

**СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В СЕЛЕЗІНЦІ КРОЛІВ
ПРИ ТРИВАЛОМУ СВІТЛОВОМУ НАВАНТАЖЕННІ
ЗА ДАНИМИ МОРФОМЕТРИЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ
Харківський національний медичний університет (м. Харків)**

bochata@ukr.net

Дослідження виконано в межах академічної НДР «Дослідити механізми прискореного старіння при гіпопінеалізмі: хронобіологічні аспекти» (№ державної реєстрації 0113U001282).

Вступ. Сьогодні не викликає сумнівів, що порушення світлового режиму через патологічні зміни в нейроендокринній системі (гіпоталамус, гіпофіз, епіфіз) запускає механізм розвитку патологічних змін в периферичних залозах внутрішньої секреції, наслідком чого є виникнення поліендокринопатій, на тлі яких виникають і з часом поглиблюються патологічні зміни обмінних процесів в організмі, зокрема, вуглеводного і ліпідного метаболізму [4,7].

Тривале цілодобове освітлення викликає велику кількість порушень, які приводять до розвитку вікової патології. Зокрема, на тлі гіпопінеалізму, до якого приводить тривале світлове навантаження, спостерігаються ознаки передчасного старіння серцево-судинної, ендокринної, статевих систем та інших систем організму. Разом з цим, дані щодо впливу порушення світлового режиму на функціонування імунної системи досить обмежені. В доступній літературі є посилання на те, що видиме світло впливає на імунну відповідь через механізм, який включає око, супрахіазмотичні ядра гіпоталамуса, гіпофіз та епіфіз [11]. В нинішній час накопичені дані, які свідчать про наявність взаємодії медіаторів нейроендокринної та імунної систем, порушення яких лежать в основі патогенезу низки захворювань [2]. Встановлено, що на імунну систему здійснює вплив як ЦНС (пряма дія), так і система гіпоталамус – гіпофіз – периферичні ендокринні залози. З іншого боку, клітини імунної системи здатні змінювати нейроендокринні реакції на різних рівнях. Показано здатність клітин імунної системи, зокрема периферичних лімфоцитів, лімфоцитів селезінки та тимоцитів, продукувати нейроендокринні гормони – соматотропний гормон та пролактин. У свою чергу, соматотропний гормон в досліді in vivo та in vitro впливає на різні параметри тимоцитів, зокрема, на їх міграцію та диференціювання. Важливими посередниками імунних та нейроендокринних взаємовідношень як в здоровому організмі, так і у хворому, вважаються стероїдні гормони [10]. Окрім того, однією з провідних функцій пінеальної залози, що реалізується через дію мелатоніну та епіфізарних пептидів, є її здатність регулювати гуморальну і клітинну імунну

відповідь, проліферацію імунних клітин та продукцію імунних медіаторів [9]. Незважаючи на те, що сам факт щодо взаємодії тимуса і епіфіза на різних етапах онтогенезу вважається доведеним, окремі ланки цього механізму ще потребують детального вивчення. Саме тому зосередження зусиль на вивченні проблеми нейроімуноендокринології є перспективними у новому тисячолітті.

Метою даного дослідження є вивчення можливих наслідків впливу тривалого світлового навантаження на морфофункціональний стан селезінки кролів.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведено на 35 молодих статевозрілих кролях, що утримувалися у різних світлових режимах в умовах віварію на стандартному раціоні. У якості контролю обрані тварини (7 кролів), які знаходилися в умовах природної зміни дня та ночі. Піддослідні тварини (28 кролів) утримувалися в умовах цілодобового освітлення (вдень – природне освітлення, вночі – електричне). Інтенсивність штучного освітлення складала 30-40 люкс, тривалість експерименту – 6 місяців. Після вилучення селезінки шматочки органів фіксували в 10% формаліні, проводили крізь спирти в наростаючій концентрації й заливали в парафін. Після чого готували зрізи товщиною 5 мкм, які зафарбовували гематоксилін-еозином та пікрофуксіном за методом Ван-Гізон. Мікроскопічні дослідження виконані на мікроскопі Olympus BX-41. Для з'ясування взаємин між різними компонентами селезінки визначалися відносні об'єми основних структурних компонентів селезінки (стромально-судинного компоненту, білої та червоної пульпи) з використанням сітки на 100 крапок [1]. Морфометричні дослідження проводилися з використанням програми Olympus DP-Soft (Version 3:1). Проведено вимірювання товщини капсули та розмірів лімфоїдних фолікулів. Щільність клітин визначалась у різних структурно-функціональних зонах селезінки (кількість клітин на 100 мкм²). Отримані цифрові дані оброблялися методами варіаційної статистики, вірогідність відмінностей між середніми у малих вибірках визначали за допомогою критерію Ст'юдента. Математичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою пакету прикладних програм фірми Microsoft «EXCEL».

Експерименти проведені у відповідності з положенням Європейської конвенції щодо захисту

хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986 р.), Закону України № 3447 – IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001 р.).

Результати дослідження та їх обговорення. Отримані дані свідчать про те, що через 2 місяці експерименту не відбувається достовірних змін відносних об'ємів структурних компонентів селезінки (**табл. 1**). Виявлено незначне зростання великого розміру та зменшення малого розміру лімфоїдних фолікулів (**табл. 2**), що може бути пов'язано лише зі змінами конфігурації фолікула, адже щільність клітин не відрізнялась від такої у групі контролю (**табл. 3**). Можливо, стресові фактори вперше діють на центральні органи імунної системи, адже окремі дослідники відзначали структурні зміни в тимусі вже після 2 тижнів постійного емоційного стресу [8].

Після 4 місяців тривалого цілодобового освітлення в селезінці виявлено достовірне зростання відносних об'ємів стромально-судинного компонента та білої пульпи на тлі зниження відносного об'єму червоної пульпи (**табл. 1**). При гістологічному дослідженні тканини селезінки у цій групі експериментальних тварин відзначалися ознаки гіперплазії білої пульпи, лімфоїдні фолікули були досить крупними, велика кількість з них мала реактивні світлі центри. Ці дані підтверджуються достовірним збільшенням розмірів лімфоїдних фолікулів та товщини капсули, як в порівнянні з групою контролю, так і в порівнянні з попередньою групою (**табл. 2**). Слід зазначити, що збільшення відносного об'єму білої пульпи у цей період відбувалась переважно за рахунок збільшення розмірів фолікулів. Щільність клітин в структурно-функціональних зонах селезінки достовірно не відрізняється від аналогічних показників групи контролю, але була трохи більшою, ніж у попередній групі (**табл. 3**). Можливо, це пов'язано з активацією центральних органів імунної системи, зокрема тимуса, та підвищення трафіку лімфоцитів у периферичні органи імунної системи, адже деякі автори вказують на стимулюючу дію стресових факторів на початку експерименту [3].

Таблиця 1.

Відносні об'єми основних структурних компонентів селезінки кролів контрольної та експериментальних груп (M±m), %

Група	Відносний об'єм стромально-судинного компоненту	Відносний об'єм білої пульпи	Відносний об'єм червоної пульпи
Контрольна група	3,66±0,13	38,01±0,4	58,33±0,4
Група кролів після 2 місяців експерименту	3,96±0,15	38,19±0,45	57,85±0,39
Група кролів після 4 місяців експерименту	6,15±0,15***	45,09±0,69***	48,76±0,71***
Група кролів після 6 місяців експерименту	7,43±0,22***	27,62±0,55***	64,94±0,57***

Примітки. ***p<0,001 (у порівнянні з групою контролю).

Таблиця 2.

Розміри структурних компонентів селезінки кролів контрольної та експериментальних груп (M±m), мкм

Групи	Великий розмір лімфоїдного фолікула	Малий розмір лімфоїдного фолікула	Капсула селезінки
Контрольна група	346,5±4,54	277,45±4,44	22,06±0,44
Група кролів після 2 місяців експерименту	371,03±5,23*	264,64±4,48*	22,77±0,51
Група кролів після 4 місяців експерименту	489,88±5,61***	357,88±4,05***	39,53±1,05***
Група кролів після 6 місяців експерименту	263,73±3,59***	199,24±2,5***	47,25±0,86***

Примітки. * – p<0,05, *** – p<0,001 (у порівнянні з групою контролю).

Таблиця 3.

Щільність клітин селезінки кролів контрольної та експериментальних груп (M±m), од. в 100 мкм²

Групи	T-зона	B-зона
Контрольна група	410,58±3,57	249,47±2,96
Група кролів після 2 місяців експерименту	397,11±5,66	242,67±3,12
Група кролів після 4 місяців експерименту	406,77±4,55	251,68±4,54
Група кролів після 6 місяців експерименту	257,12±4,29***	181,79±2,4***

Примітки. *p<0,001 (у порівнянні з групою контролю).

Після 6 місяців експерименту в селезінці вірогідно збільшуються відносні об'єми стромально-судинного компонента та червоної пульпи, тоді як об'єми білої пульпи достовірно нижчі, ніж у контрольній та попередніх групах (**табл. 1**). При гістологічному дослідженні селезінки визначалась гіпоплазія пульпи, посилення склеротичних процесів в капсулі та трабекулах, а також збільшення кількості зруйнованих еритроцитів та вільно розташованого гемосидерину в червоній пульпі. Слід зазначити, що розміри фолікулів

достовірно менше, ніж у групі контролю та попередніх групах, зросли також показники товщини капсули (**табл. 2**). Окремі автори спостерігали підвищення у 2,5 рази частки сполучено-тканинного каркасу селезінки в похилому віці, що пов'язано з віковою інволюцією органа [5]. Щодо щільності клітин, то відзначалося прогресивне вірогідне зменшення показників по відношенню до попередніх експериментальних груп і контролю (**табл. 3**). Волкова Л.В. (1996) вказує на те, що селезінка є дуже уразливою до дій стресових факторів, в ній спостерігаються зміни цитоархітекtonіки лімфоїдних фолікулів та червоної пульпи, які вказують на пригнічення процесів диференціювання лімфоцитів та посилення деструктивних процесів [3]. Мураєва Н.А. (2006) вважає, що значні прояви клітинної загибелі та пригнічення проліферації лімфоцитів можуть бути пов'язані з функціональною активністю симпатичної нервової системи при стресі, яка регулює міграцію імуніцитів, та гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи, яка відповідальна за посилення процесів клітинної загибелі [6].

Висновки

1. Після 2 місяців постійного цілодобового освітлення не виявлено сутніх структурних змін у селезінці кролів в порівнянні з групою контролю, а також вірогідних розбіжностей у морфометричних показниках.

2. Через 4 місяці експерименту відзначається зростання склеротичних змін строми селезінки на фоні гіперплазії білої пульпи та незначного збільшення щільності клітин у Т- та В- зонах, у порівнянні з попередньою групою.

3. Після 6 місяців тривалого світлового навантаження склеротичні процеси посилюються, що супроводжується гіпоплазією білої пульпи, зменшенням щільності клітин у Т- та В-зонах селезінки та посиленням дегенеративних процесів, особливо виражених у червоній пульпі.

Перспективи подальших досліджень. Вважаю доцільним продовження досліджень у цьому напрямку з подальшим вивченням морфологічного стану як периферичних, так і центральних органів імунної системи, що дозволить виявити наслідки негативного впливу тривалого світлового навантаження на функціонування імунної системи в цілому.

Література

1. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 2002. – 240 с.
2. Акмаев И.Г. От нейроэндокринологии к нейроиммуноэндокринологии / И.Г. Акмаев, В.В. Гриневич // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2001. – Т.131, № 1. – С. 22-32.
3. Волкова Л.В. Морфофункциональные изменения в тимусе и селезенке при стрессовых воздействиях (экспериментально-морфологическое исследование): автореф. на соискание ученой степени доктора мед. наук: спец. 14.00.02 «анатомия человека» / Л.В. Волкова. – Москва, 1996. – 42 с.
4. Кузьминова И.А. Влияние гипопинеализма на биоритмы показателей липидного спектра крови у кроликов / И.А. Кузьминова, Л.А. Бондаренко // Буковинський медичний вісник. – 2006. – Т. 10, № 4. – С. 93-96.
5. Молдавская А.А. Морфологические критерии строения селезенки в постнатальном онтогенезе / А.А. Молдавская, А.В. Долин // Успехи современного естествознания. – 2009. – № 2. – С. 15-18.
6. Мураева Н.А. Возрастные аспекты приспособления иммунной системы к действию хронического стресса: автореф. на соискание ученой степени кандидата мед. наук: спец. 03.00.25 «гистология, цитология, клеточная биология» / Н.А. Мураева. – Волгоград, 2006. – 114 с.
7. Надзвєцький В.С. Вплив постійного освітлення і мелатоніну на білок гліальних проміжних ферментів у різних відділах головного мозку щурів / В.С. Надзвєцький, П.О. Неруш // Медична хімія. – 2004. – Т. 6, № 1. – С. 27-32.
8. Сапин М.Р. Иммунная система, стресс и иммунодефицит / М.Р. Сапин, Д.Б. Никитюк. – М.: АПП «Джангар», 2000. – 184 с.
9. Franchini F. Role of melatonin and pineal peptides in neuroimmunomodulation / F. Franchini, R.J. Reiter. – New-York: Plenum press, 1991. – 329 p.
10. Harbuz M. Immune-neuroendocrine interactions / M. Harbuz // Trends in endocrinology and metabolism. – 2003. – Vol. 14, № 2. – P. 51-52.
11. Roberts J.E. Visible light induced changes in the immune response through an eye-brain mechanism (photoneuroimmunology) / J.E. Roberts // J. Photochem photobiol B. – 1995. – № 29 (1). – P. 3-15.

УДК 616.411-091.8-001.14/.15-092.9

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В СЕЛЕЗІНЦІ КРОЛІВ ПРИ ТРИВАЛОМУ СВІТЛОВОМУ НАВАНТАЖЕННІ ЗА ДАНИМИ МОРФОМЕТРИЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

Бочарова Т. В.

Резюме. Тривале цілодобове освітлення викликає велику кількість порушень, які приводять до розвитку вікової патології, але дані щодо впливу порушення світлового режиму на функціонування імунної системи досить обмежені. Дослідження проведено на 35 статевозрілих кролях. Групу контролю склали 7 тварин, які утримувалися в умовах природної зміни дня та ночі, піддослідні тварини (28 кролів) утримувалися в умовах цілодобового освітлення. Проведено морфометричне дослідження тканини селезінки з визначенням відносних об'ємів основних структурних компонентів селезінки та щільності клітин, а також вимірювання розмірів фолікулів та товщини капсули. Не виявлено достовірних розбіжностей у морфометричних показниках селезінки кролів після 2 місяців експерименту. Через 4 місяця цілодобового освітлення визначалась гіперплазія білої пульпи селезінки з незначним підвищенням щільності клітин. Після 6 місяців експерименту виявлено посилення склеротичних процесів на тлі гіпоплазії білої пульпи та зниження щільності клітин у Т- та В-зонах селезінки.

Ключові слова: селезінка, цілодобове освітлення, морфометрія.

УДК 616.411-091.8-001.14/.15-092.9

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕЛЕЗЕНКЕ КРОЛИКОВ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ СВЕТОВОЙ НАГРУЗКЕ ПО ДАННЫМ МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Бочарова Т. В.

Резюме. Длительное круглосуточное освещение вызывает целый ряд изменений, которые приводят к развитию возрастной патологии, но данные о влиянии нарушений светового режима на функционирование иммунной системы весьма ограничены. Исследование проведено на 35 половозрелых кроликах. Группу контроля составили 7 животных, которые удерживались в условиях природной смены дня и ночи, подопытные животные (28 кроликов) удерживались в условиях длительного круглосуточного освещения. Проведено морфометрическое исследование ткани селезенки с определением относительных объемов основных структурных компонентов селезенки и плотности клеток, а также изменение размеров фолликулов и толщины капсулы. Не выявлено достоверных различий в морфометрических показателях селезенки кроликов после 2 месяцев эксперимента. Через 4 месяца круглосуточного освещения определялась гиперплазия белой пульпы селезенки с незначительным увеличением плотности клеток. После 6 месяцев эксперимента обнаружено усиление склеротических процессов на фоне гипоплазии белой пульпы и снижения плотности клеток в Т- и В-зонах селезенки.

Ключевые слова: селезенка, круглосуточное освещение, морфометрия.

UDC 616.411-091.8-001.14/.15-092.9

STRUCTURAL CHANGES OF RABBIT'S SPLEEN DURING PROLONGED LIGHT LOAD: A MORPHOMETRIC INVESTIGATION

Bocharova T. V.

Abstract. Prolonged all-day illumination is considered nowadays as one of the stress-factors for the living organism and causes malfunctions of the neuroendocrinal system and may initial immune dysfunction. This investigation described morphological changes in the spleen under prolonged all-day illumination modeled on rabbits. 35 adult rabbits were used. Animals were fed on a standard diet but in different light models. Control animals (7 rabbits) were kept in natural day and night lightening conditions. Test animals (28 rabbits) were kept under natural lightening in the day period and under electric lightening in the night. Observations were made using a microscope Olympus BX-41. The histological sections stained with Hematoxylin and Eosin and van Gieson were examined by morphometry using program "Olympus DP-Soft (Version 3:1)". In each field the number of points lying over each structural component was counted. As the grid consists of 100 points, each count represented the percentage of the total area occupied by a specific component. The areas of the stromal-vascular component, white and red pulp was directly measured and calculated as a percent of the total area examined. The width of the fibrous capsule of the spleen and the size of the lymphatic follicles were measured. The density of the cells in the different structural-functional zones of the spleen (N / 100 μ m²) was calculated. No statistical differences were observed for the rabbit's spleen after 2 month of the all-day illumination. Morphometric analysis showed that the compartment occupied by the white pulp was greater in the rabbit's spleen after 4 month of the all-day illumination (45,09 \pm 0,69 %) than in the normal control rabbits (38,01 \pm 0,4 %). A lot of follicles appeared enlarged and with a wide clear center. The compartment occupied by the stromal-vascular component was greater in the rabbit's spleen after 4 (6,15 \pm 0,15 %) and 6 month of the all-day illumination (7,43 \pm 0,22 %) than in the normal control rabbits (3,66 \pm 0,13 %). The width of the fibrous capsule was increased in the spleens of the rabbits after 4 month of the all-day illumination (39,53 \pm 1,05 μ m) and after 6 month too (47,25 \pm 0,86 μ m) than in the normal control rabbits (22,06 \pm 0,44 μ m). The compartment occupied by the white pulp was smaller in the rabbit's spleen after 6 month of the all-day illumination (27,62 \pm 0,55 %) than in the normal control rabbits and previous group. The number of cells in T-zone (257,12 \pm 4,29 %) and B-zone (181,79 \pm 2,4 %) was statistically decreased in the spleen after 6 month of all-day illumination than in the spleen of the control rabbits (410,58 \pm 3,57 % in T-zone and 249,47 \pm 2,96 % in B-zone). Histologically we observed a hypoplasia of the white pulp, reduction in the size and number of lymphoid follicles, intensified formation of the connective tissue, degenerative changes of lymphocytes. These changes in the spleen caused by the prolonged all-day illumination indicate both a premature aging of the spleen and probably of all the immune system.

Keywords: spleen, all-day illumination, morphometry.

*Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.
Стаття надійшла 20.03.2016 року*