

УДК 612.017.1:591.441:616-092.9

ОСОБЕННОСТИ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ БЕЛОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС В РАЗНЫЕ ПЕРИОДЫ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ

Кащенко С.А., Бобрышева И.В.

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет», Луганск, Украина

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, циклофосамид.

Введение

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.

Целью работы было изучение особенностей гистологического строения белой пульпы селезенки белых беспородных крыс-самцов в разные 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 циклофосамид, часто используемый в клинической практике как самостоятельно, так и в комплексной иммуносупрессивной терапии, в дозировке 200 мг/кг массы тела. Крысы разных возрастных периодов были распределены на 5 групп в зависимости от длительности наблюдения по 6 особей в каждой группе. Животных выводили из эксперимента на 1, 7, 15, 30 и 60 суток после окончания введения препарата. Контролем служили крысы, содержащиеся в обычных условиях вивария, которым вводили физиологический раствор в эквивалентных объемах в соответствии с экспериментальной схемой (табл. 1). Содержание и манипуляции над животными проводили в соответствии с основными этическими принципами в сфере биотики [11]. Фрагменты селезенки фиксировали в жидкости Буэна, парафиновые срезы толщиной 4-6 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и азуром II-эозином.

Таблица 1 - Распределение животных по группам в зависимости от возраста и сроков выведения из эксперимента

Вид воздействия	Возрастной период животных	Сроки выведения из эксперимента, сутки					Итого
		1	7	15	30	60	
Циклофосамид	полового созревания	6	6	6	6	6	30
	репродуктивный	6	6	6	6	6	30
	выраженных старческих изменений	6	6	6	6	6	30
Контроль	полового созревания	6	6	6	6	6	30
	репродуктивный	6	6	6	6	6	30
	выраженных старческих изменений	6	6	6	6	6	30
Итого	36	36	36	36	36	180	

Гистологическое и морфометрическое исследование проводили с помощью анализатора изображений, состоящего из микроскопа Olympus Cx-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.

Статистическую обработку данных исследований проводили с помощью пакета прикладных статистических программ «Statistika 5.5» (лицензионный №AX908A290603AL). Подчиненность данных нормальному закону распределения проверяли с помощью критерия согласия Шапиро-Уилки. Достоверность различий средних величин определяли по критерию Стьюдента-Фишера при $p < 0,05$.

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.

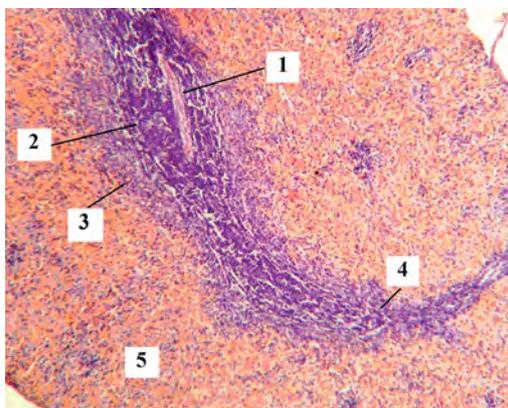
Паренхима органа представлена красной и белой пульпой. В состав красной пульпы входят синусоидные капилляры и селезеночные тяжи. Белая пульпа состоит из многочисленных лимфатических узелков и периартериальных лимфоидных муфт. Морфометрические показатели белой пульпы селезенки животных контрольной группы представлены в таблице 2.

Полученные данные об основных морфометрических признаках красной и белой пульпы селезенки крыс контрольной группы соответствуют и дополняют данные литературы о строении органа у интактных животных [4, 10].

Таблица 2 - 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

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 (рис. 1).



1 – лимфатический узелок, 2 – мантийная зона, 3 – краевая зона, 4 – периартериальная лимфоидная муфта, 5 – красная пульпа.

Окраска: гематоксилин-эозин.
Приближение: Zoom 162. Объектив: Plan CN x40/0,25∞/-/FN22

Рисунок 1 - Селезенка крысы периода полового созревания через 1 сутки после введения циклофосфида

Введение цитостатика сопровождается уменьшением относительной площади, занимаемой белой пульпой, на 1 и 7 сутки этот показатель на 28,5% и 40,0% ниже контрольного, в дальнейшие сроки наблюдения площадь белой пульпы увеличивается, однако не достигает контрольных значений (рис. 2).

Диаметры лимфатических узелков на 1 и 7 сутки 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 (рис. 3). На 15, 30 и 60 сутки 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. 2). 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].

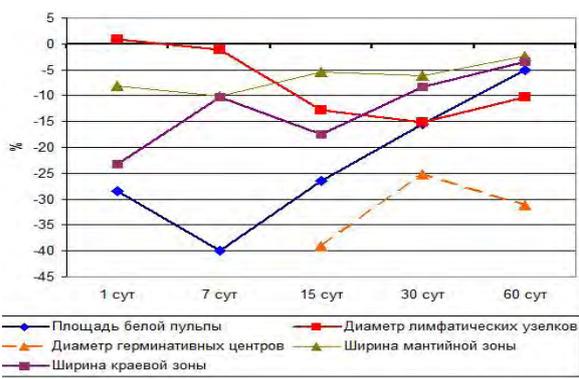
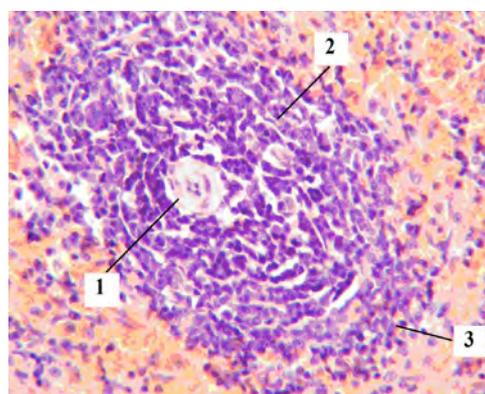


Рисунок 2 - Динамика морфометрических показателей белой пульпы селезенки крыс периода полового созревания в различные сроки наблюдения после введения циклофосфида

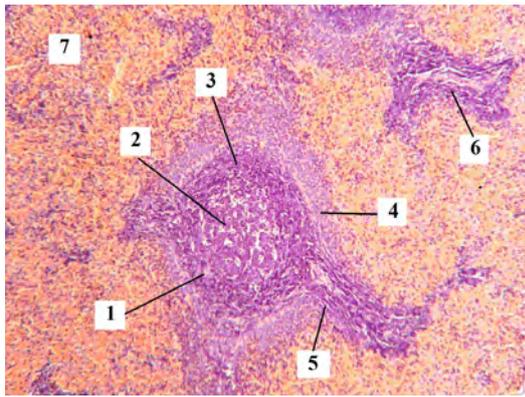


1 – центральная артерия, 2 – мантийная зона, 3 – краевая зона.

Окраска: гематоксилин-эозин.
Приближение: Zoom 162. Объектив: Plan CN x60/0,25∞/-/FN22

Рисунок 3 - Лимфатический узелок белой пульпы селезенки крысы периода полового созревания на 7 сутки после введения циклофосфида

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 сутки они определяются значительно чаще (рис. 4). Относительная площадь белой пульпы имеет следующую динамику: на 1 и 7 сутки этот показатель на 20,35% и 6,81% ниже контрольного. В дальнейшие сроки наблюдения (15, 30 и 60 суток) статистически значимых различий не выявлено. Диаметры лимфатических узелков имеют меньшие размеры по сравнению с контрольной группой на 1,5% (1 сутки), 15,43% (7 сутки), 10,11% (15 сутки), 8,41% (30 сутки) и 3,12% (60 сутки). Герминативные центры лимфатических узелков через 1 и 7 суток наблюдения не определя-



1 – лимфатический узелок, 2 – герминативный центр, 3 – мантийная зона, 4 – краевая зона, 5 – периартериальная зона, 6–периартериальная лимфоидная муфта, 7–красная пульпа. Окраска: гематоксилин-эозин.
Приближение: Zoom 162. Объектив: Plan CN x40/0,25∞/-/FN22

Рисунок 4 - Селезенка крысы репродуктивного периода на 7 сутки после введения циклофосамида

ются. 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. 5).

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.

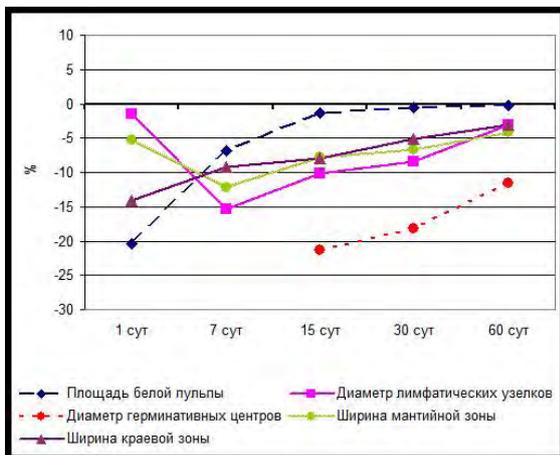
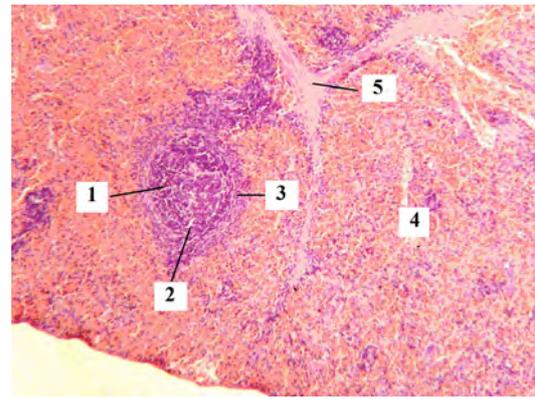


Рисунок 5 - Динамика морфометрических показателей белой пульпы селезенки крыс репродуктивного периода в разные сроки наблюдения после введения циклофосамида

Центральные артерии лимфатических узелков имеют более толстые стенки за счет развития склеротических изменений (рис. 6). Соединительнотканые трабекулы хорошо выражены, их толщина увеличена, что соответствует возрастной норме [6, 8].

В ответ на введение животным циклофосамида отмечается уменьшение диаметров лимфати-



1 – лимфатический узелок, 2 – мантийная зона, 3 – краевая зона, 4 – красная пульпа, 5 – трабекулы. Окраска: гематоксилин-эозин.
Приближение: Zoom 162. Объектив: Plan CN x40/0,25∞/-/FN22

Рисунок 6 - Селезенка крысы периода выраженных старческих изменений на 30 сутки после введения циклофосамида

ческих узелков на 10,17% (1 сутки), 12,75% (7 сутки) и 8,80% (15 сутки) относительно контрольных данных (рис. 7). 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 циклофосамида статистически значимых отличий от контрольных данных не определяется.

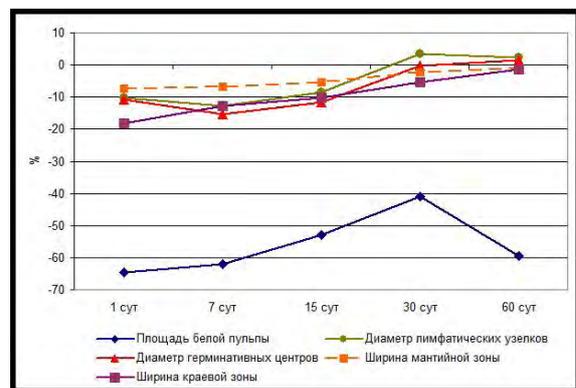


Рисунок 7 - Динамика морфометрических показателей белой пульпы селезенки крыс периода выраженных старческих изменений в разные сроки наблюдения после введения циклофосамида

Заключение

1. Белая пульпа селезенки у животных контрольных групп в разные 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 циклофосамида 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.

Литература

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. Исева // Морфология. – 2007. – Т. 131, № 3. – С. 60-61.

3. Золотаревская, М.В. Особенности ультраструктуры селезенки после введения иммуностропных препаратов 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. Морфологічна характеристика селезінки щурів в нормі / В.І. Шепітько, В.В. Качай, С.В. Стецюк // Світ медицини та біології. – 2010. - №3. – С. 99-100.

11. European convention for protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose // Council of Europe; 18.03.1986. – Strasburg, 1986. – 52 p.

Literature

1. Buklis, Yu.V. Issledovanie immunnykh struktur selezenki v usloviyakh khronicheskogo radiatsionnogo vozdeystviya na organizm / Yu.V. Buklis // Morfologiya. – 2010. – T. 137, № 4. – S. 42.

2. Bykov, V.L. Izmeneniya zashhitnykh svoystv slizistoy obolochki pishhevoda pri citostaticheskoj terapii / V.L. Bykov, E.A. Iseva // Morfologiya. – 2007. – T. 131, № 3. – S. 60-61.

3. Zolotarevskaya, M.V. Osobennosti ultrastruktury selezenki posle vvedeniya immunotropnykh preparatov v eksperimente / M.V. Zolotarevskaya // Klinichna anatomiya ta operativna xirurgiya. – 2011. – T. 10, № 4. – S. 23-28.

4. Magomedova, P.G. Belaya pulpa selezenki krysv posle kratkovremennogo vozdeystviya formaldegida / P.G. Magomedova, M.V. Abramova // Morfologiya. – 2008. - №2. – S. 81-83.

5. Melnik, N.O. Reaktivni zmini organiv imunnoї sistemi pid vplivom patologichnix faktoriv / N.O. Melnik, I.V. Chekmarova, Yu.B. Chajkovskij // Klinichna anatomiya ta operativna xirurgiya. – 2004. – T. 3, № 3. – S. 5-8.

6. Moldavskaya, A.A. Morfologicheskie kriterii stroeniya selezenki v postnatalnom ontogeneze / A.A. Moldavskaya, A.V. Dolin // Uspexi sovremennogo estestvoznaniya. – 2009. – № 2 – С. 15-18.

7. Nuzhnaya, E.K. Osobennosti dinamiki organometricheskix pokazatelej selezenki polovozrelyx krysv pri immunodeficitom sostoyanii, vyzvanном timektomiej / E.K. Nuzhnaya // Ukrainskij morfologichnij almanax. - 2004. - T. 2, № 1. - S. 59-61.

8. Sapin, M.R. Limfoidnye obrazovaniya selezenki u lyudej raznogo vozrasta / M.R. Sapin, M.V. Samojlov // Arxiv anatomii, gistologii i embriologii. – 1980. - T. 94, № 2. - S. 35-40.

9. Chava, S.V. Strukturnaya karakteristika immunnykh obrazovanij selezenki myshej posle vozdeystviya radiatsionnogo faktora nizkoj intensivnosti / S.V. Chava, Yu.V. Buklis // Morfologicheskie vedomosti. – 2011. – № 4. – С. 65-69.

10. Shepitko, V.I. Morfolofuncionalna karakteristika selezinky shhuriv v normi / V.I. Shepitko, V.V. Kacaj, C.V. Stecuk // Svit medicini ta biologii. – 2010. - №3. – S. 99-100.

11. European convention for protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose // Council of Europe; 18.03.1986. – Strasburg, 1986. – 52 p.

FEATURES OF HISTOLOGICAL STRUCTURE IN THE WHITE PULP OF RAT SPLEEN DURING DIFFERENT PERIODS OF POSTNATAL ONTOGENESIS UNDER EXPERIMENTAL IMMUNOSUPPRESSION

Kashchenko S.A., Bobrysheva I.V.

State Establishment «Lugansk State Medical University», Lugansk, Ukraine

During the experiment, conducted on 180 white outbred male rats of 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 caused morphological remodeling in the animal spleen, which was manifested as white pulp hypoplasia. The highest level of spleen reactivity in response to a cytostatic agent was observed in pubertal animals. Changes in the spleen white pulp of rats with expressed age-related changes took place against the background of involutive processes.

Key words: rats, spleen, white pulp, cyclophosphamide.