

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Петизина О.Н., Кащенко С.А., Кувенева О.Н.

Луганский государственный медицинский университет

Исследование проводилось на 24 крысах-самцах. Животным вводился циклофосфан однократно (200 мг/кг). Изучено строение коркового вещества правых подмышечных лимфатических узлов на 7, 30 и 90 сутки после введения препарата. Использовали органомерические, морфологические и статистические методы исследования. Выявили существенные изменения в строении лимфатических узлов на 7 и 30 сутки наблюдения.

Ключевые слова: лимфатические узлы, морфометрия, корковое вещество, циклофосфан, крысы.

Введение. Загрязнение внешней среды химически вредными веществами и радионуклидами оказывает иммунодепрессивное действие на жителей региона Донбасса. Последнее время в различных возрастных группах населения страны нарастает число лиц с иммунологическими расстройствами, связанными с действием экологически неблагоприятных факторов внешней среды [1, 2, 3].

Показатели здоровья взрослого населения реагируют на изменения качества социально-экономических и санитарно-гигиенических условий жизни. Изменения структуры вторичных лимфоидных органов, к которым относятся лимфатические узлы, приводят к нарушению иммунного ответа на различные антигены [3, 4], что приводит к снижению работоспособности. Циклофосфан является алкилирующим цитостатическим препаратом и оказывает иммуносупрессивное действие преимущественно на В-клеточное звено иммунитета [5, 6]. Целью исследования явилось изучение особенностей строения подмышечных лимфатических узлов половозрелых крыс в условиях иммуносупрессии, вызванной введением высокой дозы циклофосфана.

Связь работы с научными программами, планами. Работа является частью научно-исследовательской темы кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» «Особливості будови деяких органів імунної, ендокринної та нервової систем під впливом екзогенних чинників», государственный регистрационный номер 0106U006009.

Объекты и методы исследования. Исследование проводилось на 24 крысах-самцах. Животные были разделены на две группы. I группа – половозрелые, II – интактные животные. I группе вводили циклофосфан по 200 мг/кг однократно внутримышечно. Содержание и уход за животными осуществляли согласно закону Украины «Про захист тварин від жорсткого поводження» от 21.02.2006 р., № 3447, положениям Европейского научного сообщества «Использование животных в исследованиях» (2000) [7].

Выведение животных из эксперимента проводилось в одно и то же время суток, при помощи декапитации под эфирным наркозом через 7, 30 и 90 суток после введения препарата. У крыс выделяли правые подмышечные лимфатические узлы, отделяли их от подкожно-жировой клетчатки при помощи инструмента «Пристрій зі знімними насадками для захвату, утримання й виділення тонкої кишки та лімфатичного вузла» [8]. На торсионных весах определяли массу органа, с помощью штангенциркуля измеряли длину, ширину и высоту, затем фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина.

Гистологические срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и документировались с помощью микрофотографий. Анализ

изображений объектов проводили с помощью аппаратно-программного комплекса, включающего фотоаппарат Olympus C5050Z, микроскоп Olympus CX 41. Использовали оригинальную морфометрическую программу «Morpholog» [9] (рис. 1).



Рис. 1. Апаратно-программный комплекс для морфометрического изучения гистологических объектов

Измеряли ширину коркового вещества, максимальный и минимальный диаметры лимфатических узелков корковой зоны и их герминативных центров. Морфометрический подсчет проводили в шести полях зрения каждого среза, анализировали шесть срезов с каждого объекта. Для определения взаимозависимости между полученными данными применяли коэффициент корреляции Браво-Пирсона.

У крыс на 7, 30 и 90 сутки после введения препарата подмышечные лимфатические узлы по форме и цвету сходны с узлами контрольных животных. Органомерические показатели лимфатических узлов начинали изменяться уже на ранних сроках наблюдения. Наибольшие изменения происходили с показателем длины. На 7 сутки длина органа была меньше, чем у интактных крыс (на 10,26%), на 30 сутки (на 19,71%), на 90 сутки (на 5,69%). Масса органа уменьшалась в сравнении с контрольными данными на 7,94% (7 сутки), на 11,98% (30 сутки) и на 1,47% (90 сутки). Показатели ширины и толщины лимфоузла также становились меньше, чем в контроле уже на 7 сутки (на 2,09% и 2,50%), достигали своего максимума на 30 сутки (на 12,91% и 3,23%), а на 90 сутки приближались к контрольным данным (рис. 2).

Морфометрические показатели ширины коркового вещества были меньше контрольных значений как на 7 сутки (на 14,92%), так и на 30, 90 сутки (11,76%, 2,18%). Наибольшие изменения происходи-

ли с параметрами больших диаметров лимфатических узелков и их герминативных центров на 30 сутки (10,67% и 26,42%). На 7 и 90 сутки эти показатели становились меньше контроля на 4,43%, 2,82% и 3,78%, 0,97% соответственно. Меньшие диаметры узелков снижались в сравнении с интактными животными: на 30 сутки (на 12,38% и 11,25%), на 7 и 90 сутки – на 7,10%, 4,64% и 6,09% и 0,58% (табл. 1).

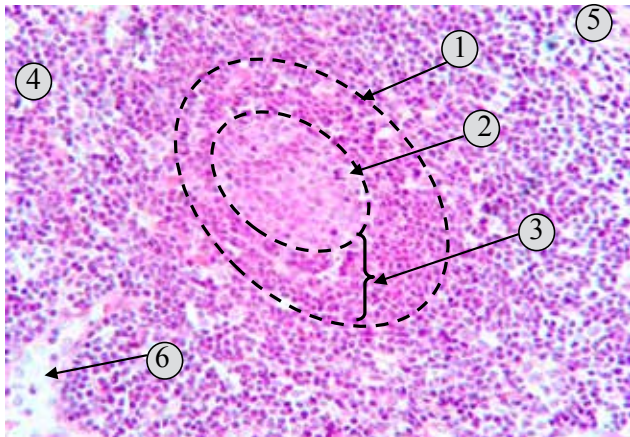


Рис. 2. Фрагмент коркового вещества подмышечного лимфатического узла половозрелой крысы на 30 сутки после введения циклофосфана. 1 – лимфатический узелок, 2 – герминативный центр, 3 – корона, 4 – паракортикальная зона, 5 – межузелковое плато, 6 – вокругузелковый синус. Окраска гематоксилин-эозин. Приближение Zoom 132. Об. – Plan C N 40x0.25 ~/-/ FN22

Источник: разработано автором

К 7 и 30 суткам после прекращения введения циклофосфана, практически все органо- и морфометрические показатели подмышечных лимфатических узлов снижались по сравнению с данными интактных крыс.

При проведении корреляционного анализа показателей лимфатических узлов половозрелых крыс после воздействия циклофосфана корреляционная зависимость резко изменила свое направление, полученные коэффициенты корреляции были отрицательными, в отличие от коэффициентов у контрольных животных.

У животных после однократного введения высокой дозы цитостатика сильная обратная взаимосвязь данных изучаемого органа имела место на 7, 30 и 90 сутки между массой лимфатического узла и его длиной, массой узла и большим диаме-

тром лимфатического узелка, а также между массой органа и большим диаметром герминативного центра ($r < -0,7$) (рис. 3).

Тесная отрицательная степень связи выявлялась во все сроки наблюдения между: длиной лимфатического узла и шириной коркового вещества.

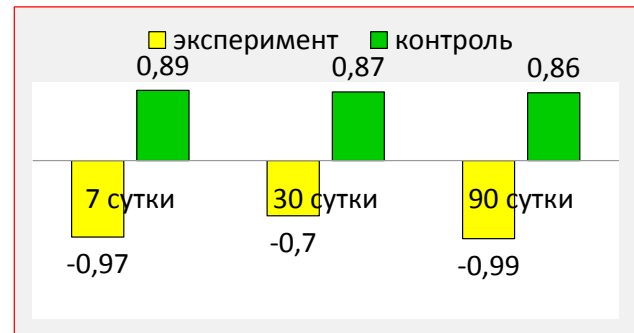


Рис. 3. Корреляционная зависимость между большим диаметром лимфатического узелка (мкм) и массой лимфатического узла (мг) половозрелых крыс

Источник: разработано автором

Таким образом, проведенный анализ взаимосвязи между линейными данными у половозрелых крыс после введения циклофосфана показал, что в основном эта связь носила отрицательный характер.

После воздействия высокой дозы циклофосфана достоверное снижение линейных размеров, по сравнению с данными интактных крыс, выявлялось в тимусе (А. А. Захаров, 2008) и селезенке (М. В. Золотаревская и др., 2011) белых крыс на протяжении месяца [6, 10]. В поздние сроки наблюдения (90 сутки) отличия между сравниваемыми параметрами приближались к показателям интактных крыс. Полученные результаты позволяют предположить, что изменения носили адаптационно-приспособительный характер и находились в пределах физиологической компенсации, а, следовательно, были обратимыми после прекращения действия неблагоприятного фактора на более поздних сроках наблюдения. По данным С. В. Оковитого (2003), S. Y. C. Rolph et al. (2006), использование высокой дозы циклофосфана в клинической практике основано на выраженном цитостатическом действии препарата, что приводит к угнетению активно пролиферирующих клеток [5, 11]. Учитывая, что основными клетками иммунной системы являются лимфоциты, для которых характерно активное обновление своей популяции под влиянием антигенов, они одними из первых подвергаются воздействию

Таблица 1

Морфометрические показатели коркового вещества лимфатических узлов половозрелых крыс на 7, 30, 90 сутки после введения циклофосфана (M±m, n=36)

Параметры	Сроки наблюдения					
	7 сутки	К	30 сутки	К	90 сутки	К
Ширина коркового вещества (мкм)	502,00* ±9,41	590,00 ±6,01	548,00* ±4,56	621,00 ±9,32	539,00* ±6,05	551,00 ±5,02
Большой диаметр лимфатического узелка (мкм)	388,00* ±7,54	406,00 ±14,10	402,00* ±8,19	450,00 ±6,30	382,00* ±6,63	397,00 ±5,99
Меньший диаметр лимфатического узелка (мкм)	327,00 ±15,00	352,00 ±9,30	361,00* ±11,3	412,00 ±16,50	324,00* ±13,80	345,00 ±6,50
Большой диаметр герминативного центра (мкм)	310,00* ±9,75	319,00 ±15,60	259,00* ±6,54	352,00 ±8,10	305,00 ±7,09	308,00 ±6,30
Меньший диаметр герминативного центра (мкм)	185,00* ±3,12	194,00 ±7,90	213,00* ±6,63	240,00 ±9,30	171,00 ±3,69	172,00 ±3,60

Примечание: знаком * – отмечены достоверные различия ($p < 0,05$) в сравнении с контролем.

Источник: разработано автором

циклофосфана [5, 12]. Это позволяет объяснить снижение под влиянием препарата всех показателей в тимусе (И. В. Бобрышева, 2014), селезенке (М. В. Золотаревская и др., 2011) [10, 13], а также объяснить полученные выше изменения в подмышечных лимфатических узлах.

Вывод. При исследовании лимфатических узлов после воздействия циклофосфана установлено, что у половозрелых животных более выраженное уменьшение показателей, в сравнении с данными интактных крыс наблюдалось на 30

сутки. В поздние сроки наблюдения (90 суток) морфометрические параметры лимфатических узлов подопытных животных приближались к показателям интактных крыс. Это свидетельствует том, что наиболее выраженное цитостатическое действие циклофосфана проявляется на 7 и 30 сутки.

В дальнейших работах планируется изучить особенности ультрамикроскопического строения лимфатических узлов половозрелых крыс при воздействии циклофосфана.

Список литературы:

1. Состояние местного иммунитета и методы его оценки при воздействии биологических веществ, загрязняющих атмосферный воздух / М. А. Пинигин, Ю. Н. Мальков, В. И. Немыря [и др.] // Гигиена и санитария. – 2010. – № 5. – С. 53–55.
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. Влияние неблагоприятных экологических факторов на морфогенез костной, эндокринной и иммунной систем на ранних этапах постнатального онтогенеза / В. Г. Ковешников, В. И. Лузин, В. В. Маврич [и др.] // Проблемы остеологии. – 2003. – Т. 6, № 4. – С. 72–73.
4. Сапин М. Р. Особенности реакции иммунной системы на различные внешние воздействия / М. Р. Сапин // Морфология. – 2006. – Т. 129, № 4. – С. 109–110.
5. 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. – Vol. 117, № 3. – P. 635–641.
6. 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.
7. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006 р., № 3447.
8. Пат. 59906 Україна, МПК В25В 9/00. Пристрій зі знімними насадками для захвату, утримання й виділення тонкої кишки та лімфатичного вузла / Кащенко С. А., Морозова О. М., Петізіна О. М., Морозов В. М., Андросова М. Є.; заявник та патентовласник Кащенко С. А., Морозова О. М., Петізіна О. М., Морозов В. М., Андросова М. Є. – № 1. – 201011378; заявл. 24.09.10; опубл. 10.06.11, Бюл. № 11.
9. Овчаренко В. В., Маврич В. В. Комп'ютерна програма для морфометричних досліджень «Morpholog» / Свідотство про реєстрацію авторського права на твір № 9604, дата реєстрації 19.03.2004.
10. Кащенко С. А. Изменения морфометрических показателей белой пульпы селезенки крыс под воздействием иммуноотропных препаратов / С. А. Кащенко, М. В. Золотаревская // Український медичний альманах. – 2011. – Т. 14, № 5. – С. 74–77.
11. Оковитый С. В. Клиническая фармакология иммунодепрессантов / С. В. Оковитый // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2003. – Т. 2, № 2. – С. 2–34.
12. Особенности морфометрических параметров периферических органов иммунной системы при введении циклофосфана / С. А. Кащенко, Е. Н. Морозова, О. Н. Петизина [и др.] // Материалы докладов III Эмбриологического симпозиума Всероссийского научного медицинского общества анатомов, гистологов, эмбриологов «ЮГРА-ЭМБРИО – 2011. Закономерности эмбрио-фетальных морфогенезов у человека и позвоночных животных», 5–6 октября 2011 г. – Ханты-Мансийск. – С. 92.
13. Бобрышева И. В. Морфофункциональные особенности тимуса крыс различных возрастных периодов после экспериментальной иммуносупрессии / И. В. Бобрышева // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 48–55.

Петізіна О.М., Кащенко С.А., Кувеньова О.М.
Луганський державний медичний університет

ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНОЇ БУДОВИ ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛІВ ЩУРІВ У ЕКСПЕРИМЕНТІ

Анотація

Дослідження проводилось на 24 щурах-самцях. Тваринам вводився циклофосфан одноразово (200 мг/кг). Вивчено будову кіркової речовини правих пахових лімфатичних вузлів на 7, 30 та 90 добу після введення препарату. Були використані органометричні, морфологічні та статистичні методи досліджень. Виявлено суттєві зміни в будові лімфатичних вузлів на 7 та 30 доби спостереження.

Ключові слова: лімфатичні вузли, морфометрія, кіркова речовина, циклофосфан, щури.

Petizina O.N., Kashchenko S.A., Kuvenyova O.N.
Lugansk State Medical University

FEATURES MORPHOLOGICAL STRUCTURE OF THE LYMPH NODES OF RATS IN THE EXPERIMENT

Summary

Research was conducted on 24 rats-males. An animal was ented cyclophosphanum on a chart(200 мг/кг). Influence of imunofan was studied on the structure of outer cortex of the right axillary lymph nodes on 7, 30 and 90 days after injection of the preparation. Used organometric, morphological and statistical methods. Revealed significant changes in the structure of the lymph nodes at 7 and 30 days of observation.

Keywords: lymph nodes, morphometry, outer cortex, cyclophosphanum, rats.