюдения за экспериментальными животными нами установлена следующая ультрамикроскопическая картина. В центре лимфатического узелка белой пулпы видны герминативные центры, в них находятся функционально активные лимфоциты средних размеров. Клеточная мембрана таких лимфоцитов четко выражена, целостность её не нарушена. Ядра лимфоцитов правильной формы, светлые, по периферии ядра расположен конденсированный хроматин, в центре располагается ядрышко зернистой структуры. Расположение гетерохроматина изнутри кариолеммы ядра напоминает расположение цифр на циферблате часов. Вокруг ядра узким ободком находится цитоплазма, в которой идентифицируется разнообразие органелл - это достаточно многочисленные свободные рибосомы и полисомы, овальные митохондрии с хорошо выраженным митохондриальным матриксом, комплекс Гольджи (рис.1). Прослеживаются в этом участке расширенные каналцы гранулярной эндоплазматической сети с цистернами и мешочками. В ряде лимфоцитов этой зоны лимфатического узелка выявлены фигуры митоза. Часто встречаются плазматические клетки правильной овальной формы, с эксцентрично расположенным круглым ядром. Цитоплазма этих клеток содержит развитую гранулярную эндоплазматическую сеть с расширенными каналцами и цистернами (рис. 1). В мантийной зоне лимфатического узелка белой пулпы выявлены лимфоциты, трансформирующиеся в плазматические клетки. Клеточная мембрана этих клеток четкая, цитоплазма объемная с хорошо различимыми органеллами. Ядра имеют округлую форму с участками деконденсированного хроматина в центре ядра. Цитоплазма этих клеток содержит развитую эндоплазматическую сеть с крупными цистернами и каналцами, рибосомы и вакуоли. Митохондрии овальной формы, с расширенными кристами и электроннопрозрачным матриксом. Комплекс Гольджи выражен и представлен расширенными цистернами, вакуолями и мешочками, заполненными электронноплотным содержимым, что свидетельствует о высокой секреторной активности этих клеток (рис. 2). При электронномикроскопическом исследовании мантийной зоны белой пулпы селезенки подопытных животных отмечаются гладкая слабо развитая эндоплазматическая сеть, заполненная веществом белковой природы, ее петли охватывают множественные митохондрии (рис. 2).

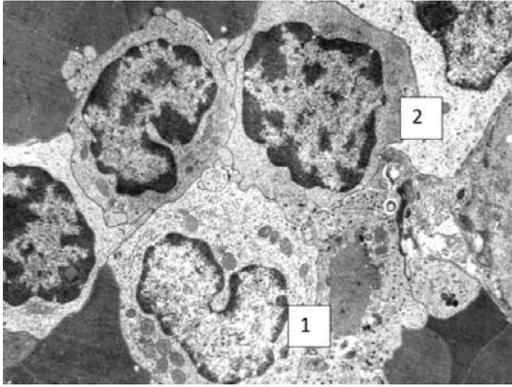


Рис. 1. Ультраструктура герминативного центра крысы, получавших бисфосфонат «Зомета» (7 суток); 1-светлый лимфоцит, 2- темный лимфоцит × 8000.

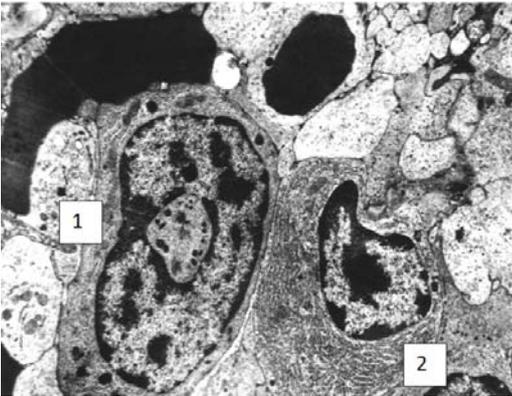


Рис. 2. Ультраструктура мантийной зоны белой пульпы селезенки крысы, получавших бисфосфонат «Зомета»; (7 суток); 1-лимфоцит, 2-плазмоцит × 8000.

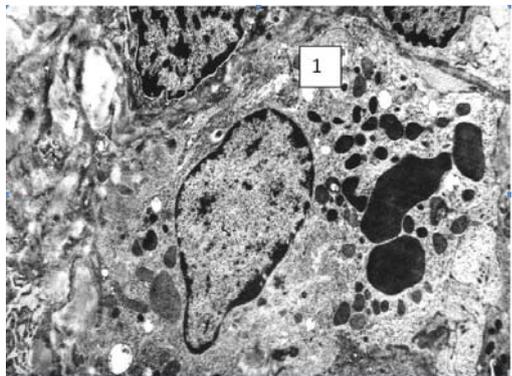


Рис. 3. Ультраструктура макрофага в маргинальной зоне белой пульпы селезенки подопытных животных получавших бисфосфонат «Зомета» (1) на 7 сутки исследования × 8000.

Маргинальная зона лимфатического узелка представлена лимфоцитами и макрофагами (рис. 3). Ядра макрофагов не большие, выглядят плотными, так как содержат конденсированный хроматин, который расположен по периферии ядерной оболочки. Цитолемма макрофага образует инвагинации и имеет различной длины макро- и микровыросты, за счет этого поверхность макрофага неровная. Цитоплазма базофильна, неоднородна, различной электронной плотности, содержит много лизосом и пиноцитозных пузырьков

После введения животным на протяжении 10

дней тимогена через 7 суток выявляются некоторые изменениям тонкой структуры селезенки.

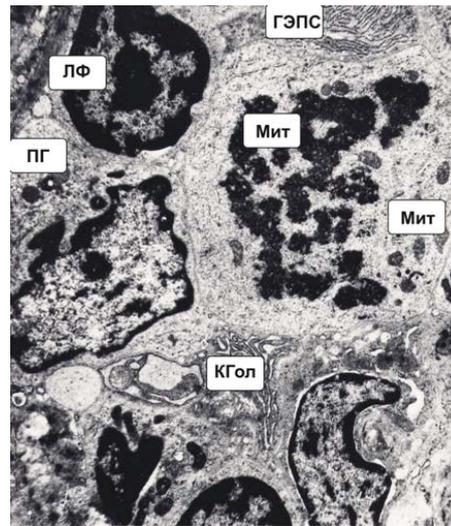


Рис. 4. Ультраструктура белой пульпы селезенки крысы (герминативный центр) через 7 суток после введения тимогена × 12000.

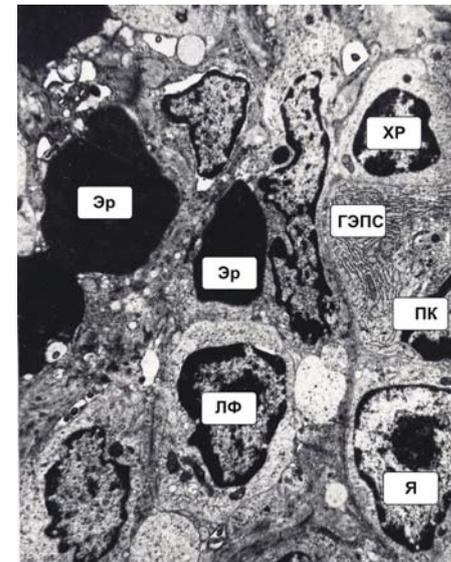


Рис. 5. Ультраструктура белой пульпы селезенки крысы (мантийная зона) через 7 суток после введения тимогена: × 12000.

В герминативных центрах лимфатических узелков белой пульпы преобладают функционально активные средние лимфоциты со светлыми ядрами, правильной формы. Гетерохроматин в них локализован по периферии ядра. Цитоплазма их обогащена гранулами. В цитоплазме лимфоцитов выявляются многочисленные органеллы. Митохондрии округлые с хорошо выраженными кристами и электроннопрозрачным митохондриальным матриксом. Прослеживаются в этом участке расширенные каналцы гранулярной эндоплазматической сети с цистернами и мешочками, окруженными биомембраной. Наблюдаются фигуры митоза клеток (рис.4). В мантийной зоне прослеживаются признаки трансформации лимфоцитов в плазматические клетки, ядра которых имеют округлую

форму с участками деконденсированного хроматина кнутри от кариолеммы. Цитоплазма плазматических клеток богата органеллами. Особенно хорошо представлена гранулярная эндоплазматическая сеть с крупными цистернами и с извилистыми канальцами, рибосомами и вакуолями, заполненными веществом белковой природы. Митохондрии в цитоплазме данных клеток выявляются с расширенными кристами и светлым электроннопрозрачным матриксом. Комплекс Гольджи представлен расширенными цистернами, вакуолями и мешочками, заполненными белковым секретом, что свидетельствует об их функции как секреторных клеток, вырабатывающих антитела (рис.5).

Маргинальная зона лимфатического узелка после введения животным тимогена представлена средними лимфоцитами с типичным набором органелл, базофилами с сегментированными ядрами и специфическими гранулами овальной и продолговатой формы. Такие лимфоциты включают осмофильные кристаллоидные структуры, погруженные в аморфный мелкозернистый матрикс. Их митохондрии имеют четкие границы с расширенными кристами и прозрачным матриксом. Наблюдаются единичные эритроциты, плотные гранулы и ретикулярные клетки. Макрофаги содержат клеточные элементы, по которым можно судить об их реакции трансформации.

В красной пульпе селезенки на 7-е сутки после введения животным тимогена мы видим

макрофаги, эритроциты, лимфоциты, плотные гранулы. Макрофаги находятся в активной стадии: ядра с неравномерно расположенным хроматином, цитоплазма богата различными гранулами, вакуолями и образует инвагинации и выпячивания, видны остатки утилизируемых клеток. Эритроциты крупные, электроннопрозрачные готовые к утилизации. Лимфоциты средние с овально - вытянутыми ядрами, с участками конденсированного хроматина. Их цитоплазма обильна органеллами, плазмолемма образует разнообразные выпячивания. Прослеживается картина распада эритроцитов в виде гранул в цитоплазме клеток. Повсеместно видны отростки ретикулярных клеток, служащих каркасом паренхимы селезенки. Граница между красной и белой пульпой селезенки четкая.

Выводы: В результате введения крысам бисфосфоната «Зомета» и иммуностимулятора тимогена выявлены однонаправленные изменения в красной и белой пульпе селезенки на 7-е сутки эксперимента.

Наличие гетерохроматина в ядрах клеток, увеличение количества свободных и связанных рибосом, увеличение количества пор клеточных мембран, может косвенно свидетельствовать о высокой секреторной активности этих клеток, что свидетельствует об активизации клеточного звена иммунитета именно на 7-е сутки наблюдения после введения этих препаратов половозрелым крысам.

ЛИТЕРАТУРА:

1. **Азнаурян А.В.** Активация макрофагов в иммунном ответе / А.В. Азнаурян, М.З. Бахшиян, Т.А. Белоусова // Архив анат., гистол. и эмбриол. - 1986. - Т. 41, № 12. - С. 71-77.
 2. **Вельтищев Ю.Е.** Влияние малых доз радиации на иммунную систему детского организма / Ю.Е. Вельтищев, Л.С. Балева // Вопросы охраны материнства и детства. - 1991. - Т. 36, № 12. - С. 3-10.
 3. **Вородюхина А.К.** Использование эхинацеи в качестве иммуномодулятора / А.К. Вородюхина // Буковинский медицинский вiсник. - 2003. - Т. 5, № 2. - С. 9-12.
 4. **Касымова Г.Г.** Морфологические особенности тимуса при гелиотринном гепатите в условиях введения иммуностимуляторов / Г.Г. Касымова, К.Р. Тухтаев // Морфология. - 2001. - Т. 120, № 6. - С. 42-46.
 5. **Мотуляк А.П.** Структурна перебудова лимфоїдної тканини селезінки мишей радіочутливої лінії BALB/C у ранньому періоді поспатального онтогенезу після опромінення низькими дозами радіації / А.П. Мотуляк, А.Ф. Паревич // Буковинський медичний вісник. - 2003. - Т. 9, № 1. - С. 85-89.
 6. **Пигаревский П.В.** Сравнительная характеристика содержания иммуноглобулинсинтезирующих клеток и иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов в лимфатических узлах и селезенке человека / П.В. Пигаревский // Морфология. - 1998. - Т. 114, № 6. - С. 47-49.
 7. **Сапин М.Р., Этинген Л.В.** Иммунная система человека. - М.: Медицина, 1996. - С. 213-246.
 8. **Fillipova O.V.** The effect of thymogen on the heart in ischemia and reperfusion / O.V. Fillipova, K.N. Reznikov, V.V. Alabovskil // Eksp. Klin. Farmakol. - 1997. - V. 60, № 3. - P. 27-29.
 9. **Khmel'nitskii O.K.** Changes in the histologic structure of the organs of immunogenesis during treatment with immunomodulators / **O.K. Khmel'nitskii, V.G. Morozov, V.Kh. Khavinson** // Arkh Patol. - 1986. - V. 48, № 5. P. 49-53.
 10. **Wilt J.H.** Surgical treatment of splenic metastases in patients with melanoma / J.H. Wilt, J.F. Thompson, W.H. McCarthy // J. Am Coll Surg. - 2003. - V. 197, № 1. - P. 38-43.
- Нужная Е.К., Стаценко Е.А., Скрыбина Е.Н., Санькова Л.Ю., Солодка Е.С.** Ультраструктура селезенки половозрелых крыс при введении бисфосфоната «Зомета» и иммуностимулятора тимогена // Украинський медичний альманах. - 2011. - Том 14, № 4. - С. 107-109.
- Исследование проведено на 36 половозрелых крысах-самцах. При помощи ультрамикроскопического исследования были определены структуры паренхимы селезенки, после введения иммуностимуляторов.
- Ключевые слова:** селезенка, лимфоциты, ультраструктура.
- Нужна О.К., Стаценко О.А., Скрыбина О.М., Санькова Л.Ю., Солодка О.С.** Ультрабудова селезінки статтевозрілих щурів при введенні бисфосфоната «Зомета» і імуностимулятора тимогена // Український медичний альманах. - 2011. - Том 14, № 4. - С. 107-109.
- Дослідження проведено на 36 статтевозрілих щурах-самцях. За допомогою ультрамікроскопічного дослідження були розрізнені утворення паренхіми селезінки після введення імуностимуляторів.
- Ключові слова:** селезінка, лімфоцити, ультрабудова
- Nuzhna O.K., Statsenko O.A., Skrabina O.M., Sankova L.Y., Solodka O.S.** The ultramicroscopy of the spleen structure of mature rats after immunostimulation // Український медичний альманах. - 2011. - Том 14, № 4. - С. 107-109.
- The research has been carried out at 36 mature rat-mails. With the help of ultra microscopy the structures of the spleen parenchyma have been determined after ingestion a "Zometa" and tymogen.
- Key words:** spleen, lymphocytes, ultra microscopy.

Надійшла 17.06.2011 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін