

Ключко С.С.

**Особливості формування імунної відповіді в шлунку щурів після введення антигену**

**Резюме.** В дослідженні встановлена динаміка формування місцевої імунної відповіді слизової оболонки шлунку щурів після однократного внутрішнього введення вакцини Ваксігрипп. Лимфоїдні структури та система мікроциркуляції генетично детерміновані і представляють собою єдину систему швидкої відповіді на антиген, активно регулюючи місцевий імунний гомеостаз.

**Ключові слова:** імунітет слизових оболонок, шлунок, мікроциркуляція, антиген, мікроскопічний метод.

S.S. Kluchko

**Particularities of Development of Immune Response in the Stomach of Rats after Injection of Antigen**

**Summary.** During the research the dynamic of the development of immune response by the mucous tunic of rats' stomach after the single prenatal injection of Vacsygripp vaccine was studied. The lymphoid structures and the microcirculation system are genetically determined and represent the united system of fast response to antigen, actively regulating the local immune homeostasis.

**Key words:** mucosal immunity, stomach, microcirculation, antigen, microscopical method.

Поступила 01.03.2013 года.

УДК 57.012.4:591.147.3:57.044

Ковешніков В.Г., Волошин В.М., Волошина І.С., Кожемьяка І.Я., Міщенко Н.П.

**Ультрамикроскопічна будова кори тимуса білих щурів після інгаляційного впливу толуола**

Кафедра анатомії людини (зав. каф. – проф. В.І.Лузін)

Державного закладу «Луганський державний медичний університет»

**Резюме.** У дослідженні представлені дані стосовно особливостей ультрамикроскопічної будови тимуса щурів, які знаходилися в умовах інгаляційного впливу толуолу. В експерименті були використані 24 білих лабораторних статевозрілих щурів-самців (початкова маса тіла – 130-150 г). Тварини знаходилися в умовах впливу толуолу у концентрації 500 мг/м<sup>3</sup> протягом 60 днів (5 днів на тиждень/5 годин на добу). Щурів виводили з експерименту через 1 та 30 днів після припинення дії толуолу. Використовували методи трансмісійної та растрової електронної мікроскопії. Було вивчено тонку структуру тимоцитів тварин контрольної та експериментальної груп на різних стадіях мітотичного циклу. Встановили, що за умов дії толуолу виникає зменшення кількості тимоцитів у корі тимуса та зменшення показника ядерно-цитоплазматичного відношення у цих клітинах. Крім того, вплив толуолу викликає збільшення кількості макрофагів та збільшення вмісту лізосом в останніх.

**Ключові слова:** тимус, толуол, інгаляція, електронна мікроскопія.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.**

Останнім часом з'являється все більше морфологічних робіт, пов'язаних з вивченням структури органів імунної системи за умов впливу різних екзогенних факторів [1, 2, 3, 4, 5]. Одним з них є вплив на організм толуолу. Толуол є досить розповсюдженою в оточуючому середовищі легкою органічною сполукою, з якою людина протягом життя контактує дуже часто. Толуол широко використовується у виробництві фарб, різних розчинників, лаків, резини. У побуті контакт з толуолом, який є розчинником, також поширений, тому що він входить до складу лаків (у тому числі лак для нігтів), та інших споживчих товарів (меблі, тканини, пластмасові вироби, іграшки та ін.) [7, 8]. Люди, які палять, також зазнають дії невеликої кількості толуолу [6].

**Мета дослідження.** Вивчення ультраструктури кори тимуса контрольних щурів та тварин, які зазнавали інгаляційного впливу толуолу. Робота виконана відповідно до плану 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 летучих компонентів епоксидних смол» (номер державної реєстрації – 0109U004615).

**Матеріал і методи дослідження**

Дослідження виконано на 24 білих щурах-самцях, які були введені в експеримент у 3-х місячному (початкова маса тіла - 130-

150 г) віці. Контрольну серію склали щури, які знаходилися у таких самих умовах, що і експериментальні тварини, за виключенням контакту з толуолом. Експериментальні щури (І серія) зазнавали впливу толуолу у концентрації 500 мг/м<sup>3</sup> протягом 60 днів (5 днів на тиждень / 5 годин на добу). Кожна серія тварин була розділена на дві групи (по 6 щурів в кожній групі) відповідно до терміну виведення тварин з експерименту (1 та 30 днів після припинення впливу толуолу). Після закінчення зазначеного терміну тварин виводили з експерименту шляхом дислокації шийних хребців під ефірним наркозом, дотримуючись «Методичних рекомендацій з виведення лабораторних тварин з експерименту». Для трансмісійної електронної мікроскопії шматочки тимуса розміром близько 1 мм<sup>3</sup> фіксували в 2,5% розчині глутар-альдегіду за М. Karnovsky протягом 1 години, після чого розміщували їх в 1% розчині тетраоксида осмію за G. Palade на 1 годину. Після дегідратації в етанолі з концентрацією, що збільшувалася, та абсолютному ацетоні матеріал заливали сумішшю епоксидних смол (епон-аралдит). Полімеризацію проводили протягом 36 годин при 60°C. Ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамикротомі УМТП-4 виробництва Сумського ВО «Електрон» (Україна), контрастували їх у розчині уранілацетату та цитрату свинцю за E. Reynolds, після чого вивчали їх за допомогою електронного мікроскопа EM-125. Фотознімки, отримані з використанням EM-125, використані нами як ілюстрації. Попередня підготовка шматочків тимуса для растрової електронної мікроскопії проводилася за вищезазначеною методикою. Перед виконанням мікроскопії на попередньо замороженому за допомогою рідкого азоту препараті здійснювали злам тканини і вивчали його за допомогою електронного мікроскопу PEMMA-102.

**Результати дослідження**

В інтерфазі тимоцити мають форму близьку до кола або овалу. Контури клітинної мембрани рівні, без відростків. Ядра тимоцитів відносно великі, локалізуються практично в центрі клітини та часто повторюють її форму. Нерідко на оболонці ядра зустрічаються інвагінації. Тимоцити відрізняються один від одного за розміром, проте характерною ознакою для всіх клітин є досить вузька смужка цитоплазми, що оточує ядро. Нами було виявлено значну варіацію форми ядра та поширення об'єму цитоплазми. Відсутність окремого ядерець у тимоцитів є правилом, проте серед великого розміру клітин існують такі, які у своєму ядрі містять ділянки більш компактно розташованого хроматину. В усіх випадках, які ми вивчали, ядра тимоцитів у інтерфазі містили електронно щільні ділянки гетерохроматину, який асоціюється з ядерною оболонкою та доволі часто візуалізується у центрі ядра. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення може коливатися,

проте у всіх випадках зазначений показник виявився досить високим. Цитоплазма тимоцитів у інтерфазі характеризується незначною кількістю органел. У них видно поодинокі мітохондрії. Досить рідко ми зустрічали в них елементи ендоплазматичного ретикула, представленого цистернами та канальцями, що сполучалися з оболонкою клітини. Велика кількість рибосом та полісом розповсюджена по всій площі цитоплазми. Проте, деінде близько клітинної мембрани були виявлені ділянки, вільні від рибосом. На деяких фотографіях ми спостерігали невеликі за розмірами ділянки, що характеризувалися високою електронною щільністю. Це – центріолі. В межах окремої клітини їх розмір практично не відрізнявся один від одного. Мало помітним був також комплекс Гольджі.

На ранніх стадіях профазі більша частина хроматину була представлена еухроматином. Площа конденсованого хроматину дещо зменшується, але у профазі він розповсюджується по всій поверхні ядра. Значною подією у цій стадії є більш помітні центріолі. На окремих електроннограмах ми спостерігали ці органели. На фотознімках тимоцитів, що знаходилися у профазі, ми визначали концентрацію рибосом у цитоплазмі, що об'єднані у свого роду кластери – полісоми. Останні є подібними до таких же структур епітеліоретикулоцитів та інших клітин. У тонкій структурі тимоцитів, що знаходяться у профазі, деінде були помічені ділянки з дублікацією ядерної оболонки. Типовим для цієї фази ділення клітини є утворення веретена поділу, яке побудоване з мікротрубочок. На електроннограмах, які ми вивчали, періцентріолярного матриксу та утворень, що знаходяться навколо центріолей, у зв'язку з малим для цих структур збільшенням виявлено не було.

Використовуючи нашу базу електроннограм, прослідкувати всі етапи переходу профазі у метафазу не вдалося. Деінде можна демонструвати тимоцити, що знаходяться у метафазі. Видно, що гетерохроматин локалізується переважно у ділянці екватора клітини. Зберігається тенденція до агрегації рибосом, що розпочалася у попередній фазі, та стає більш вираженою. У цій фазі спостерігається інтенсивне розшарування оболонки ядра. Іншою характерною для метафазі ознакою є роздуті простори у кристах мембран окремих мітохондрій. Хоча, такі ж простори виявлялися нами і у інтерфазі, їх кількість в останньому випадку була значно меншою.

В анафазі агрегація рибосом більш виражена, ніж у метафазі. Мітохондрії та рибосоми локалізуються у різних ділянках цитоплазми, у тому числі – у центрі серед мікротрубочок веретена поділу. В цій фазі ми спостерігали типові для неї пори ядерної мембрани. На одному із знімків були знайдені дрібні цистерни, що були залишками мембрани ядра. В кінці анафазі клітина на рівні свого екватору звукується.

Під час телофазі дві дочірні клітини відокремлюються одна від одної. Вздовж лінії поділу спостерігається вузька ділянка цитоплазми вільна від рибосом. На цьому рівні деінде спостерігається ледве помітний «ланцюжок» везикул. В мітохондріях більшості клітин, як і в попередній фазі мітозу, ми зустрічали простори у кристах їх мембран.

В корі тимуса доволі часто зустрічаються макрофаги. Форма ядра цих клітин повторює форму клітини. Форма клітини непостійна. Цитоплазма клітин утворює псевдоніжки. Внаслідок малого збільшення мікрофіламенти, які допомагають змінювати розміри псевдоніжок, не виявляються. Мембрана ядра містить інвагінації, що збільшують площу контакту ядра з цитоплазмою і, відповідно, збільшують активність взаємодії між ними. Поруч з дисперсним хроматином ми розрізняли невеликі ділянки гетерохроматину, що розташовувалися близько внутрішньої ядерної мембрани. На електроннограмі гарно видно первинні лізосоми та електронно щільні фагосоми. Злиття останніх приводить до утворення вторинних лізосом (фаголізосом). Під цито-

лемою розташовані піноцитозні везикули. Мітохондрій у макрофагах небагато. Ендоплазматичний ретикулум в клітинах розвинутий помірно і представлений окремими невеликими структурами.

Через 1 день після припинення впливу на організм щурів толуолу спостерігалось помірне зменшення площі, що займали ядра тимоцитів. На відміну від контролю на електроннограмах тимуса щурів I серії мембрана ядер тимоцитів має фестончасту форму за рахунок чисельних інвагінацій у бік ядра, що збільшує контакт цитоплазми з ядром клітини. Хроматин переважно розташовується по периферії ядра. На деяких електроннограмах тимуса щурів контрольної та I серії ми спостерігали явища апоптозу тимоцитів. Характерними ознаками апоптозу є конденсація хроматину та зміни з боку будови мітохондрій. Останні виявляють себе у вигляді зменшення кількості крист та деструктуризації мембрани, що оточує мітохондрії та набування інших органел. Через 30 днів після припинення дії толуолу кількість фігур мітозу у порівнянні з даними I групи I серії залишається практично на тому ж самому рівні. На електроннограмах тимуса щурів, які зазнавали впливу толуолу, реєструється більша, ніж у контролі, кількість макрофагів. Загалом, їх будова повторює таку в контролі. Проте, кількість первинних та вторинних лізосом збільшується.

При дослідженні структури тимуса за допомогою скануючого електронного мікроскопа нами були виявлені деякі особливості будови цього органу. На знімку представлена тонка тривимірна структура тимоцитів. Кортикальні тимоцити – переважно кулясті клітини з гладенькою поверхнею. Їх розміри можуть значно відрізнятися одне від одного. Значну частину клітин, на відміну від мозкової речовини органу, складають великі тимоцити. Розмір тимоцитів коливається у межах від 4 мкм до 8 мкм. На поверхні клітин спостерігалися мікрівідростки, довжина яких досягала 3 мкм. Крім того, на поверхні тимоцитів дуже часто зустрічались утворення, що нагадували маленькі півкулі. Останні свідчать про різні етапи дозрівання тимоцитів. Між клітинами розташовані відростки епітеліоретикулоцитів.

### Обговорення

Висвітлені структурні зміни в клітинах тимуса, на нашу думку, перш за все пов'язані з підсиленням процесів лімфоцитоліза, який характеризується зменшенням кількості лімфоїдних клітин, збільшенням кількості клітин, що зазнають дегенеративних змін та макрофагів. Крім того, зменшення чисельності бластів та клітин, що діляться, свідчить про зниження лімфопоетичної функції тимуса при токсичному впливі.

### Висновки

1. Інгаляційний вплив толуолу викликає зменшення кількості тимоцитів кори тимуса.
2. Вплив толуолу викликає зменшення ядерно-цитоплазматичного індексу в тимоцитах.
3. Кількість макрофагів під дією толуолу збільшується.

### Перспективи подальших досліджень

Наступні дослідження будуть присвячені вивченню ультроструктури капілярів кори тимуса щурів після інгаляційного впливу толуолу.

### Література

1. Волошин Н.А. Тимус новорожденных / Н.А. Волошин, Е.А. Григорьева. – Запорожье, 2011. – 154 с.
2. Ковешников В. Г. Функциональная морфология органов иммунной системы // Ковешников В. Г., Бирик Е. Ю. – Луганск: «Виртуальная реальность», 2007. – 172 с.
3. Колбасеева О. В. Периферический лимфопоз и структура селезенки при отравлении этиленгликолем и коррекции арабиногалактаном / О.В. Колбасеева, Л. С. Васильева // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – №5. – С. 37-39.

4. Мотуляк А. П. Гермінативні центри лімфатичних вузликів селезінки у ранньому постнатальному періоді онтогенезу після дії малих доз радіації / А. П. Мотуляк // Буковинський медичний вісник. – 2008. - Т.12, №2. – С. 98-102.

5. Никитенко О.В. Структурно-функциональная организация тимуса в условиях экспериментального токсического (селенового) воздействия / О.В. Никитенко, И.И. Кошелева // Вестник молодых ученых Республики Башкортостан. – 2012, № 1. – С. 75-80.

6. Alonso M., Castellanos M., Sanchez J. Evaluation of potential breath biomarkers for active smoking: assessment of smoking habits / M.Alonso, M.Castellanos, J. Sanchez // Anal Bioanal Chem. – 2010 - № 396(8). – P. 2987-2995.

7. Auyero J. The social production of toxic uncertainty / J. Auyero, D. Swistun // American sociological review. – 2008. – vol. 73(3). – P. 357-379.

8. Final amended report of the safety assessment of toluene-2,5-diamine, toluene-2,5-diamine sulfate and toluene-3,4-diamine as used in cosmetics / Christina L. Burnett, Wilma F. Bergfeld, Donald V. Bel-sito, Kurtis D. Klaassen, James G. Marks // International Journal of toxicology. – 2010. – vol. 29(3). – P. 61S-83S.

*Ковешников В.Г., Волошин В.Н., Волошина И.С., Кожемяка И.Я., Мищенко Н.П.*

#### **Ультрамикроскопическое строение коры тимуса белых крыс после ингаляционного влияния толуола**

**Резюме.** В исследовании представлены данные относительно особенностей ультрамикроскопического строения тимуса крыс, которые находились в условиях ингаляционного влияния толуола. В эксперименте были использованы 24 белых лабораторных половозрелых крыс-самцов (начальная масса тела – 130-150 г). Животные находились в условиях влияния толуола в концентрации 500 мг/м<sup>3</sup> в течение 60 дней (5 дней в неделю / 5 часов в сутки). Крыс выводили из эксперимента через 1 и 30 суток после пре-

ращения действия толуола. Использовали методы трансмиссионной и растровой электронной микроскопии. Была изучена тонкая структура тимоцитов животных контрольной и экспериментальной групп на разных стадиях митотического цикла. Установили, что в условиях действия толуола возникает уменьшение количества тимоцитов в коре тимуса и снижение показателя ядерно-цитоплазматического отношения в этих клетках. Кроме этого влияние толуола вызывает увеличение количества макрофагов и увеличение содержания лизосом в последних

**Ключевые слова:** тимус, толуол, ингаляция, электронная микроскопия.

*V.G. Koveshnikov, V.N. Voloshin, I.S. Voloshina, I.Y. Kozhemyaka, N.P. Mischenko*

#### **Ultramicroscopic Structure of the Thymus Cortex of White Rats Exposed to Inhalation of Toluene**

**Summary.** The study provides data about the characteristics of ultramicroscopic structure of the thymus of rats, which were exposed to inhalation of toluene. The experiment used 24 white lab mature male rats (initial body weight - 130-150 g). The animals were under the influence of toluene at concentrations of 500 mg/m<sup>3</sup> for 60 days (5 days per week / 5 hours a day). Rats were taken out of the experiment in 1 and 30 days after the termination of toluene influence. Thymuses were studied by transmission and scanning electron microscopy. We studied the fine structure of thymocytes of control and experimental animals in different stages of the mitotic cycle. It was found that in the conditions of the reduction of toluene occurs thymocytes in the cortex and decline of the nuclear-cytoplasmic ratio in these cells. Besides this influence, toluene causes an increase in the number of macrophages and increase of the number of lysosomes.

**Keywords:** thymus, toluene, inhalation, electron microscopy.

Надійшла 01.03.2013 року.

УДК:611.41:611.018.8:611.136.42:612.64/68:612.08

*Колісник І.Л.*

#### **Джерела формування та зовнішня будова нервів селезінкового сплетення**

Кафедра анатомії людини (зав. каф. - проф. А.О.Терещенко)  
Харківський національний медичний університет

**Резюме.** Макромікроскопічним методом препарування визначені топографічні особливості іннервації селезінки. За характером галуження нервових стовбурів селезінкового сплетення можна виділити крайні форми: розсіпну і концентровану. При розсіпній формі селезінкового сплетення частіше спостерігалася подовжена форма воріт, а при концентрованій – коротка і широка.

**Ключові слова:** селезінка, селезінкова артерія, червоне сплетення, нерви, селезінкове сплетення.

#### **Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.**

Практичну і теоретичну медицину останнім часом цікавить селезінка, функції якої різноманітні і важливі для організму [1]. Селезінка має велике значення для забезпечення повноцінного імунобіологічного статусу організму, виконує гемолітичну, гемостатичну, гемодинамічну, захисну, гемореґулюючу, метаболічну функції, у зв'язку з цим загострилася проблема зберігання операцій на цьому органі [2].

Особливості будови селезінки як паренхіматозного органу з магістральним кровопостачанням обумовлюють часті травматичні пошкодження органу, що зустрічаються на даний час, спонтанні розриви на тлі різних патологій. У зв'язку із заміною спленектомії на часткову спленектомію за останні роки значно розширилися оперативні втручання на селезінці [3,4].

Для удосконалення техніки операцій на селезінці хірургів необхідно знати будову її «судинної ніжки», будову судинно-

нервового апарату селезінки, внутрішньоорганного кровоносного русла в зональному і сегментарному аспекті, що дозволило б знизити частоту вимушених спленектомій [5,6,7].

Дане дослідження є складовою частиною комплексної науково-дослідної теми кафедри анатомії людини Харківського національного медичного університету «Морфологічні особливості ендокринної системи, периферійної нервової системи в нормі та під впливом деяких чинників» (номер державної реєстрації 0108U007050).

**Мета дослідження:** Детально вивчити структурні і топографічні особливості джерел іннервації селезінки.

#### **Матеріал і методи дослідження**

Джерела формування і зовнішня будова селезінкового сплетення вивчені методом макромікроскопічного препарування на 30-ти органоконкомплексах, узятих від трупів дорослих людей з використанням анатомічного препарування за В.П.Воробйовим, Р.Д.Синельниковим.

#### **Результати дослідження та їх обговорення**

На вивчених препаратах селезінкове сплетення є вузькопетлистою мережею, що складається з тонких, які важко відділяються від артерій, стовбурів. Стовбури сплетення мають тісний зв'язок з печінковим сплетенням, з яким об'єднані спільністю походження з червоного сплетення.

Селезінкове сплетення на вивчених препаратах фор-