

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БЕЛОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ

Бобрышева И.В.

Луганский государственный медицинский университет

В эксперименте на 180 белых беспородных крысах-самцах трех возрастных периодов (полового созревания, репродуктивного и выраженных старческих изменений) с применением гистологических и морфометрических методов с последующим статистическим анализом установлено, что экспериментально моделируемое иммуносупрессивное состояние вызывает морфологическую перестройку селезенки животных, проявляющуюся в гипоплазии белой пульпы. Наиболее высокий уровень реактивности селезенки в ответ на введение цитостатика наблюдается у животных периода полового созревания. Изменения белой пульпы селезенки крыс периода выраженных старческих изменений протекают на фоне инволютивных процессов.

Ключевые слова: крысы, селезенка, белая пульпа, циклофосфамид.

Иммунная система человека и животных является одной из наиболее чувствительных систем организма, которая быстро реагирует на внешние воздействия [1, 9]. Цитостатическая терапия, широко применяемая для лечения злокачественных опухолей, аутоиммунных заболеваний, в трансплантологии, сопряжена с развитием осложнений, связанных с повреждающим действием препаратов на различные органы и ткани, в частности, на органы иммунной системы [2]. Несмотря на наличие многочисленных современных исследований, посвященных строению селезенки под влиянием внешних факторов [3, 5, 7], вопросы морфофункциональных изменений лимфоидных образований селезенки в возрастном аспекте остаются изученными недостаточно.

Цель статьи. Главной целью этой работы является изучение особенностей гистологического строения белой пульпы селезенки белых беспородных крыс-самцов в различные периоды постнатального онтогенеза в условиях экспериментальной иммуносупрессии.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили 180 белых беспородных крыс-самцов трех возрастных периодов: полового созревания (массой 30-50 г), репродуктивного (130-150 г) и периода выраженных старческих изменений (300-330 г), полученных из вивария лабораторных животных ГЗ «Луганский государственный медицинский университет». Подопытным животным однократно внутримышечно вводили цитостатик циклофосфамид, часто используемый в клинической практике как самостоятельное, так и в комплексной иммуносупрессивной терапии, в дозировке 200 мг/кг массы тела. Контролем служили крысы, содержащиеся в обычных условиях вивария, которым вводили физиологический раствор в эквивалентных объемах в соответствии с экспериментальной схемой. Животных выводили из эксперимента пу-

тем декапитации под эфирным наркозом через 1, 7, 15, 30 и 60 суток после введения препарата. Содержание и манипуляции над животными проводили в соответствии с основными этическими принципами в сфере биоэтики [11]. Фрагменты селезенки фиксировали в жидкости Буэна, парафиновые срезы толщиной 4-6 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и азуром II-эозином. Гистологическое и морфометрическое исследование проводили с помощью анализатора изображений, состоящего из микроскопа Olympus Sx-41 с цифровой камерой Olympus SP 500UZ и персонального компьютера. При этом на фронтальных срезах селезенки, произведенных на уровне ее ворот, определяли относительную площадь белой пульпы (в%), диаметры лимфатических узелков (в мкм), герминативных центров (в мкм), ширину мантийной зоны (в мкм), краевой зоны (в мкм) лимфатических узелков. Использовали статистические методы, достоверность отличий определяли на основании t-критерия Стьюдента, значимыми считали результаты при статистической ошибке меньше 5% ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение. Изучение гистологических препаратов селезенки крыс контрольной группы позволило установить определенные взаимоотношения ее структурно-функциональных зон. Селезенка животных имеет хорошо выраженную соединительнотканную капсулу и трабекулы, содержащие кровеносные сосуды. Паренхима органа представлена красной и белой пульпой. В состав красной пульпы входят синусоидные капилляры и селезеночные тяжи. Белая пульпа состоит из многочисленных лимфатических узелков и периартериальных лимфоидных муфт. Морфометрические показатели белой пульпы селезенки животных контрольной группы представлены в таблице 1.

Полученные данные об основных морфометрических признаках красной и белой пульпы селезенки крыс контрольной группы соответствуют и

Таблица 1

Морфометрические показатели белой пульпы селезенки белых беспородных крыс-самцов контрольной группы (M+m, n=18)

| Показатели | Группы животных в соответствии с возрастными периодами | | |
|--|--|----------------|---------------------------------|
| | полового созревания | репродуктивный | выраженных старческих изменений |
| Площадь сечения белой пульпы селезенки (%) | 22,81+1,78 | 18,65+1,01 | 12,43+1,15 |
| Диаметр лимфатических узелков (в мкм) | 468,07+15,76 | 421,55+10,23 | 408,17+8,29 |
| Диаметр герминативных центров (в мкм) | 148,23+7,87 | 135,41+2,51 | 120,46+5,44 |
| Ширина мантийной зоны (в мкм) | 45,77+2,12 | 46,33+0,82 | 41,48+1,23 |
| Ширина краевой зоны (в мкм) | 77,39+3,48 | 80,15+1,22 | 72,67+3,67 |
| Ширина периартериальной зоны (в мкм) | 85,26+2,87 | 89,76+2,12 | 80,14+5,17 |

дополняют данные литературы о строении органа у интактных животных [4, 10].

У крыс периода полового созревания после введения циклофосфида селезенка сохраняет типичное строение. Белая пульпа представлена периартериальными лимфоидными муфтами и достаточно крупными лимфатическими узелками, изредка содержащими герминативные центры. Введение цитостатика сопровождается уменьшением относительной площади, занимаемой белой пульпой, на 1 и 7 суток этот показатель на 28,5% и 40,0% ниже контрольного, в дальнейшие сроки наблюдения площадь белой пульпы увеличивается, однако не достигает контрольных значений (рис. 1).

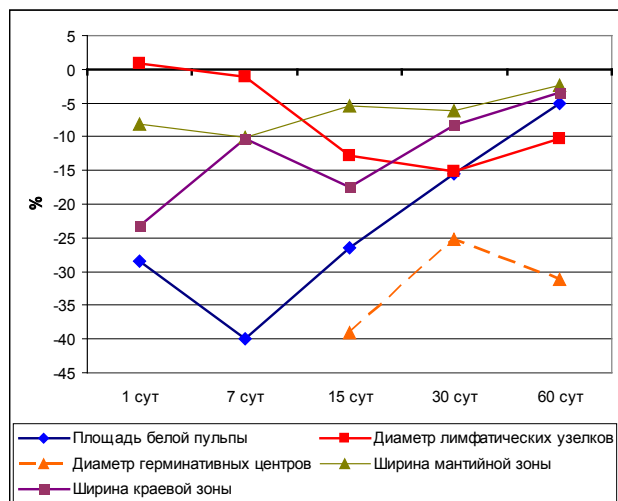


Рис. 1. Динамика морфометрических показателей белой пульпы селезенки крыс периода полового созревания в различные сроки наблюдения после введения циклофосфида

Диаметры лимфатических узелков на 1 и 7 суток статистически значимо не отличаются от данных контроля, в то время, как в более поздние сроки наблюдения (15, 30 и 60 суток) показатели становятся меньше, чем в контрольных группах. Герминативные центры лимфатических узелков в ранние сроки наблюдения после инъекции циклофосфида не определяются. На 15, 30 и 60 суток в селезенке визуализируются небольшие герминативные центры лишь в единичных лимфатических узелках. Их диаметр меньше, чем в соответствующих возрастных группах контрольных животных. Показатели ширины мантийной и краевой зон лимфатических узелков также снижены по сравнению с контролем (рис. 1). Выявленные структурные изменения селезенки животных периода полового созревания свидетельствуют о гипоплазии белой пульпы, которую некоторые авторы связывают с учащением случаев апоптоза и уменьшением уровня пролиферации клеток в ответ на воздействие неблагоприятного фактора [5].

Гистологическое строение селезенки животных репродуктивного периода не отличается от такового контрольных крыс. На препаратах выявляются основные структуры белой пульпы: периартериальные лимфоидные муфты и лимфатические узелки. Граница белой и красной пульпы отчетливо контурируется. Герминативные центры через 1 и 7 суток после введения цитостатика выявляются в единичных лимфатических узелках, в то время как на 15, 30 и 60 суток они определяются значительно чаще. Относительная площадь белой пульпы имеет следующую динамику: на 1 и 7 суток этот показатель на 20,35% и 6,81% ниже контрольного.

В дальнейшие сроки наблюдения (15, 30 и 60 суток) статистически значимых отличий не выявлено. Диаметры лимфатических узелков имеют меньшие размеры по сравнению с контрольной группой на 1,5% (1 сутки), 15,43% (7 суток), 10,11% (15 суток), 8,41% (30 суток) и 3,12% (60 суток). Герминативные центры лимфатических узелков через 1 и 7 суток наблюдения не определяются. На 15, 30 и 60 суток в селезенке выявляются небольшие герминативные центры в лимфатических узелках, их диаметр не превышает контрольных значений. Показатели ширины мантийной и краевой зон лимфатических узелков снижены по сравнению с контролем во всех группах наблюдения (рис. 2).

У крыс периода выраженных старческих изменений селезенка визуально сохраняет типичную структуру, однако, появляются морфологические признаки, которые можно отнести к разряду инволютивных. Так, наблюдается значительное уменьшение относительной площади белой пульпы по сравнению с данными контрольных групп и животных предыдущих возрастных периодов. Центральные артерии лимфатических узелков имеют более толстые стенки за счет развития склеротических изменений. Соединительнотканые трабекулы хорошо выражены, их толщина увеличена, что соответствует возрастной норме [6, 8].

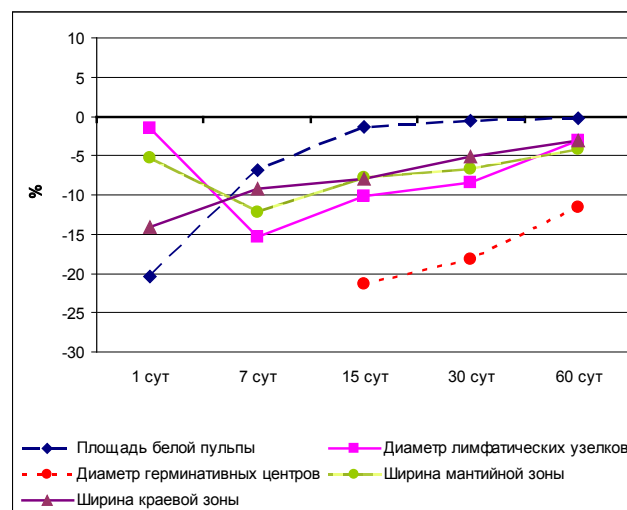


Рис. 2. Динамика морфометрических показателей белой пульпы селезенки крыс репродуктивного периода в различные сроки наблюдения после введения циклофосфида

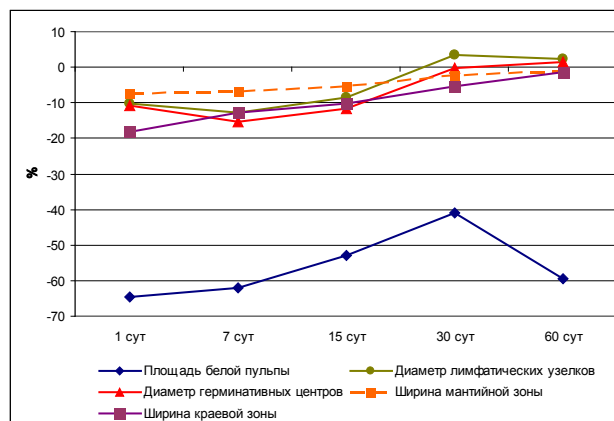


Рис. 3. Динамика морфометрических показателей белой пульпы селезенки крыс периода выраженных старческих изменений в различные сроки наблюдения после введения циклофосфида

В ответ на введение животным циклофосфамида отмечается уменьшение диаметров лимфатических узелков на 10,17% (1 сутки), 12,75% (7 сутки) и 8,80% (15 сутки) относительно контрольных данных (рис. 3). Вместе с тем, в дальнейшие сроки наблюдения размеры лимфатических узелков превышают показатели контроля на 10,50% и 8,75% на 30 и 60 сутки соответственно. Герминативные центры лимфатических узелков выявляются в единичных случаях. Ширина мантийной и краевой зон лимфатических узелков у крыс экспериментальных групп на 1, 7, и 15 сутки наблюдения меньше, чем у контрольных на 7,43%, 6,81%, 5,31% и 18,17%, 12,73%, 10,15% соответственно. В более поздние сроки после введения циклофосфамида статистически значимых отличий от контрольных данных не определяется.

Выводы и предложения.

1. Белая пульпа селезенки у животных контрольных групп в различные периоды постнатального

онтогенеза представлена хорошо выраженными лимфатическими узелками и периартериальными лимфоидными муфтами, у животных репродуктивного периода среди лимфатических узелков преобладают узелки с герминативными центрами, у крыс периода выраженных старческих изменений преобладают инволютивные изменения.

2. Введение циклофосфамида приводит к изменению морфологических характеристик селезенки, проявляющихся в гипоплазии белой пульпы в ранние сроки наблюдения.

3. Наиболее высокий уровень реактивности белой пульпы селезенки в ответ на введение цитостатика наблюдается у животных периода полового созревания.

4. Значительные изменения структуры белой пульпы селезенки крыс периода выраженных старческих изменений протекают на фоне инволютивных процессов.

Список литературы:

1. Буклис Ю. В. Исследование иммунных структур селезенки в условиях хронического радиационного воздействия на организм / Ю. В. Буклис // *Морфология*. – 2010. – Т. 137, № 4. – С. 42.
2. Быков В. Л. Изменения защитных свойств слизистой оболочки пищевода при цитостатической терапии / В. Л. Быков, Е. А. Исеева // *Морфология*. – 2007. – Т. 131, № 3. – С. 60-61.
3. Золотаревская, М. В. Особенности ультраструктуры селезенки после введения иммуностимуляторов в эксперименте / М. В. Золотаревская // *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. – 2011. – Т. 10, № 4. – С. 23-28.
4. Магомедова П. Г. Белая пульпа селезенки крыс после кратковременного воздействия формальдегида / П. Г. Магомедова, М. В. Абрамова // *Морфология*. – 2008. – № 2. – С. 81-83.
5. Мельник Н. О. Реактивні зміни органів імунної системи під впливом патологічних факторів / Н. О. Мельник, І. В. Чекмарьова, Ю. Б. Чайковський // *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. – 2004. – Т. 3, № 3. – С. 5-8.
6. Молдавская А. А. Морфологические критерии строения селезенки в постнатальном онтогенезе / А. А. Молдавская, А. В. Долин // *Успехи современного естествознания*. – 2009. – № 2 – С. 15-18.
7. Нужная Е. К. Особенности динамики органометрических показателей селезенки половозрелых крыс при иммунодефицитом состоянии, вызванном тимэктомией / Е. К. Нужная // *Український морфологічний альманах*. – 2004. – Т. 2, № 1. – С. 59-61.
8. Сапин М. Р. Лимфоидные образования селезенки у людей разного возраста / М. Р. Сапин, М. В. Самойлов // *Архив анатомии, гистологии и эмбриологии*. – 1980. – Т. 94, № 2. – С. 35-40.
9. Чава С. В. Структурная характеристика иммунных образований селезенки мышей после воздействия радиационного фактора низкой интенсивности / С. В. Чава, Ю. В. Буклис // *Морфологические ведомости*. – 2011. – № 4. – С. 65-69.
10. Шепітько В. І. Морфофункціональна характеристика селезінки щурів в нормі / В. І. Шепітько, В. В. Кацай, Є. В. Стецук // *Світ медицини та біології*. – 2010. – № 3. – С. 99-100.
11. European convention for protection of vertebrate animals used for experimental and ether scientific purpose // Council of Europe; 18.03.1986. – Strasburg, 1986. – 52 p.

Бобришева І.В.

Луганський державний медичний університет

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ БІЛОЇ ПУЛЬПИ СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІМУНОСУПРЕСІЇ

Анотація

В експерименті на 180 білих безпородних щурах-самцях трьох вікових періодів (статевого дозрівання, репродуктивного та виражених старечих змін) із застосуванням гістологічних та морфометричних методів з наступним статистичним аналізом встановлено, що експериментальною моделлю імуносупресивний стан викликає морфологічну перебудову селезінки тварин, яка виявляється в гіпоплазії білої пульпи. Найбільш високий рівень реактивності селезінки у відповідь на введення цитостатика спостерігається у тварин періоду статевих дозрівання. Зміни білої пульпи селезінки щурів періоду виражених старечих змін протікають на тлі інволютивних процесів.

Ключові слова: щури, селезінка, біла пульпа, циклофосфамід.

Bobrysheva I.V.

Lugansk State Medical University

MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE WHITE PULP OF RAT SPLEEN AT THE EXPERIMENTAL IMMUNOSUPPRESSION

Summary

During the experiment, conducted on 180 white outbred male rats from three age periods (pubertal, reproductive and of expressed age-related changes) with the use of histological and morphometric methods, followed by statistical analysis, it was established that experimentally simulated immunosuppressive condition causes the morphological remodeling in the animal spleen, which was manifested as white pulp hypoplasia. The highest level of spleen reactivity in response to the cytostatic is observed in pubertal animals. Changes in the spleen white pulp of rats with expressed age-related changes take place against the background of involutive processes.

Keywords: rats, spleen, white pulp, cyclophosphamide.