

УДК 611.41.42:612.616-097+474.315
DOI 10.24144/1998-6475.2022.55.79-86

ЗМІНИ ЩІЛЬНОСТІ КЛІТИННИХ ЕЛЕМЕНТІВ СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ БІЛОЇ ПУЛЬПИ СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ-САМЦІВ ПОСТРЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ ВПРОДОВЖ ПЕРШОГО ТИЖНЯ ПІСЛЯ АНТИГЕННОЇ СТИМУЛЯЦІЇ ОРГАНІЗМУ

Кочмарь М. Ю., Гецько О. І., Палапа В. Й., Голош Ю. В.

ДВНЗ «Ужгородський національний університет», медичний факультет, кафедра анатомії людини та гістології, м. Ужгород

Резюме. Вступ. Селезінка є вторинним лімфоїдним органом, який відіграє важливу роль в антиген-залежній диференціації і проліферації різноманітних популяцій Т- та В-лімфоцитів, плазмоцитів і макрофагів. Вони забезпечують синтез антитіл та імуноглобулінів. *Мета дослідження:* встановити щільність малих, середніх та великих лімфоцитів, плазмоцитів і макрофагів у білій пульпі селезінки безпородних білих щурів-самців пострепродуктивного віку впродовж першого тижня після введення антигену. *Матеріали та методи.* Дослідження проведено на 25 білих щурах-самцях пострепродуктивного віку. Експериментальні тварини поділені на 3 групи. *Результати досліджень.* Досліджені зміни щільності малих, середніх і великих лімфоцитів, плазмоцитів і макрофагів у центрах розмноження лімфоїдних вузликів селезінки безпородних білих щурів-самців пострепродуктивного віку впродовж семи днів після антигенної стимуляції організму «Імуноглобулін людини нормальний». *Висновки.* Введення антигену викликає максимальні фазові зміни щільності клітин на 7 добу після антигенної стимуляції організму. У цей період спостерігається збільшення щільності усіх клітинних елементів, особливо – великих лімфоцитів.

Ключові слова: селезінка, центр розмноження, лімфоцити, щурі-самці.

The dynamics of changes in the density of the cellular elements of structural components of the white pulps centres of lymphoid nodules in the spleen of male rats in their postreproductive age during the first week after antigenic stimulation of the body

Kochmar M. Yu., Hetsko O. I., Palapa V. Y., Holosh Yu. V.

Abstract. *Introduction.* The spleen is a secondary lymphoid organ that plays an important role in antigen-dependent differentiation and proliferation of various populations of T- and B-lymphocytes, plasma cells and macrophages. They provide the synthesis of antibodies and immunoglobulins. *The aim of the study* was to establish the density of small, medium and large lymphocytes, plasma cells and macrophages in the white pulp of the spleen of white male rats of postproductive age during the first week after antigenic stimulation of the body. *Materials and methods.* The study was performed on 25 white male rats of postreproductive age. The experimental animals were divided into 3 groups. *Research results.* The density changes of small, medium and large lymphocytes, plasma cells and macrophages have been investigated in the centers of lymphoid nodules in the spleen of albino male rats in the postreproductive age during for seven days after antigenic stimulation of the body by means of «Normal human Immunoglobulin». *Conclusions.* The introduction of antigen causes the maximum phase changes in cell density on day 7 after antigenic stimulation of the body. During this period, there is an increase in the density of all cellular elements, especially large lymphocytes.

Key words: spleen, reproduction center, lymphocytes, male rats.

Вступ

Зниження захисних сил організму пов'язані з погіршенням умов зовнішнього середовища, низькою якістю харчових продуктів та питної води, а також посиленням впливу стресових чинників на організм. Такі фактори

призводять як до пригнічення функціональної активності імунної системи організму людини, так і до порушення морфофункціонального стану як первинних, так і вторинних її органів. Вторинним лімфоїдним органом, що розташований по ходу кровоносної системи,



є селезінка, яка відіграє важливу роль в антигензалежній диференціації і проліферації різноманітних популяцій Т- та В-лімфоцитів, плазмоцитів і макрофагів. Діяльність цих клітинних елементів призводить до синтезу антитіл та імуноглобулінів [4].

Вивченню будови білої пульпи селезінки, її структурної організації, а також особливостям її клітинного складу в нормі та при дії різноманітних чинників зовнішнього середовища присвячено чимало наукових робіт [1,2,3,5,8]. Висока імунна активність селезінки і всього організму в цілому пов'язана з наявністю світлих центрів у лімфоїдних вузликах білої пульпи. Проте, зміни щільності клітинних елементів структурних компонентів у лімфоїдних вузликах селезінки білих щурів-самців пострепродуктивного віку упродовж першого тижня після антигенної стимуляції організму вивчено недостатньо.

Мета дослідження

Вивчити щільність малих, середніх та великих лімфоцитів, плазмоцитів і макрофагів у білій пульпі селезінки безпородних білих щурів-самців пострепродуктивного віку впродовж першого тижня після введення антигену «Імуноглобулін людини нормальний».

Матеріали та методи

Дослідження проведено на 25 експериментальних безпородних білих 18-місячних щурах-самцях пострепродуктивного віку, розподілених на 3 групи: 9 щурів – інтактні тварини, 8 тварин – контрольна група, 8 тварин – експериментальна група. Експериментальній групі тварин вводили «Імуноглобулін людини нормальний» із розрахунку 0,02 мг антигену на 100 г маси тварин в 0,2 мл ізотонічного розчину хлориду натрія в асептичних умовах підшкірно в тил стопи правої задньої кінцівки щурів. Враховуючи дані літератури, це оптимальна доза антигена, здатна викликати імунну відповідь, вибрана шляхом підбору доз [3, 7, 9]. Контрольній групі тварин замість антигена вводили ізотонічний розчин хлориду натрія в еквівалентних до імуноглобуліна об'ємах. Забір селезінки проводили через 1, 3 та 7 діб після введення антигена після декапітації щурів під ефірним наркозом. Такий термін забору матеріалу обраний нами згідно рекомендацій наукової літератури [6, 9]. Найпомітніші морфологічні зміни у лімфоїдних органах відзначаються саме в цей період після введення анти-

гена. Матеріал фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну, зневоднювали у спиртах висхідної концентрації і заливали у парафін. Із парафінових блоків виготовляли гістологічні зрізи товщиною 5 мкм, які фарбували гематоксилін-еозином і азур-ІІ-еозином.

Для електронно-мікроскопічного дослідження матеріал фіксували в 1,6% розчині глутарового альдегіду в 0,1 М фосфатному буфері Серенсена. Після зневоднення тканину заключали в суміш епоксидних смол. Особливості зразків селезінки досліджували на півтонких зрізах, забарвлених метиленовим-синім.

Утримання і догляд за тваринами та всі маніпуляції проводили у відповідності з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

На гістологічних препаратах на площі 625 мкм² морфометричним методом за допомогою сітки №3/16 Стефанова С. Б. [7] підраховували кількість малих, середніх та великих лімфоцитів, плазмоцитів, макрофагів у різних зонах лімфоїдних вузликів та періартеріальних лімфоїдних півках селезінки. Досліджували гістологічні препарати під світловим мікроскопом МБІ-3 при збільшенні 1050 разів (об'єктив х70 – водяна імерсія, окуляри – х10, біокулярна насадка АУ – х1,5). Цифрові величини експериментальних даних представлені вибірковими середніми з довірчим інтервалом ($M \pm L$) для вірогідності $p=95\%$ за Стьюдентом.

Результати досліджень

На гістологічних зрізах селезінки безпородних білих щурів-самців пострепродуктивного віку біла пульпа представлена лімфоїдними вузликами і періартеріальними лімфоїдними півхами (рис. 1). Вони утворені скупченнями малих, середніх і великих лімфоцитів, плазмоцитів та макрофагів.

У структурних компонентах білої пульпи селезінки інтактних білих щурів-самців пострепродуктивного віку переважають малі лімфоцити (табл. 1). Найбільше цих клітин є у крайовій, мантійній і періартеріальній зонах лімфоїдних вузликів та у періартеріальній лімфоїдній півхві, їх щільність тут майже однакова і досягає $15,80 \pm 1,32$ на площі 625

мкм², у світлому центрі лімфоїдних вузликів щільність малих лімфоцитів найменша – $6,80 \pm 0,20$. Зростання щільності малих лімфоцитів у цих зонах відзначено вже через одну добу після введення антигена (табл. 1; рис. 1) і продовжується до сьомої доби, коли показники щільності у цих зонах є максимальними:

у періартеріальній зоні лімфоїдних вузликів – $23,30 \pm 2,00$, що відповідно на 47,35 % більше за контрольні показники, а у періартеріальній лімфоїдній піхві – $19,51 \pm 1,60$, що на 21,44 % більше від показників контрольних тварин. Пізніше кількість малих лімфоцитів поступово зменшується.

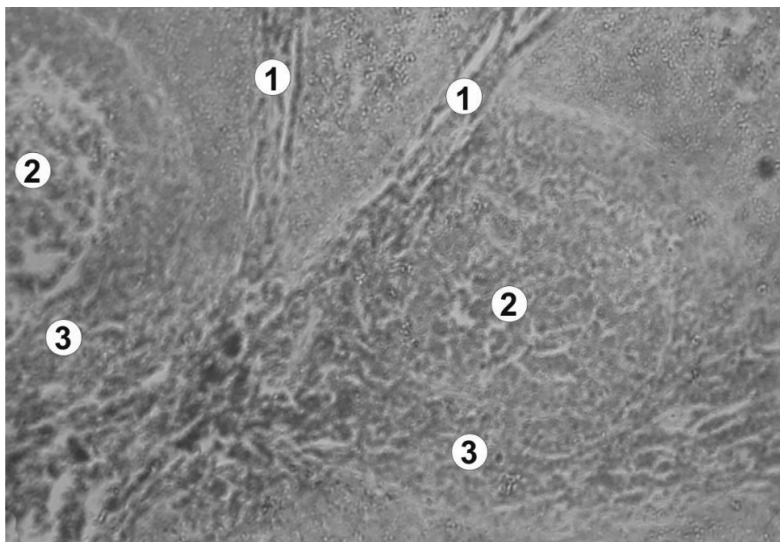


Рис. 1. Біла пульпа селезінки білого щура-самця пострепродуктивного віку в нормі.
1 – періартеріальна лімфоїдна піхва; 2 – світлий центр лімфоїдного вузлика; 3 – мантійна зона.
Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб.: об.х20, ок.х10.

У крайовій зоні лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки інтактних білих щурів-самців даної вікової групи щільність малих лімфоцитів становить $15,70 \pm 0,60$, а у мантійній зоні – $13,90 \pm 0,38$. З першої по сьому добу після дії антигена спостерігається зростання щільності цих клітин до максимальних показників: $18,31 \pm 0,61$ у крайовій зоні і $16,0 \pm 0,08$ у мантійній зоні, що відповідно на 17,44 % і 15,14 % більше у порів-

нянні з аналогічними показниками контрольної групи тварин (табл. 1 і рис. 2).

Фазові зміни щільності малих лімфоцитів у світлих центрах подібна до змін у всіх інших структурних компонентах білої пульпи селезінки. На сьому добу щільність малих лімфоцитів у центрах розмноження є найвищою – $9,06 \pm 0,44$, що на 10 % більша, ніж у інтактних тварин (рис. 2).

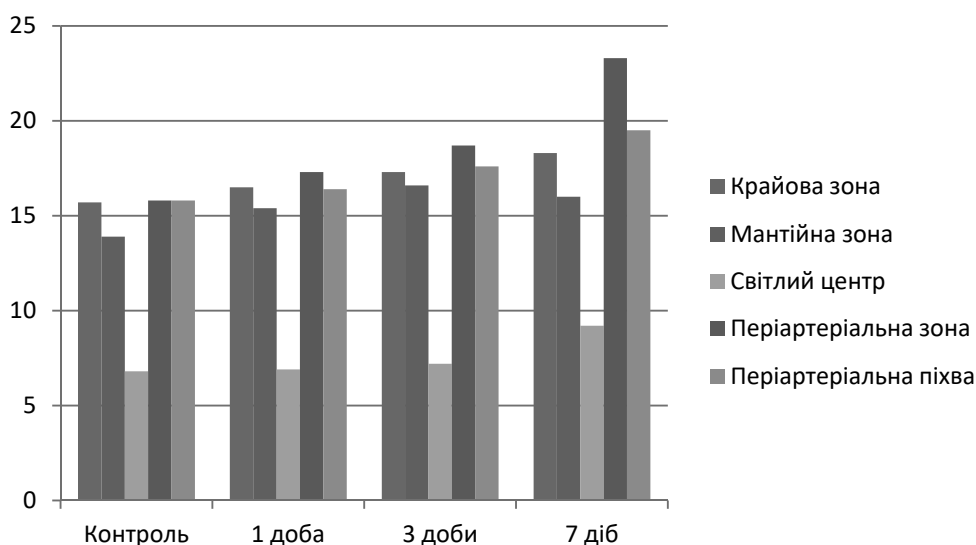


Рис. 2. Динаміка змін щільності малих лімфоцитів у структурних компонентах білої пульпи селезінки білих щурів-самців пострепродуктивного віку упродовж одного тижня після антигенної стимуляції організму «Імуноглобуліном людини нормальним».



У періартеріальній зоні й періартеріальній піхві середніх лімфоцитів мало. Їхня щільність помітно зростає на сьому добу після антигенної стимуляції організму і в періартеріальній зоні становить $0,16 \pm 0,41$, що у 5 разів більше контрольних величин, а у періартеріальній лімфоїдній піхві – $0,13 \pm 0,08$, що у 4 рази перевищує контрольні показники.

Кількість середніх лімфоцитів найбільша у світлому центрі (табл. 1; рис. 3). Їхня щільність зростає з третьої доби після дії антигена і становить $1,73 \pm 0,20$, на сьому добу цей показник становить $2,79 \pm 0,22$, що на 64,11 % більше, ніж у інтактних тварин.

Таблиця 1

Зміни щільності клітинних елементів структурних компонентів білої пульпи селезінки білих щурів-самців пострепродуктивного віку на площі 625 мкм² після стимуляції організму «Імуноглобуліном людини нормальним»

Тип клітин		Структурні компоненти білої пульпи селезінки	Термін спостереження, щільність клітин (M±L)			
			Контроль	1 доба	3 доби	7 діб
Малі лімфоцити	Лімфоїдний вузлик	Крайова зона	$15,70 \pm 0,60$	$16,50 \pm 0,28$	$17,33 \pm 0,24$	$18,31 \pm 0,61$
		Мантійна зона	$13,90 \pm 0,38$	$15,40 \pm 0,9$	$16,60 \pm 0,50$	$16,0 \pm 0,08$
		Світлий центр	$6,80 \pm 0,20$	$6,91 \pm 0,70$	$7,20 \pm 0,65$	$9,22 \pm 0,35$
		Періартеріальна зона	$15,80 \pm 1,21$	$17,3 \pm 1,15$	$18,72 \pm 1,70$	$23,30 \pm 2,00$
		Періартеріальна піхва	$15,80 \pm 1,32$	$16,47 \pm 0,75$	$17,62 \pm 1,12$	$19,51 \pm 1,60$
Середні лімфоцити	Лімфоїдний вузлик	Крайова зона	$1,50 \pm 0,38$	$1,0 \pm 0,24$	$1,73 \pm 0,21$	$1,79 \pm 0,30$
		Мантійна зона	$1,62 \pm 0,29$	$1,30 \pm 0,20$	$1,51 \pm 0,29$	$2,30 \pm 0,50$
		Світлий центр	$2,0 \pm 0,30$	$1,51 \pm 0,30$	$1,90 \pm 0,30$	$2,92 \pm 0,28$
		Періартеріальна зона	$0,04 \pm 0,2$		$0,60 \pm 0,14$	$0,15 \pm 0,40$
		Періартеріальна піхва	$0,03 \pm 0,03$	$0,03 \pm 0,02^{\sim}$		$0,15 \pm 0,09$
Великі лімфоцити	Лімфоїдний вузлик	Крайова зона			$0,07 \pm 0,05$	$0,09 \pm 0,06$
		Мантійна зона	$0,11 \pm 0,05$	$0,07 \pm 0,06^{\sim}$	$0,06 \pm 0,12$	$0,20 \pm 0,05$
		Світлий центр	$1,23 \pm 0,25$	$1,10 \pm 0,10$	$1,31 \pm 0,30$	$2,01 \pm 0,30$
		Періартеріальна зона				
		Періартеріальна піхва			$0,02 \pm 0,03^{\sim}$	
Плазмоцити	Лімфоїдний вузлик	Крайова зона			$0,06 \pm 0,05$	$0,15 \pm 0,05$
		Мантійна зона				$0,07 \pm 0,04$
		Світлий центр			$0,05 \pm 0,02$	
		Періартеріальна зона			$0,15 \pm 0,11$	$0,30 \pm 0,17$
		Періартеріальна піхва			$0,07 \pm 0,03$	$0,08 \pm 0,02$
Макрофаги	Лімфоїдний вузлик	Крайова зона	$0,02 \pm 0,02$		$0,05 \pm 0,05$	$0,08 \pm 0,01$
		Мантійна зона	$0,02 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,02$		$0,03 \pm 0,02$
		Світлий центр				
		Періартеріальна зона				$0,12 \pm 0,10$
		Періартеріальна піхва	$0,03 \pm 0,02$		$0,04 \pm 0,03$	$0,08 \pm 0,01$

Щільність середніх лімфоцитів досить висока і у крайовій та мантійній зонах лімфоїдних вузликів. Зростання цих показників відзначено через три доби після дії антигена, а на сьому добу досягає тут максимальних величин (рис. 3) і перевищує контрольні показники у крайовій зоні на 20 %, а у мантійній – на 32,94 %.

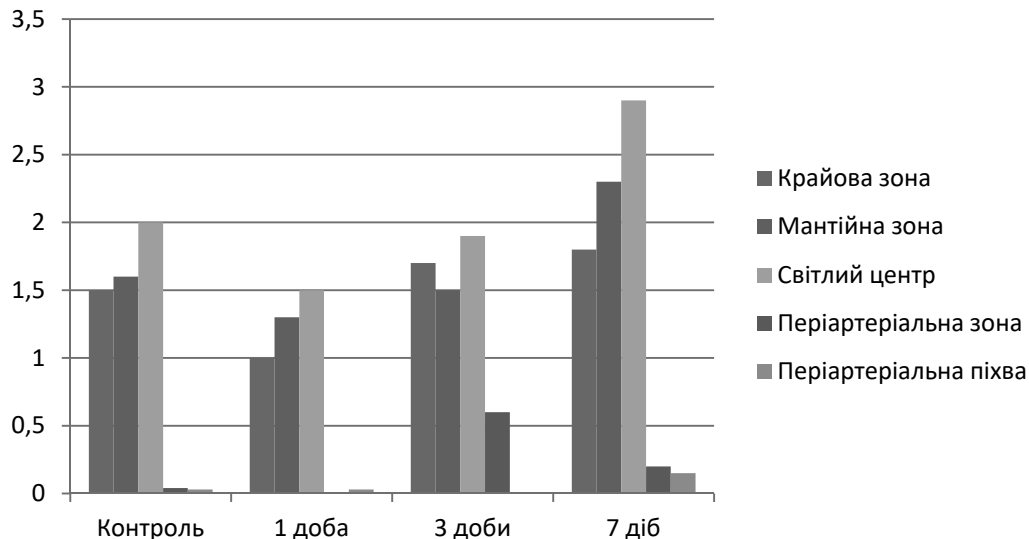


Рис. 3. Динаміка змін щільності середніх лімфоцитів у структурних компонентах білої пульпи селезінки білих щурів-самців пострепродуктивного віку упродовж одного тижня після антигенної стимуляції організму «Імуноглобуліном людини нормальним».

Зростає кількість «активних» макрофагів неправильної форми. Цитолема макрофагів утворює численні відростки з мікрроворсинками, які різноманітно галузяться. Ці відростки проходять між клітинами лімфоїдного ряду і контактують з ними. У цитоплазмі макрофагів багато лізосом, фагосом, піноцитозних пухирців. Невелике ядро оваль-

ної форми, дещо зміщене до одного з країв клітини. Хроматин конденсований менше, ніж у плазмочитах (рис. 4). У інтактних тварин щільність великих лімфоцитів найбільша у світлому центрі лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки. У мантійній зоні цих клітин значно менше, їх щільність дорівнює $0,09 \pm 0,06$.

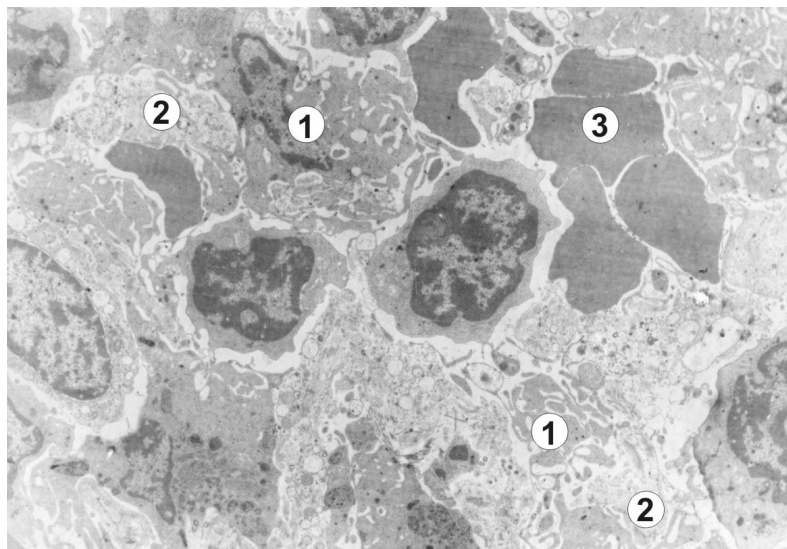


Рис. 4. Електронна мікрофотограма мантійної зони лімфоїдного вузлика білої пульпи селезінки білого щура-самця пострепродуктивного віку на сьому добу після введення антигена. Збільшення кількості плазмочитів (1) та активізація макрофагів (2), еритроцити в синусоїдах гемокапіляра (3). Збільшення $\times 5500$.

Через одну добу після дії антигену щільність великих лімфоцитів у світлому центрі дещо зменшується (табл. 1; рис. 5), потім кількість цих клітин стрімко зростає. Максимальне збільшення в 1,7 разу щільності великих лімфоцитів у світлому центрі лімфоїдних вузликів виявлено на сьому добу після

введення антигена – $1,81 \pm 0,30$. Незначні коливання щільності великих лімфоцитів спостерігаються у мантійній зоні з третьої по сьому добу. У крайовій та періартеріальній зонах лімфоїдних вузликів та періартеріальних лімфоїдних піхвах великих лімфоцитів не виявлено.

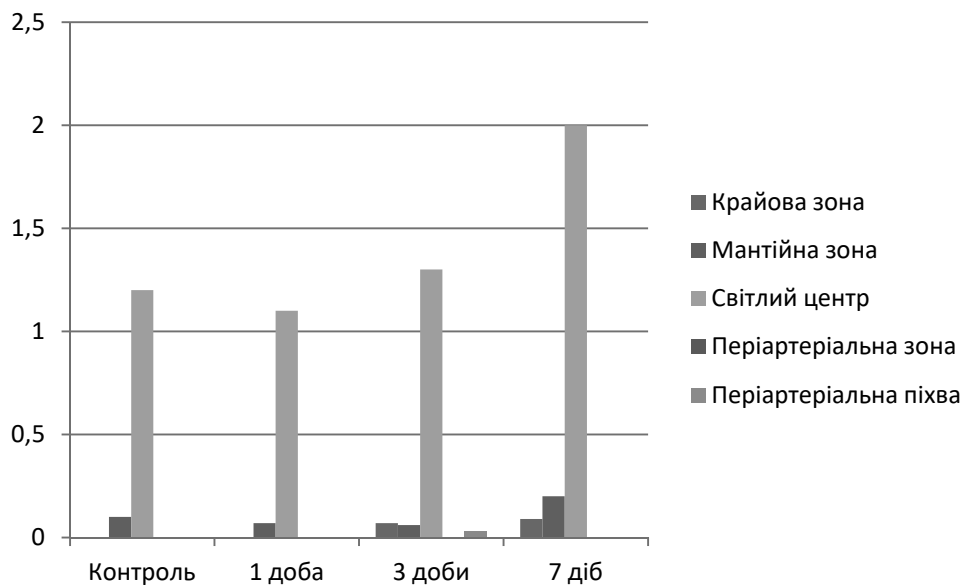


Рис. 5. Динаміка змін щільності великих лімфоцитів у структурних компонентах білої пульпи селезінки білих щурів-самців пострепродуктивного віку упродовж одного тижня після антигенної стимуляції організму «Імуноглобуліном людини нормальним».

Плазматичні клітини у лімфоїдних структурах селезінки білих щурів-самців пострепродуктивного віку виявляються тільки через три доби після введення антигена. Так, щільність плазмоцитів у цей період у крайовій і періартеріальній зонах лімфоїдних вуз-

ликів, а також періартеріальних лімфоїдних піхвах не перевищує $0,05 \pm 0,06$ (табл. 1; рис. 6). На сьому добу щільність плазмоцитів найвища у періартеріальній і крайовій зонах лімфоїдних вузликів цей показник відповідно становить $0,20 \pm 0,14$ і $0,13 \pm 0,28$.

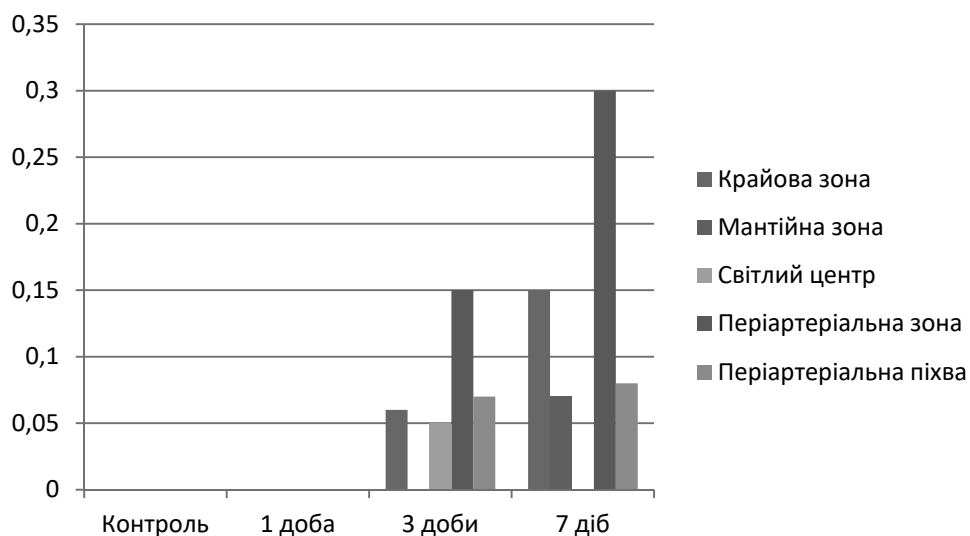


Рис. 6. Динаміка змін щільності плазмоцитів у структурних компонентах білої пульпи селезінки білих щурів-самців пострепродуктивного віку упродовж одного тижня після антигенної стимуляції організму «Імуноглобуліном людини нормальним».

Зміни щільності макрофагів подібні до плазмоцитів (див. табл. 1; рис. 7), але цих

клітин дуже мало і їхні показники недостовірні.

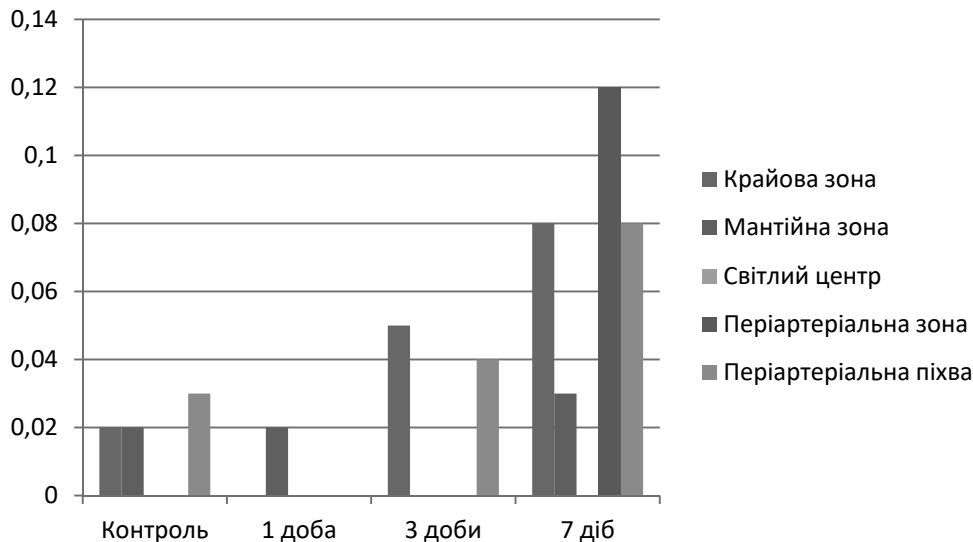


Рис. 7. Динаміка змін щільності макрофагів у структурних компонентах білої пульпи селезінки білих щурів-самців пострепродуктивного віку упродовж одного тижня після антигенної стимуляції організму «Імуноглобуліном людини нормальним».

Лише на сьому добу після дії антигена макрофагів найбільше у крайовій зоні лімфоїдних вузликів і періартеріальній лімфоїдній піхві, їх щільність становить $0,07 \pm 0,03$.

Висновки

1. Світлі центри лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки безпородних білих щурів-самців пострепродуктивного віку мають чітку і добре виражену структуру і складаються переважно з малих, середніх та великих лімфоцитів, макрофагів, плазмочитів.

2. У структурних компонентах білої пульпи селезінки щурів пострепродуктивного віку

мантійна і крайова зони лімфоїдних вузликів є найбільшими.

3. Введення антигена викликає максимальні фазові зміни щільності клітин на 7 добу після антигенної стимуляції організму. У цей період спостерігається збільшення щільності малих і середніх лімфоцитів відповідно на 11,9%, та 1,8% відповідно. Щільність великих лімфоцитів зростає майже у 2 рази. Також у цей період спостерігається збільшення щільності плазмочитів і макрофагів на площі 625 мкм^2 у 1,6 і 2 рази відповідно.

ЛІТЕРАТУРА

- Бобрышева И.В. Морфологическая реактивность селезенки крыс различных возрастных периодов при иммуностимуляции. *Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень*. 2013; 1(3):315-321.
- Булко І.В. Особливості клітинного циклу клітин селезінки у віддалений період після опікової травми шкіри у щурів. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. 2017; 16(3):76-80.
- Волошин В.М. Вивчення інгаляційного впливу епіхлоргідрину на органометричні показники селезінки статевозрілих щурів. *Таврический медико-биологический вестник*. 2012; 15(1):54-6.
- Гербут А.О. Характеристика щільності клітинних елементів структурних компонентів білої пульпи селезінки у статевонезрілих білих щурів-самців після антигенної стимуляції в експерименті. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. 2007; 6(1):56-8.
- Головацький А.С., Гербут А.О., Гецько О.І., Добрянська Е.С., Палапа В.Й., Кочмарь М.Ю. та ін. Динаміка змін щільності клітинних елементів світлих центрів лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки щурів-самців репродуктивного віку впродовж місяця після антигенної стимуляції організму. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. 2015; 14(2):64-7.
- Сапин М.Р. Лимфатическая система как важнейшая часть иммунной системы. *Морфология*. 2000; 117(3):106-8.
- Стефанов С.Б. Морфометрическая сетка случайного шага как средство ускоренного измерения элементов морфогенеза. *Цитология*. 1974; 25(6):785-7.



8. Zhao G., Yu Y.M., Kaneki M., Bonab A.A., Tompkins R.G., Fischman A.J. Simvastatin reduces burn injury-induced splenic apoptosis via downregulation of the TNF- α /NF- κ B pathway. *Ann Surg.* 2015; 261(5):1006-12.
9. Abe E. Differentiation-inducing factor purified from conditioned medium of mitogen-treated spleen cell cultures stimulates bone resorption. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012; 83(5):958-962.

REFERENCES

1. Bobrysheva I.V. Morfologicheskaya reaktivnost' seledenki krysa razlichnykh vozrastnykh periodov pri immunostimulyacii. *Zhurnal klinichnykh ta eksperymentalnykh medychnykh doslidzhen.* 2013; 1(3):315-321 [in Russian].
2. Bulko I.V. Osoblyvosti klitynnoho tsyklu klityn selezinky u viddaleniy period pislia opikovoї travmy shkiry u shchuriv. *Klinichna anatomiia ta operatyvna khirurhiia.* 2017; 16(3):76-80 [in Ukrainian].
3. Voloshyn V.M. Vychennia inhaliatsiinoho vplyvu epikhlordrynu na orhanometrychni pokaznyky selezinky statevozrylykh shchuriv. *Tavrycheskyi medyko-biologicheskyyi vestnyk.* 2012; 15(1):54-6 [in Ukrainian].
4. Herbut A.O. Kharakterystyka shchilnosti klitynnykh elementiv strukturnykh komponentiv biloi pulpy selezinky u statevonezrylykh bilykh shchuriv-samtsiv pislia antyhennoi stymuliatsii v eksperymenty. *Klinichna anatomiia ta operatyvna khirurhiia.* 2007; 6(1):56-8 [in Ukrainian].
5. Holovatskyi A.S., Herbut A.O., Hetsko O.I., Dobrianska E.S., Palapa V.I., Kochmar M.Iu. ta in. Dynamika zmin shchilnosti klitynnykh elementiv svitlykh tsestriv limfoidnykh vuzlykiv biloi pulpy selezinky shchuriv-samtsiv reproduktyvnoho viku vprodovzh misiatsia pislia antyhennoi stymuliatsii orhanizmu. *Klinichna anatomiia ta operatyvna khirurhiia.* 2015; 14(2):64-7 [in Ukrainian].
6. Sapyn M.R. Limfaticheskaya sistema kak vazhnejshaya chast' immunnoj sistemy. *Morfologiya.* 2000; 117(3):106-8 [in Russian].
7. Stefanov S.B. Morfometricheskaya setka sluchajnogo shaga kak sredstvo uskorennoho izmereniya elementov morfogeneza. *Citologiya.* 1974; 25(6):785-7 [in Russian].
8. Zhao G., Yu Y.M., Kaneki M., Bonab A.A., Tompkins R.G., Fischman A.J. Simvastatin reduces burn injury-induced splenic apoptosis via downregulation of the TNF- α /NF- κ B pathway. *Ann Surg.* 2015; 261(5):1006-12.
9. Abe E. Differentiation-inducing factor purified from conditioned medium of mitogen-treated spleen cell cultures stimulates bone resorption. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012; 83(5):958-962.

Отримано 15.03.2022 р.