

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКТИВНОСТЬ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ПЕРИОДОВ ПРИ ИММУНОСУПРЕССИИ

[И. В. Бобрышева](#)

ГУ «Луганский государственный медицинский университет» (г. Луганск)

В эксперименте на 180-ти 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, Циклофосфан.

Бобрышева Инесса Венидиктовна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГУ «Луганский государственный медицинский университет», e-mail: inessa_lug@mail.ru

Введение. Иммунная система человека и животных является одной из наиболее чувствительных систем организма, которая быстро реагирует на внешние воздействия [1, 13]. 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, 4, 6, 7, 10, 11], вопросы морфофункциональных изменений лимфоидных образований селезенки при иммуносупрессии в возрастном аспекте остаются недостаточно изученными.

Цель исследования: изучить особенности 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 ГУ «Луганский государственный медицинский университет».

Подопытным животным однократно внутримышечно вводили цитостатик Циклофосфан, часто используемый в клинической практике как самостоятельно, 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 путем 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 [5, 14]. Фрагменты селезенки фиксировали в жидкости Буэна, парафиновые срезы толщиной 4–6 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и азур II-эозином. Гистологическое и морфометрическое исследования 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, краевой и периартериальной зон лимфатических узелков (в мкм). Использовали статистические методы, достоверность отличий определяли на основании t-критерия Стьюдента, значимыми считали результаты при статистической ошибке меньше 5 % ($p < 0,05$).

Результаты исследования и обсуждение. Изучение гистологических препаратов селезенки крыс контрольных групп 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 лимфатических влагалищ. Морфометрические показатели белой пульпы селезенки животных контрольных групп соответствующих возрастных периодов представлены в таблице.

У крыс периода полового созревания после введения Циклофосфана селезенка сохраняет типичное строение. Белая пульпа представлена периартериальными лимфатическими влагалищами и достаточно крупными лимфатическими узелками, изредка содержащими герминативные центры. При этом введение цитостатика сопровождается уменьшением относительной площади, занимаемой белой пульпой: через 1 и 7 суток этот показатель на 28,5 и 40,0 % ниже, чем в группе контрольных животных, в дальнейшие сроки наблюдения (15, 30 и 60 суток) площадь белой пульпы увеличивается, однако не достигает контрольных значений.

Морфометрические показатели белой пульпы селезенки крыс-самцов контрольных групп

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, мкм	468,07 ± 15,76	421,55 ± 10,23	408,17 ± 8,29
Диаметр герминативных центров, мкм	148,23 ± 7,87	135,41 ± 2,51	120,46 ± 5,44
Ширина мантийной зоны, мкм	45,77 ± 2,12	46,33 ± 0,82	41,48 ± 1,23
Ширина краевой зоны, мкм	77,39 ± 3,48	80,15 ± 1,22	72,67 ± 3,67
Ширина периартериальной зоны, мкм	85,26 ± 2,87	89,76 ± 2,12	80,14 ± 5,17

Диаметры лимфатических узелков на 1-е и 7-е сутки статистически значимо не отличаются от данных контроля, в то время как в более поздние сроки наблюдения (15 и 30 суток) показатели становятся меньше, чем у животных группы сравнения на 12,81 и 15,10 % (при $p \leq 0,05$). Герминативные центры лимфатических узелков в ранние сроки наблюдения после инъекции Циклофосфана не определяются. На 15-е и 30-е сутки в единичных лимфатических узелках визуализируются небольшие герминативные центры. Их диаметр меньше, чем в группе контрольных животных, на 39,00 и 25,13 % соответственно (при $p \leq 0,05$). Показатели ширины мантийной, краевой и периартериальной зон лимфатических узелков также статистически значимо снижены по сравнению с контролем через 1, 7 и 15 суток наблюдения. На 30-е и 60-е сутки после инъекции Циклофосфана морфометрические показатели структурных зон белой пульпы селезенки остаются сниженными относительно данных контрольных групп крыс, однако различие не является статистически значимым (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 [8].

Гистологическое строение селезенки животных репродуктивного периода после введения циклофосфана не отличается от такового у крыс контрольной группы.

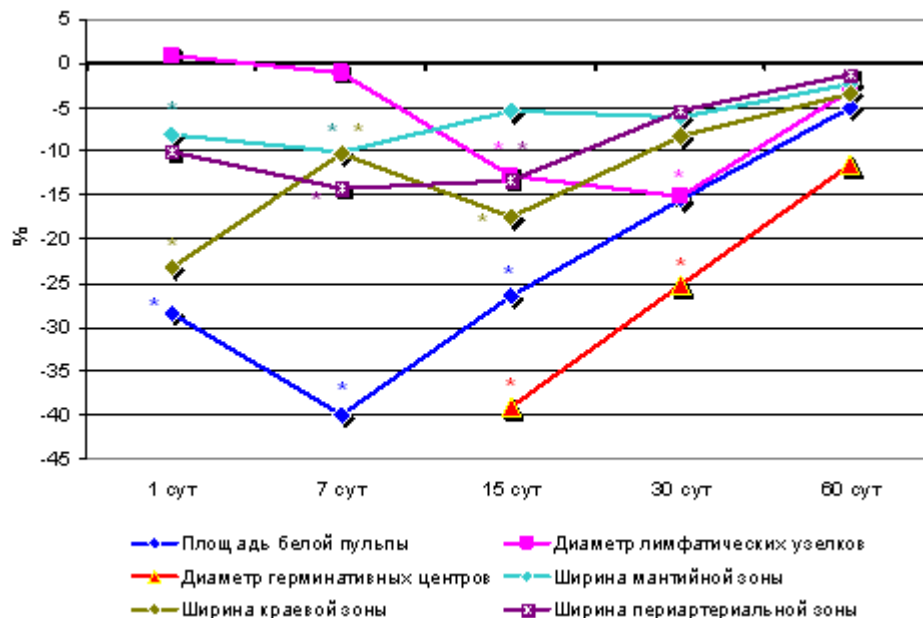


Рис. 1. Динамика морфометрических показателей белой пульпы селезенки крыс периода полового созревания в различные сроки наблюдения после введения Циклофосфана; * — достоверность различий показателей при $p \leq 0,05$

На препаратах определяются основные структуры белой пульпы: периартериальные лимфатические влагаллища и лимфатические узелки. Граница белой и красной пульпы отчетливо контурируется. Относительная площадь белой пульпы селезенки статистически значимо уменьшается по отношению к данным контрольной группы на 20,36 % (1-е сутки) и 6,79 % (7-е сутки). В дальнейшие сроки наблюдения (15, 30 и 60 суток) статистически значимых отличий показателей не выявлено. Лимфатические узелки имеют меньшие размеры по сравнению с контрольной группой, статистически значимые различия определяются на 7-е сутки (15,43 %) и 15-е сутки (10,11 %). Герминативные центры в лимфатических узелках селезенки подопытных крыс через 1 и 7 суток после введения Циклофосфана не выявляются, а на 15-е и 30-е сутки они имеют меньшие размеры, чем у крыс контрольной группы, на 21,36 и 18,20 % соответственно. На 60-е сутки герминативные центры также имеют меньшие размеры, чем в контроле, но разница между показателями не является статистически достоверной.

Ширина мантийной и краевой зон лимфатических узелков в селезенке у подопытных крыс через 1 и 7 суток наблюдения меньше, чем у контрольных, на 5,21 и 12,13; 14,11 и 9,28 % соответственно. Ширина периартериальной зоны также снижена относительно аналогичного показателя контрольных животных через 1 сутки (на 10,82 %), 7 суток (на 12,55 %) и 15 суток (на 12,48 %). В остальные сроки наблюдения размеры структурных зон лимфатических узелков не имеют статистически значимых отличий от контрольных данных (рис. 2).

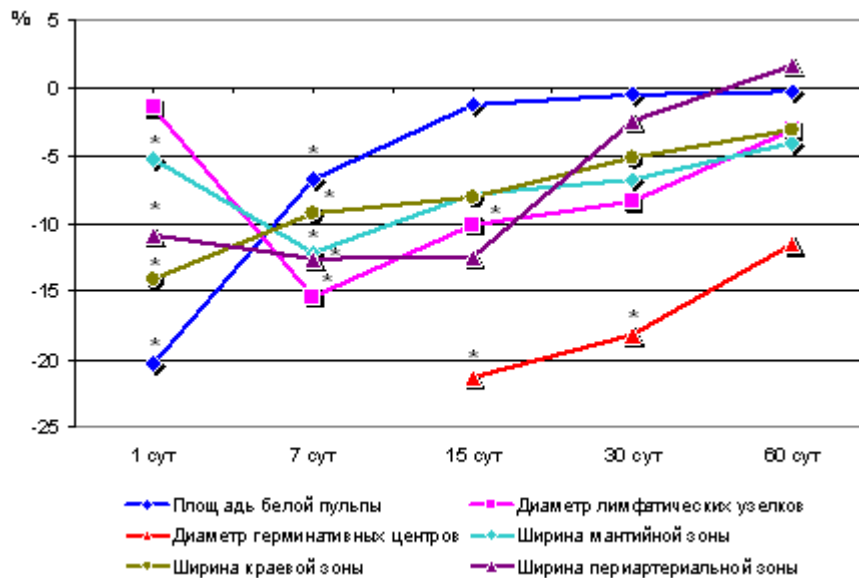


Рис. 2. Динамика морфометрических показателей белой пульпы селезенки крыс репродуктивного периода в различные сроки наблюдения после введения Циклофосфана;
* — достоверность различий показателей при $p \leq 0,05$

У крыс периода выраженных старческих изменений контрольной группы 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 животных предыдущих возрастных периодов (см. табл.). Центральные артерии лимфатических узелков имеют более толстые стенки, вероятно, за счет развития склеротических изменений. Соединительнотканые трабекулы хорошо выражены, их толщина увеличена, что соответствует возрастной норме [9, 12]. После введения подопытным животным цитостатика наблюдается значительное уменьшение относительной площади белой пульпы по сравнению с данными контрольной группы: статистически значимые отличия наблюдаются через 1 сутки (44,51 %), 7 суток (42,1 %), 15 суток (32,87 %) и 30 суток (21,05 %). Диаметры лимфатических узелков селезенки меньше по размерам в сравнении с данными контрольной группой на 10,17 % (1-е сутки), 12,75 % (7-е сутки) и 8,50 % (15-е сутки) при $p \leq 0,05$. Через 1 и 7 суток после введения Циклофосфана герминативные центры в лимфатических узелках селезенки подопытных животных не выявляются. Указанные структуры имеют меньшие диаметры, чем у крыс контрольной группы, на 10,70 % (15-е сутки), 15,40 % (30-е сутки) и 11,50 % (60-е сутки). Через 1 и 7 суток после инъекции цитостатика уменьшается ширина мантийной зоны — на 7,42 и 6,81 %, краевой зоны — на 18,17 и 12,7 %, периартериальной зоны — на 27,45 и 20,51 % соответственно. В остальные сроки наблюдения размеры структурных зон лимфатических узелков не имеют статистически значимых отличий от контрольных данных (рис. 3).

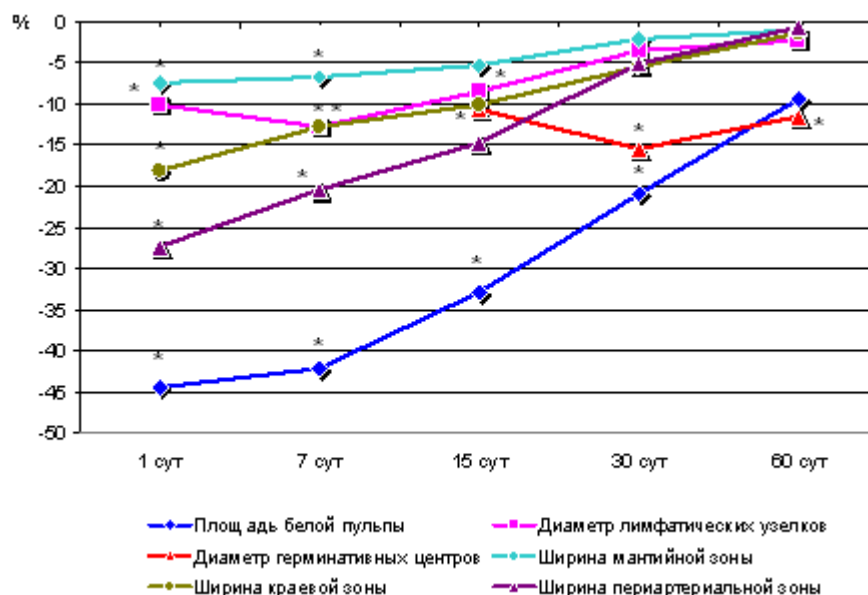


Рис. 3. Динамика морфометрических показателей белой пульпы селезенки крыс периода выраженных старческих изменений в различные сроки наблюдения после введения Циклофосфана; * — достоверность различий показателей при $p \leq 0,05$

Выводы

1. Белая пульпа селезенки у животных контрольных групп в различные периоды постнатального онтогенеза представлена хорошо выраженными лимфатическими узелками и периартериальными лимфатическими влагищами, у животных репродуктивного периода среди лимфатических узлов преобладают узелки с герминативными центрами, у крыс периода выраженных старческих изменений превалируют инволютивные изменения.
2. Введение Циклофосфана 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. Влияние гомо- и гетеротопических стрессоров на иммуноморфологию лимфоидных органов / М. Ю. Капитонова [и др.] // Морфология. — 2011. — Т. 140, № 5. — С. 90-91.
4. Григоренко Д. Е. Структурно-функциональная организация лимфоидной ткани селезенки после воздействия гипергравитации / Д. Е. Григоренко, И. Б. Краснов, М. Р. Сапин // Морфология. — 2003. — Т. 123, № 3. — С. 60-64.
5. Каркищенко Н. Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях / под ред. Н. Н. Каркищенко, С. В. Грачева. — М. : Профиль, 2010. — 358 с.

6. Магомедова П. Г. Белая пульпа селезенки крыс после кратковременного воздействия формальдегида / П. Г. Магомедова, М. В. Абрамова // Морфология. — 2008. — № 2. — С. 81-83.
7. Макалиш Т. П. Морфофункциональные особенности селезенки при воздействии на организм факторов различного генеза / Т. П. Макалиш // Таврический медико-биологический вестн. — 2013. — Т. 16, № 1. — С. 265-269.
8. 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.
9. Молдавская А. А. Морфологические критерии строения селезенки в постнатальном онтогенезе / А. А. Молдавская, А. В. Долин // Успехи современного естествознания. — 2009. — № 2 — С. 15-18.
10. Морфологические изменения лимфоидных и паренхиматозных органов мышей на фоне введения иммуномодуляторов бактериального происхождения / Е. А. Лебединская [и др.] // Морфология. — Т. 140, № 5. — 2011. — С. 97.
11. Морфофункциональное состояние белой пульпы селезенки при пероральном введении наночастиц золота в эксперименте / О. В. Злобина, [и др.] // Морфология. — Т. 140, № 5. — 2011. — С. 88.
12. Сапин М. Р. Лимфоидные образования селезенки у людей разного возраста / М. Р. Сапин, М. В. Самойлов // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. — 1980. — Т. 94, № 2. — С. 35-40.
13. 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.
14. European convention for protection of vertebrate animals used for experimental and ether scientific purpose // Council of Europe; 18.03.1986. — Strasburg, 1986. — 52 p.

MORPHOLOGICAL REACTIVITY OF SPLEEN AT RATS OF VARIOUS AGE PERIODS AT IMMUNOSUPPRESSION

[*I. V. Bobrysheva*](#)

SE «Lugansk State Medical University» (Lugansk)

During the experiment on 180 white not purebred male rats of three age periods (puberty, genesial and the expressed senile changes) with application of histological and morphometric methods with the subsequent statistical analysis it was established that experimentally modelled immunosuppression state causes the morphological reorganization of spleen at animals which is shown in hypoplasia of a white pulp. The highest level of reactivity of spleen in response to introduction cytostatics is observed at animals of the puberty period. Changes of a white pulp of spleen of rats of the period of the expressed senile changes proceed against involute processes.

Keywords: rats, spleen, white pulp, Cyclophosphanum.

About authors:

Bobrysheva Inessa Venidiktovna — candidate of medical science, assistant professor of histology, cytology and fetology chair at SE «Lugansk State Medical University», e-mail: inessa_lug@mail.ru

List of the Literature:

1. Buklis Y. V. Research of immune structures of spleen in the conditions of chronic radiative effects on an organism / Y. V. Buklis // *Morphology*. — 2010. — Vol. 137, N 4. — P. 42.
2. Bykov V. L. Changes of protective properties of mucosa of esophagus at cytostatic therapy / V. L. Bykov, E. A. Iseeva // *Morphology*. — 2007. — Vol. 131, N 3. — P. 60-61.
3. Influence Homo-and heterotopic stress factors on an immunomorphology of lymphoid organs / M. Y. Kapitonova [et al.] // *Morphology*. — 2011. — Vol. 140, N 5. — P. 90-91.
4. Grigorenko D. E. The structurally functional organization of an adenoid tissue of a spleen after influence of hyper gravitation / E. Grigorenko, I. B. Krasnov, M. R. Sapin // *Morphology*. — 2003. — Vol. 123, N 3. — P. 60-64.
5. Karkishchenko N. N. Guidance on laboratory animals and alternative models in biomedical technologies / under the editorship of N. N. Karkishchenko, S. V. Grachev. — M. : Profile, 2010. — 358 p.
6. Magomedova P. G. A white pulp of spleen of rats after short-term influence of a formic aldehyde / P. G. Magomedova, M. V. Abramova // *Morphology*. — 2008. — N 2. — P. 81-83.
7. Makalish T. P. Morphofunctional feature of a spleen at impact on an organism of factors of various genesis / T. P. Makalish // *Taurian medicobiological bulletin*. — 2013. — Vol. 16, N 1. — P. 265-269.
8. Melnik N. A. Reactive changes of organs of immune system under the influence of pathological factors / N. A. Melnik, I. V. Chekmareva, Y. B. Tchaikovsky // *Clinical anatomy and operational surgery*. — 2004. — Vol. 3, N 3. — P. 5-8.

9. Moldavian A. A. Morphological criteria of a structure of a spleen in a post-natal ontogenesis / A. A. Moldavskaya, A. V. Dolin // Achievements of modern natural sciences. — 2009. — N 2. — P. 15-18.
10. Morphological changes of lymphoid and parenchymatous organs of mice against introduction of immunomodulators of a bacterial parentage / E. A. Lebedinskaya [et al.] // Morphology. — Vol. 140, N 5. — 2011. — P. 97.
11. Morphofunctional condition of a white pulp of a spleen at peroral introduction of nanoparticles of gold in experiment / O. V. Zlobina [et al.] // Morphology. — Vol. 140, N 5. — 2011. — P. 88.
12. Sapin M. R. Lymphoid formations of a spleen at people of different age / M. R. Sapin, M. V. Samoylov // Arch of anatomy, histology and fetology. — 1980. — Vol. 94, N 2. — P. 35-40.
13. Chava S. V. The structural characteristic of immune formations of a spleen of mice after influence of a radiative factor of low intensity / S. V. Chava, Y. V. Buklis // Morphological bulletin. — 2011. — N 4. — P. 65-69.
14. European convention for protection of vertebrate animals used for experimental and ether scientific purpose // Council of Europe ; 18.03.1986. — Strasburg, 1986. — 52 p.