

УДК 591.441 «465.01»:57043
© Овчаренко В.В., 2012

МАКРО-, МІКРО- ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВПЛИВУ ХРОНІЧНОЇ ГІПЕРТЕРМІЇ СЕРЕДЬОГО СТУПЕНЮ ВИРАЖЕНОСТІ Овчаренко В.В.

ДЗ «Луганський державний медичний університет»

Овчаренко В.В. Макро-, мікро- особливості будови селезінки щурів після впливу хронічної гіпертермії середнього ступеню вираженості // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 206-209.

Вивчено особливості будови селезінки щурів при дії хронічної гіпертермії середнього ступеню вираженості (температура 41-43 С °). Виявлено структурно-функціональні зміни макро і мікро організації селезінки: зменшення площі лімфоїдних вузликів на зрізі, зменшення площі та кількості герменативних центрів, зміни клітинного складу білої пульпи.

Ключові слова: селезінка, біла пульпа, морфометрія, гіпертермія.

Овчаренко В.В. Макро-, мікро-особенности строения селезенки крыс после воздействия хронической гипертермии средней степени выраженности // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 206-209.

Изучены особенности строения селезенки крыс при действии хронической гипертермии среднего ступеня выраженности (температура 41-43 С °). Выявлены структурно-функциональные изменения макро и микро организации селезенки: уменьшение площади лимфоидных узелков на срезе, уменьшение площади и количества герменативных центров, изменения клеточного состава белой пульпы.

Ключевые слова: селезенка, белая пульпа, морфометрия, гипертермия.

Ovcharenko V. Macro-, micro-structural features of the spleen of rats after exposure to chronic hyperthermia moderate degree // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 206-209.

The features of the structure of the spleen of rats under the influence of chronic hyperthermia non-extrimal mode (temperature 41-43 C°). The structural and functional changes in the macro and micro organization of the spleen: decrease of lymphoid nodules on the cut, reducing the size and number of reproductive centers, changes in the cellular composition of the white pulp.

Key words: spleen, white pulp, morphometry, hyperthermia.

Вступ. Загальновідомо, що висока температура навколишнього середовища є несприятливим чинником, що часто впливає на організм людини в природних умовах, на виробництві та призводить до порушення морфофункціонального стану різних систем і органів [1,3,4]. Перегрівання при фізичних навантаженнях спостерігається у працівників глибоких вугільних шахт, робочих гарячих цехів металургійних, машинобудівних, скловиробничих заводів, крім того, екзогенна гіпертермія використовується при лікуванні деяких онкозахворювань [2].

Нерідко перегрівання виникає при дії на організм людини високої температури, обумовленої природними природно-кліматичними факторами, наприклад перегрівання на сонці в санаторно-курортних зонах [1]. Теплові ушкодження, у тому числі випадки теплового удару, зустрічаються у населенні південних країн планети.

Оскільки для Донбаського регіону досить характерним виробничим фактором є робота в умовах мікроклімату глибоких вугільних шахт, ступінь вираженості морфофункціональних змін органів імунної системи, зокрема селезінки в умовах хронічної гіпертермії, на даний момент не з'ясований. Дані, що містяться в літературі не дають достатнього уявлення про цю проблему.

Метою роботи було вивчення на макро- та мікроскопічному рівні особливостей структурно-функціональної організації периферичних органів імунної системи (селезінки) після впливу хронічної гіпертермії середнього ступеню вираженості (температура 41-43 С°).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами: робота виконана у відповідності з планом наукових досліджень ДЗ «Луганський державний медичний університет», та є частиною наукової теми кафедри анатомії людини «Морфогенез органів ендокринної, імунної та кісткової систем під хронічним впливом хронічної гіпертермії».

Матеріал та методи. Дослідження було проведене на 60 безпородних статевозрілих щурах-самцях. Ці тварини протягом двох місяців перебували під гіпертермічним впливом протягом 5 годин на добу. Щури виводились з експерименту в різні строки на 1, 7, 15, та 30-60 добу після закінчення впливу хронічної гіпертермії. Контролем до експериментальної групи служили тварини, що знаходились на стандартних умовах в віварію.

Використання тварин проводили дотримуючись «Методичних рекомендацій з виведення лабораторних тварин з експерименту» та у відповідності до етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2000), що узгоджується з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей».

Проводку гістоматеріалу проводили за прискореною методикою під впливом ультразвуку, кусочки селезінки заливали в парафінові блоки та отримували санному мікроскопі зрізи товщиною 3-4 мкм. Фарбували зрізи гематоксилін-еозинном або

Азур II-еозином за стандартними методиками Потім отримували цифрові мікрофотографії за допомогою мікроскопу Olympus 40BX та фотоапарату Olympus 5050Z, що разом з спеціалізованим програмним забезпеченням входили до єдиного морфо-метричного комплексу.

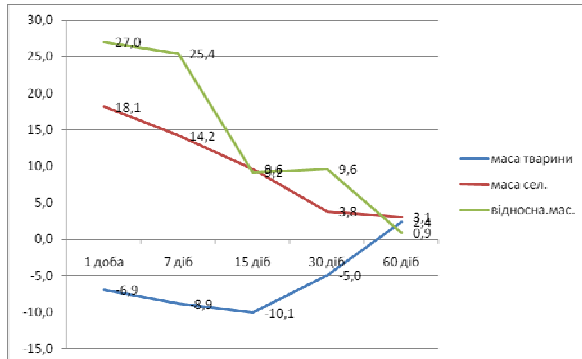


Рис. 1. Динаміка зміни маси тіла, абсолютної та відносної маси (різниця в процентах відхилення від контролю) селезінки статевозрілих щурів в різні строки спостереження після впливу гіпертермії середнього ступеню вираженості.

Обрахування знімків проводили за допомогою авторського програмного забезпечення

Таблиця 1. Макроморфометричні показники селезінки щурів групи СХГ в різні строки спостереження

Експериментальний вплив	Вікова група тварин	Показник	Строк спостереження				
			1 доба	7 діб	15 діб	30 діб	60 діб
СХГ	Статевозрілі	Довжина, мм	40,2 ±1,39	39,13 ±1,41	38,95 ±1,3	39,08 ±1,54	42,63 ±1,43
		Ширина, мм	7,92 ±0,26	7,97 ±0,31	7,86 ±0,34	8,3 ±0,37	9,14 ±0,27
		Товщина, мм	4,2 ±0,12	4,18 ±0,13	4,36 ±0,22	4,76 ±0,19	5,11 ±0,13
	Період старечих змін	Довжина, мм	41,71 ±1,08	41,35 ±0,93	41,31 ±1,64	42,56 ±1,45	45,96 ±1,37
		Ширина, мм	9,27 ±0,25	8,97 ±0,27	8,55 ±0,28	8,74 ±0,33	9,6 ±0,28
		Товщина, мм	4,32 ±0,15	4,21 ±0,13	4,28 ±0,18	4,59 ±0,15	4,94 ±0,22

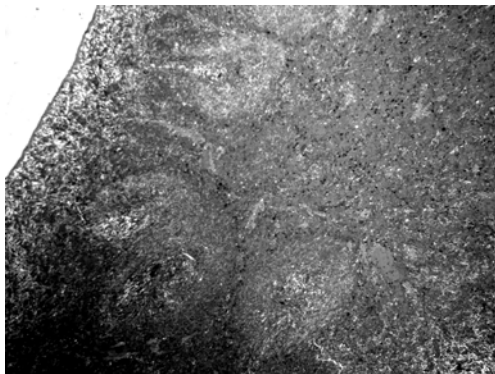


Рис. 2. Селезінка статевозрілого щура, на 1 добу після закінчення впливу гіпертермії середнього ступеню вираженості. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення в умовах зйомки – 400X.

Лінійні розміри органу в перші строки реадaptaційного періоду на 10-14 відсотків перевищували показники інтактної групи тварин, однак вже на 30 добу реадaptaційного періоду вже не були достовірними й практично рівнялися контрольним значенням.

На гістологічних зрізах отриманих з селезенок тварин, що перебували в умовах хронічної гіпертермії середнього ступеню вираженості на 1 день реадaptaційного періоду спостерігалось

«Master of Morphology», отримані результати морфометрії зберігалися й в далі статистично оброблялися в Excel.

Результати та обговорення. В групі експериментальних тварин, що зазнали впливу хронічної гіпертермії середнього ступеню вираженості випадків загибелі тварин внаслідок теплового шоку не спостерігалось. Вага тварин на перший день реадaptaційного періоду (табл. 1) на 7% відрізнялася від показників інтактної групи [5], однак ця різниця була менше від показників тварин другої групи (ЕХГ)на близько 10% (рис.1).

Надалі, динаміка зміни маси тіла експериментальної групи тварин була негативної, й досягла на 15 добу реадaptaційного періоду -10%, після чого різниця в масі тіла експериментальних та інтактних тварин поступово зменшувалась, зрівнявшись з ними на 60 добу (рис. 1).

Абсолютна та відносна вага селезінки також суттєво змінювалися в порівнянні з значеннями інтактних груп тварин (рис. 1), але, як й в випадку з масою тіла, значення різниці від контролю в процентному співвідношенні були значно меншими, ніж у випадку с групою ЕХГ.

виражене повнокров'я органу з великою кількістю еритроцитів в червоній пульпі та розширеними венозними синусами (рис.2).

В периартеріальних лімфоїдних муфтах виявляються не тільки малі і середні лімфоцити, ретикулярні клітини, а й клітини з картинами мітозу, плазмоцити та інші клітини.(рис. 2)

У складі периартеріальних лімфоїдних муфт, присутні макрофагально-лімфоцитарні комплекси (5-10 малих лімфоцитів навколо макрофага), а також лімфоцитарно-плазмоцитарно-макрофагальні комплекси (малі та середні лімфоцити, навколо плазмоцити і макрофаги). У лімфоїдних муфтах виявляються попарно і групами (3-5 клітин) розташовані малі та середні лімфоцити і ретикулярні клітини.

Форма лімфоїдних вузликів, за нашими даними, різноманітна. На гістологічних зрізах селезінки зустрічаються лімфоїдні вузлики округлої, овальної,стрічкоподібної форми (рис.3). Серед них виявляються як вузлики з центрами розмноження, так і без них. За даними ряду авторів, появлення центрів розмноження в лімфоїдних вузликах відбувається тільки при наявності антигенної стимуляції. Лімфоїдні вузлики селезінки, як вважається, в структурному і функціональному відношенні ідентичні лімфатичним вузлам та є В-залежними

органами, де відбувається переважно диференціювання В-клітин і плазмоцитів.



Рис. 3. Селезінка статевозрілого щура, на 30 добу після закінчення впливу гіпертермії середнього ступеню вираженості. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення в умовах зйомки – 40X.

Біла пульпа селезінки щурів представлена добре структурованими периартеріальними лімфоїдними муфтами і лімфоїдними вузликами, які є потовщеннями периартеріальних лімфоїдних муфт. Між цими скупченнями лімфоїдної тканини, периартеріальними лімфоїдними муфтами (ПААМ), знаходиться червона пульпа – селезінкові тяжі і венозні синуси. Кожна периартеріальна лімфоїдна муфта селезінки щурів складається з внутрішньої щільно упакованої частини, що оточує пульпарну (центральну) артерію (глибока частина ПААМ) і крайової зони (периферична частина ПААМ), яка вузьким пояском оточує з усіх боків центральну частину ПААМ, а також лімфоїдні вузлики (рис. 5).

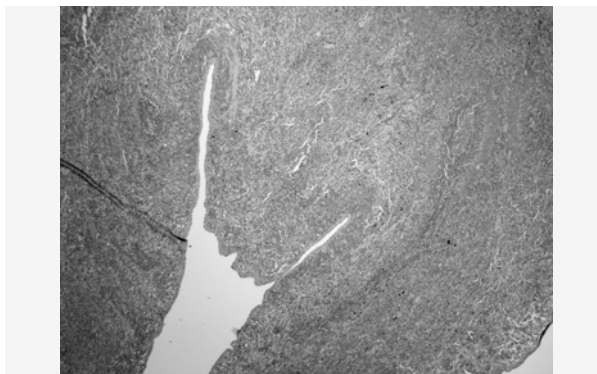


Рис. 4. Селезінка статевозрілого щура, на 30 добу після закінчення впливу гіпертермії середнього ступеню вираженості. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення в умовах зйомки – 100X.

При оцінці даних результатів гістоморфометрії зрізів селезінки представлених в таблиці 4.7. в перший день реадaptaційного періоду виявлено, що площа лімфоїдних вузликів становила $1356550,7 \pm 85101 \text{ мкм}^2$, що приблизно на 15 відсотків менше за показники контролю в цей же період часу. Надалі різниця в процентному співвідношенні між показниками площі лімфоїдних вузликів поступово зменшувалася й на 60 добу вона становила -7 відсотків. Щодо площі центрів розмноження, той показник показав децю іншу динаміку – в перший день реадaptaційного періоду площа гермінативних центрів на зрізі становила $53340,4 \pm 2198 \text{ мкм}^2$, що на -17,63% менше за показник групи інтактних тварин, який становив 64760 мкм^2 [5]. В цей же час показник площі мантійної зони зменшувався до $400296,9 \pm 22527 \text{ мкм}^2$ в першу добу спостереження.

Таблиця 2. Морфометричні показники селезінки статевозрілих щурів групи гіпертермії середнього ступеню вираженості в різні строки спостереження

Показник	Строк спостереження				
	1 доба	7 доба	15 діб	30 діб	60 діб
Площа лімфоїдних вузликів (мкм ²)	1356550,7 ± 85101	1404784,1 ± 71957	1477643,2 ± 149588	1563494,1 ± 149881	1640442,9 ± 104449
Площа маргінального синуса (мкм ²)	229380,9 ± 10233	230117,4 ± 13998	232308,2 ± 20864	251944,2 ± 11337	272311,1 ± 10448
Площа мантійної зони (мкм ²)	400296,9 ± 22527	407023,4 ± 44101	434673,1 ± 49650	490552,9 ± 27343	531816,5 ± 23917
Площа гермінативних центрів (мкм ²)	53340,4 ± 2198	54417,2 ± 4522	58377 ± 2858	64730,8 ± 2157	68853,2 ± 1602
Середня кількість гермінативних центрів	8,8 ± 0	9,4 ± 1	9,6 ± 1	10,5 ± 1	11,2 ± 0
% білої пульпи на зрізі	16,4 ± 2	17,2 ± 1	18,8 ± 3	19,9 ± 2	21,4 ± 2
кількість лімфоїдних вузликів	12,7 ± 0	13,1 ± 1	13,7 ± 1	14,1 ± 1	14,5 ± 0
Площа стромі на зрізі (мкм ²)	123684,4 ± 5249	113111,6 ± 6588	113097 ± 6370	108629,8 ± 5347	108460,2 ± 4674
Площа зрізу (мкм ²)	8437658,7 ± 532803	8239184,7 ± 300023	8125261,4 ± 575962	7870242,2 ± 391248	7848221,9 ± 528277
Площа ПААМ (мкм ²)	455402,8 ± 20689	452928 ± 29827	453566,9 ± 35083	442361,1 ± 29393	486091,9 ± 20256

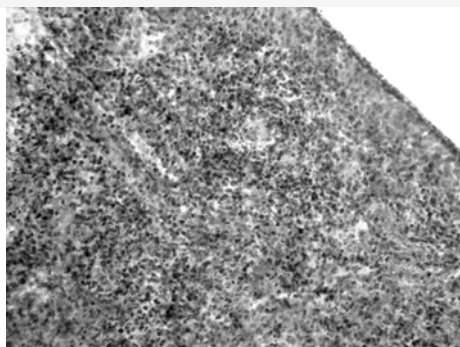


Рис. 5. Селезінка статевозрілого щура, на 30 добу після закінчення впливу гіпертермії середнього ступеню вираженості. Забарвлення: гематоксилін-еозин. Збільшення в умовах зйомки – 400X.

Червона пульпа селезінки тварин представлена венозними синусами і пульпарними тяжами, в стромі яких розташовуються формені елементи крові, представлені лімфоцитами, макрофагами і еритроцитами. У порівнянні з контрольними щурами відзначається візуальне зменшення площі селезінкових тяжів, обумовлене зниженням вмісту в їх стромі клітин лімфоцитарного ряду та збільшення площі венозних синусів за рахунок збільшення кількості еритроцитів. (рис. 5). Процентне співвідношення червоної пульпи до загальної площі зрізу в наступні строки спостереження знижується за рахунок зменшення кровонаповненості венозних синусів та збільшення площі білої пульпи.

Клітинний склад різних зон білої пульпи представлений лімфоцитами і макрофагами в різних кількісних співвідношеннях (табл. 2) У структурі пері артеріальних лімфатичних піхв білої пульпи селезінки статевозрілих щурів після

закінчення впливу хронічної гіпертермії середнього ступеню вираженості нечітко диференціюються внутрішня темна і зовнішня світла зони, які утворені скупченнями лімфоцитів і макрофагів навколо пульпарної артерії (рис 3).

Таблиця 3. Клітинний склад різних зон селезінки статевозрілих щурів, що перебували під впливом СХГ

Клітини	Кількість клітин на 2500 кв. мкм площі зрізу селезінки					
	1 доба			60 доба		
	Центри розмноження	ПААМ	Селезінкові тяжі	Центри розмноження	ПААМ	Селезінкові тяжі
Малі лімфоцити	12,0±0,9	66,0±3	21,2±1,3	13,0±1,1	72,0±3,2	22,2±1,4
Середні лімфоцити	13,2±1,2	13,0±1,7	6,0±1,5	13,2±1,5	13,2±1,4	9,1±1,1
Бласти	7,0 ±1,0	-	-	9,0 ±1,0	-	-
Плазмоцити	-	11,0±1,3	13,0±1,6	-	12,0±1,3	15,0±1,5
Макрофаги	4,0±1,2	-	10,0±2,2	3,0±0,9	-	9,0±1,3
Ретикулярні кл.	17,0±2,1	16±1,8	14,0±1,0	14,0±1,1	15,0±0,7	9,0±0,8

Біла пульпа селезінки піддослідних щурів на всіх етапах дослідження містить лімфатичні вузлики і периартеріальні лімфатичні піхви. Лімфатичні вузлики частіше розташовуються поодиночі або формують групи з 2-3 вузликів. Вони мають нечітко розмежовані зони: мантийну, маргінальну, периартеріальну і центр розмноження (або без нього, якщо вузлик первинний). Вторинні лімфатичні вузлики зустрічаються досить рідко і виглядають трохи крупніше, ніж первинні, за рахунок наявності в їх структурі слабо вираженого світлого центру. В гермінативному центрі практично не спостерігаються лімфоцитарні і лімфоцитарно-макрофагальні комплекси, що може свідчити про чинять вплив гіпертермії на процеси міжклітинної кооперації в ході імунної відповіді. Мантийна зона, розташована навколо гермінативного центру, і периартеріальна зона, навколо центральної артерії лімфатичного вузлика, утворені скупченнями лімфоцитів і макрофагів. У маргінальній зоні вузлика, яка обмежена з боку мантийної зони слабо вираженим маргінальним синусом, знаходяться переважно макрофаги і помірна кількість лімфоцитів.

Периартеріальні лімфатичні піхви білої пульпи селезінки тварин даної серії утворені скупченнями лімфоцитів і макрофагів навколо пульпарних артерій, їх внутрішня і зовнішня зони диференціюються нечітко.

Найбільш виражені морфометричні зміни білої пульпи селезінки статевозрілих щурів спостерігаються на 1 і 7 добу після введення закінчення впливу хронічної гіпертермії (рис.6). Показники відносної площі білої пульпи до загальної площі зрізу в зазначені терміни дослідження статистично достовірно знижуються в порівнянні з контрольними даними на 34% в першу добу спостереження коли цей показник в абсолютних значеннях становив 1356550,7 ± 85101 мкм² (табл. 2).

Надалі, в наступні строки реадaptaційного періоду різниця з даними інтактною групи тварин поступово зменшувалася й сягала -5% (p>0,05) на 60 добу.

Висновки: Хронічна гіпертермія середнього ступеню вираженості викликає у піддослідних тварин низку значних змін в будові селезінки, що насамперед проявляється як в макропоказниках (відносна маса селезінки) так і мікроморфометричних показниках, що проявилася в зменшенні площі лімфоїдних вузликів на зрізі максимально на 15% від показників групи інтактних тварин в перший день реадaptaційного періоду та площі гермінатив-

них центрів (-18%). В цілому, СХГ викликала зменшення загальної та відносної площі білої пульпи на гістологічних зрізах селезінки експериментальних груп щурів, втім, зменшення відносної площі білої пульпи також досягалося збільшенням абсолютних показників об'єму червоної пульпи через збільшення кровонаповнення в наслідок накопичення еритроцитів в ній.

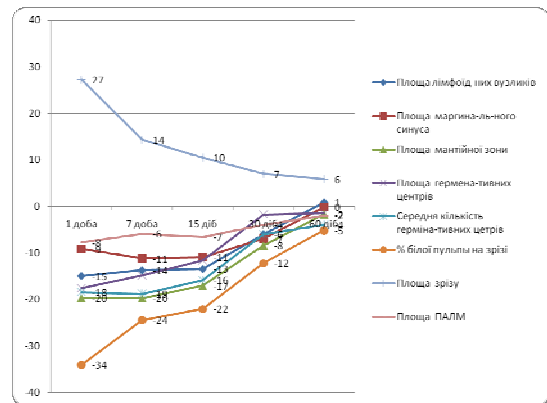


Рис. 6. Морфометричні показники селезінки статевозрілих щурів (% відхилення від контролю) групи СХГ.

В подальших дослідженнях планується встановити особливості будови селезінки щурів, що перебували в умовах хронічної гіпертермії в поєднанні з фізнавантаженням.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Александров В. Я. Клетки, макромолекулы и температура / В. Я. Александров— Л.: Наука, 1975.— 330 с.
2. Баллюзек Ф. В. Управляемая гипертермия / Ф. В. Баллюзек. — СПб: Невский Диалект, 2001.— 123 с.
3. Бахмет А.А. Строение лимфоидных структур селезёнки крыс при воздействии острого эмоционального стресса/ А.А.Бахмет // Морфология. - 2004. - Т.125, №1.-С. 55-58.
4. Морфофункциональна характеристика світлих центрів лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки щурів-самців різних вікових груп у нормі / М. Ю. Кочмарь, А. О. Гербут, В. Й. Палапа [та ін.] // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 2. – С. 297–300.
5. Овчаренко В.В. Будова селезінки інтактних щурів різних вікових груп / В.В.Овчаренко. - Український медичний альманах. - 2012. - Том 14, № 15. - С. 189-192.

Надійшла 02.03.2012 р.
Рецензент: проф. С.А.Кашенко