

УДК: 591.446:615.37

С.А. Кашченко, О.Н. Петизина, Е.Н. Морозова КОРРЕЛЯЦИОННАЯ ЗАВИСИМОСТЬ МЕЖДУ ПАРАМЕТРАМИ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ КРЫС ПОСЛЕ КОРРЕКЦИИ ИММУНОДЕФИЦИТНОГО СОСТОЯНИЯ

Государственное учреждение «Луганский государственный медицинский университет»

Кашченко С.А., Петизина О.Н., Морозова Е.Н. Корреляционная зависимость между параметрами лимфатических узлов крыс после коррекции иммунодефицитного состояния // Украинский морфологический альманах. – 2014. – Том 12, № 3. – С. 34-37.

Целью исследования послужило выявление особенностей существующих корреляционных связей между морфологическими параметрами в подмышечных лимфатических узлах при коррекции иммуносупрессии с помощью имунофана, установление выраженности и направления этих связей, а также оценка достоверности полученных результатов. Эксперимент проводился на 72 крысах-самцах. На гистологических препаратах изучены морфометрические показатели органа после коррекции циклофосфан-индуцированной иммуносупрессии с помощью имунофана. Цифровые данные загружались в персональный компьютер, анализировались и сохранялись на жестком диске. Для оценки результатов применяли коэффициент корреляции Браво-Пирсона. Было выявлено, что после введения имунофана, в лимфатических узлах обеих возрастных групп животных, между морфометрическими показателями устанавливалась положительная зависимость сильной и средней степени выраженности.

Ключевые слова: лимфатические узлы, корреляция, циклофосфан, имунофан.

Кашченко С.А., Петизина О.М., Морозова О.М. Кореляційна залежність між показниками лімфатичних вузлів щурів після корекції імунodefіцитного стану // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 3. – С. 34-37.

Метою дослідження послужило виявлення особливостей існуючих кореляційних зв'язків між морфологічними параметрами в пахвових лімфатичних вузлах при корекції імуносупресії за допомогою імунофану, встановлення виразності та напрямків цих зв'язків, а також оцінка достовірності отриманих результатів. Експеримент проводився на 72 щурах-самцях. На гістологічних препаратах вивчені морфометричні показники органу після корекції циклофосфан-індукованої імуносупресії за допомогою імунофану. Цифрові дані завантажувалися в персональний комп'ютер, аналізувалися та зберігалися на жорсткому диску. Для оцінки результатів застосовували коефіцієнт кореляції Браво-Пірсона. Було виявлено, що після введення імунофану, в лімфатичних вузлах обох вікових груп тварин, між морфометричними показниками встановлювалася позитивна залежність сильного й середнього ступеня виразності.

Ключові слова: лімфатичні вузли, кореляція, циклофосфан, імунофан.

Kashchenko S.A., Petizina O.N., Morozova E.N. Correlation interdependence of the parameters of the rats' lymph nodes after correction immunosupretion states // Украинский морфологический альманах. – 2014. – Том 12, № 3. – С. 34-37.

The aim of the study was the identification of the features of the existing correlation between morphological parameters in the axillary lymph nodes in the correction of immunosuppression using imunofan, establishing the severity and direction of these relationships, as well as evaluation of the reliability of the results. The experiment was conducted on 72 male rats. On histological preparations studied morphometric parameters the organs after correction cyclophosphamide-induced immunosuppression via imunofan. Digital data is downloaded to a personal computer, analyzed and stored on the hard drive. To evaluate the correlation coefficient was used to Bravo-Pearson. It was found that after the introduction of imunofan in lymph nodes in both age groups of animals between morphometric parameters was established positive relationship strong and medium severity.

Key words: lymph nodes , correlation, cyclophosphamide, imunofan .

Актуальность. На протяжении последних десятилетий в условиях ухудшения экологической обстановки, усиления стрессорных влияний на организм человека, роста иммунодефицитных состояний различного генеза существенно возросла заинтересованность специалистов различных отраслей медицины в особенностях строения и функции органов иммунной системы под влиянием экзогенных воздействий [5, 8]. Являясь одной из ведущих интегрирующих регуляторных систем организмов и находясь в тесной взаимосвязи с нервной и эндокринной системами, иммунная система, на протяжении всего периода онтогенеза, характеризуется высоким уровнем ди-

намичности. Она представлена скоплением клеточных элементов от полипотентной стволовой до эффекторной клетки, которые находятся в процессах пролиферации, дифференцировки, миграции, кооперации и гибели [10, 13]. Морфологической основой органов иммунной системы является лимфоидная ткань, сгруппированная в функциональные образования [3]. Лимфатические узлы как биологические и механические фильтры выполняют барьерно-элиминативную функцию (проходя сквозь них, лимфа очищается от чужеродных частиц, микроорганизмов, а так же обогащается лимфоцитами и иммуноглобулинами), кроветворную (антигензависимая пролиферация

и дифференцировка Т- и В-лимфоцитов), моторную и адсорбционную функции [2, 10]. Исходя из этого, лимфатические узлы одними из первых реагируют на изменения в организме. Вместе с тем, морфологические аспекты их строения на сегодняшний день в условиях изменения иммунного статуса изучены недостаточно. В этой связи **целью** исследования послужило выявление особенностей существующих корреляционных связей между морфологическими параметрами в лимфатических узлах после коррекции иммуносупрессии с помощью имунофана, установление выраженности, достоверности и направленности этих связей.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Работа является частью научно-исследовательской темы кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» «Особливості будови органів імунної та ендокринної систем при імуностимуляції та імуносупресії», государственный регистрационный номер 0112U000096.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование проведено на 72 белых беспородных крысах-самцах. Животные были разделены в соответствии с массой (неполовозрелые – 60 – 90 г, половозрелые крысы – 210 – 250 г), возрастом и сроком наблюдения на 12 групп. Контролем служили интактные животные. Для исключения влияния суточных колебаний на изучаемые показатели лимфатических узлов основные манипуляции проводились в утренние часы. При работе с животными руководствовались Законом Украины «Про захист тварин від жорсткого поводження» от 21.02.2006 р. № 3447, положениями Европейского научного сообщества «Использование животных в исследованиях» (2000) [4].

Для создания иммуносупрессивного состояния в эксперименте использовали циклофосфан, который является алкилирующим цитостатическим препаратом. Эффект высоких доз препарата заключается в его способности останавливать пролиферацию клеток, способных к быстрому делению, в том числе иммунных. Препарат вводили однократно, внутримышечно, в дозе 200 мг/кг [12]. Ряд авторов, исследовавших действие циклофосфана на иммунные органы, пришли к выводу, что такая дозировка приводит к наиболее быстрому и выраженному изменению уже в течение первых 24 часов наблюдения [6, 8]. Способность иммуностимулирующих препаратов повышать общую резистентность организма, ускорять процессы регенерации послужила основанием для их широкого применения в комплексной терапии иммунодефицитных состояний, инфекционных и инфекционно-воспалительных заболеваний, при вялом течении регенераторных процессов, для улучшения иммунного состояния у онкологических

больных при цитостатической терапии [5]. По этой причине схема введения имунофана, с целью коррекции циклофосфан-индуцированной иммуносупрессии, на 1, 3, 5, 7, 9 сутки по 0,7 мг/кг внутримышечно, является обоснованной [1, 7].

Расчет доз лекарственных средств, которые вводились животным, производился в соответствии с рекомендациями Ю. Р. Рыболовлева и Р. С. Рыболовлева [9]. Животных выводили из эксперимента на 7, 30, 90 сутки наблюдения после ингаляционного наркоза хлороформом с последующей декапитацией. Затем лимфатические узлы выделяли из подкожно-жировой клетчатки подмышечной области. На торсионных весах определяли абсолютную массу органа, с помощью штангенциркуля измеряли длину, ширину, толщину и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. После фиксации исследуемый материал подвергался стандартной гистологической проводке с последующей заливкой в парафиновые блоки. Из полученных блоков изготавливали серийные срезы толщиной 5 – 6 мкм. Препараты окрашивали гематоксилин-эозином. Морфометрическое исследование компонентов лимфатических узлов производилось с помощью компьютерного комплекса на основе микроскопа «Olympus».

Были получены микрометрические показатели подмышечных лимфатических узлов (ЛУ) неполовозрелых и половозрелых крыс контрольных (К) и экспериментальных (Э) групп: ширина коркового вещества (ШКВ), больший и меньший диаметры лимфатического узелка (D, D1) и его герминативного центра (d, d1), а также подсчитано количество ядер клеток на единице площади (1000 мкм²) препарата в области герминативного центра (ГЦ) и межузелкового плато (МП). Учитывая разнообразие анализируемых данных, возникает необходимость выявить взаимосвязи между результативными признаками статистической совокупности, а также определить зависимости параллельных изменений нескольких признаков различных по происхождению, модальности и единицам измерения этой совокупности, поэтому в эксперименте применяли коэффициент корреляции Браво-Пирсона. Статистическую обработку данных исследования производили при помощи пакета прикладных статистических программ «Statistica 5.5».

Результаты исследования. После коррекции имунофаном иммуносупрессивного состояния, вызванного предварительным введением циклофосфана, в группе неполовозрелых животных выявлена сильная положительная связь между массой лимфатического узла и его длиной, массой и большим диаметром лимфатического узелка, а также между массой органа и большим диаметром герминативного центра на 7 и 30 сутки, между массой органа и

большим диаметром герминативного центра на 90 сутки ($r > 0,7$).

Корреляционная связь средней силы наблюдалась между массой и длиной лимфатического узла, массой и большим диаметром лимфатического узелка ($0,5 < r < 0,69$). Тесная степень положительной взаимосвязи выявлялась между длиной лимфатического узла и его шириной, длиной органа и шириной коркового вещества на 7 и 30 сутки, а также между длиной и шириной узла, длиной органа и шириной коркового вещества на 90 сутки наблюдения. Аналогичная тенденция определялась между количеством ядер клеток в герминативном центре лимфатического узелка и большим его диаметром, а также между количеством ядер клеток в межузелковом плато и шириной коркового вещества на 7, 30 и 90 сутки ($r > 0,7$).

Слабая сила корреляционной связи имела место между длиной и шириной органа в поздние сроки наблюдения ($0,2 < r < 0,49$). У половозрелых животных тесная положительная взаимозависимость наблюдалась на 7, 30 и

90 сутки между массой и длиной узла, массой органа и большим диаметром лимфатического узелка, а также массой и большим диаметром герминативного центра ($r > 0,7$). Сильная степень положительной связи имела место между длиной и шириной лимфатического узла, длиной узла и шириной коркового вещества; между количеством ядер клеток в межузелковом плато и шириной коркового вещества, а также между количеством ядер клеток в герминативном центре и меньшим его диаметром на 7 и 90 сутки. Аналогичная тенденция наблюдалась на 30 и 90 сутки между, длиной и шириной изучаемого органа, количеством ядер клеток в герминативном центре и большим его диаметром, количеством ядер клеток в межузелковом плато и шириной коркового вещества ($r > 0,7$).

Средняя положительная зависимость выявлялась между длиной и шириной лимфатического узла, количеством ядер клеток в герминативном центре и его меньшим диаметром на 30 сутки ($0,5 < r < 0,69$) (табл. 1).

Таблица 1. Взаимозависимость между морфологическими показателями лимфатических узлов крыс разных возрастных групп после коррекции иммуносупрессии с помощью имунофана

Исследуемая взаимозависимость между параметрами ЛУ	Срок наблюдения	Коэффициент корреляции			
		Неполовозрелые животные		Половозрелые животные	
		Э	К	Э	К
Масса ЛУ от длины ЛУ	7 сутки	0,96	0,96	0,79	0,89
	30 сутки	0,94	0,92	0,75	0,86
	90 сутки	0,65	0,94	0,90	0,90
D от массы ЛУ	7 сутки	0,71	0,98	0,83	0,89
	30 сутки	0,93	0,96	0,81	0,87
	90 сутки	0,55	0,89	0,91	0,86
D1 от массы ЛУ	7 сутки	0,90	0,86	0,72	0,86
	30 сутки	0,96	0,90	0,91	0,90
	90 сутки	0,85	0,91	0,92	0,91
Длина ЛУ от ширины ЛУ	7 сутки	0,87	0,90	0,76	0,99
	30 сутки	0,98	0,92	0,81	0,92
	90 сутки	0,29	0,89	0,88	0,96
ШКВ от длины ЛУ	7 сутки	0,96	0,94	0,86	0,97
	30 сутки	0,94	0,96	0,58	0,89
	90 сутки	0,86	0,90	0,83	0,90
Количество ядер клеток в ГЦ от D1	7 сутки	0,99	0,90	0,95	0,87
	30 сутки	0,91	0,95	0,96	0,90
	90 сутки	0,99	0,90	0,94	0,94
Количество ядер клеток в ГЦ от d1	7 сутки	0,95	0,79	0,83	0,87
	30 сутки	0,92	0,86	0,67	0,90
	90 сутки	0,83	0,90	0,75	0,75
Количество ядер клеток в МП от ШКВ	7 сутки	0,97	0,94	0,85	0,85
	30 сутки	0,92	0,94	0,98	0,92
	90 сутки	0,99	0,92	0,86	0,95

Вывод: При изолированном введении циклофосфана наблюдалось установление корреляционных связей с отрицательной направленностью зависимости [11]. При использовании имунофана в качестве корректора иммуносупрессии, вызванной введением циклофосфана, выявлено изменение вектора

зависимости корреляционных связей в позитивную сторону. Таким образом, наблюдается положительная зависимость между морфометрическими показателями подмышечных лимфатических узлов в обеих возрастных группах сильной и средней степени выраженности. Результаты корреляционного анализа

объективно подтверждают целесообразность использования иммунофана в качестве корректора иммунодефицитного состояния.

Перспективы дальнейших исследований. Дальнейшие исследования будут направлены на изучение корреляционных зависимостей между параметрами лимфатических узлов крыс под влиянием циклофосфана на поздних сроках эксперимента.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Арион В. Я. Иммунобиологические свойства и клиническое применение тимозинов и других препаратов тимуса / В. Я. Арион, И. В. Зимица, С. Н. Москвина // Иммунология, аллергия, инфектология. – 2008. – №1. – С. 26–40.
2. Бирюкова О. В. Индивидуально-типологические особенности строения лимфатического узла в зависимости от работоспособности и функционального резерва организма / О. В. Бирюкова, В. Е. Савельев // Морфология. – 2000. – Т.118, №5. – С.40–42.
3. Головацкий А. С. Особенности рециркуляции лимфоцитов через посткапиллярные венулы паракортикальной зоны лимфатических узлов при антигенной стимуляции / А. С. Головацкий, М. Р. Сапин // Морфология. – 2001. – Т. 119, №1. – С. 40–45.
4. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006 р., № 3447.
5. Захаров А. А. Морфологические изменения тимуса после иммуносупрессии в эксперименте / А. А. Захаров // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2008. – Т. 7, № 4. – С. 15–19.
6. Кащенко С. А. Способ планирования и организации морфологического эксперимента / С. А. Кащенко // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: Зб. Наук. Праць. – 2001. – № 1 (33). – С. 278–281.
7. Морозова Е. Н. Изменение морфометрических параметров лимфатических узелков пейеровых бляшек тонкой кишки после коррекции иммунодефицитного состояния иммунофаном в эксперименте / Е. Н. Морозова // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2011. – Т. 10, № 4 (38). – С. 19–22
8. Петизина О. Н. Влияние иммунофана на строение подмышечных лимфатических узлов крыс / О. Н. Петизина // Український медичний альманах. – 2011. – Т. 14. – С. 157–159.
9. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.
10. Сапин М. Р. Лимфоидные структуры и стресс / М. Р. Сапин // Морфология. – 1993. – Т. 105, №9 – 10. – С.146–147.
11. Correlation interdependence of the organometric parameters of the rats' lymph nodes after injection cyclophosphamide // L. Paulose, M. Kunjumon, O. N. Petizina [et al.] // Український медичний альманах. – 2012. – Т. 15. – № 1. – С. 63–64.
12. Cyclophosphamide augments inflammation by reducing immunosuppression in a mouse model of allergic airway disease / S. Y. C. Rolph, M. S. Cooley, W. A. Sewell [et al.] // J. Allergy Clin. Immunology. – 2006. – V. 117, № 3. – P. 635–641.
13. MacLennan I. C. M. Germinal centers / I. C. M. MacLennan // Annu. rev. Immunol. – 1994. – V.12. – P. 117–139.

Надійшла 24.03.2014 р.

Рецензент: проф. В.І. Лузін