

УДК 611.41+59.085:615.375

А.А. Захаров, В.Г. Лозыченко

ФГБОУ ВО «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки» МЗ РФ, Луганск

ОСОБЕННОСТИ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СЕЛЕЗЁНКИ И ИЗМЕНЕНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС НА ПОЗДНЕМ СРОКЕ ГЕСТАЦИИ

На сегодняшний день специалистами различного профиля наблюдаются разнообразные функциональные нарушения в организме человека, в том числе из-за ухудшения мировой экологической ситуации и увеличения негативной антропогенной нагрузки. Известно, что регуляторные системы организма, включая эндокринную, нервную и иммунную, имеют решающее значение для адаптации к различным воздействиям [4, 6]. Так, основной функцией последней является выработка адекватного и эффективного иммунного ответа, в чем активную роль играет селезёнка. Она является крупным периферическим органом и содержит до 85% лимфоцитов организма, из которых почти половина являются В-клетками. Совместно с лимфатическими узлами, селезёнка играет ключевую роль в обеспечении гуморального иммунитета.

В период беременности происходят кардинальные изменения в женском организме, включающие в себя изменения и в иммунной системе. Для нормально протекающей гестации требуется создание специального механизма подавления иммунной реакции в организме матери, что включает в себя активацию супрессорных клеток. Этот защитный барьер предотвращает отторжение плода и обеспечивает нормальное развитие беременности [7].

В последнее время более значимыми становятся исследования иммунных органов, в том числе селезёнки, при различных воздействиях. На сегодняшний день проведено множество экспериментов по влиянию экзо- и эндогенных факторов на морфофункциональные изменения данного органа, однако не все вопросы изучены достаточно и требуют дальнейших исследований, особенно во время беременности [1, 5, 8].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение изменений содержания медиаторов межклеточного взаимодействия в плазме крови и морфометрических параметров селе-

зёнки лабораторных животных в конце третьей недели гестации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 12 самках белых беспородных крыс третьей недели беременности массой 210-250 г. Крысы были разделены на 2 группы: первая группа состояла из животных 3 триместра беременности, вторая – интактная группа небеременных самок. В конце третьего периода гестации лабораторных крыс выводили из эксперимента путем декапитации с применением эфирного наркоза в соответствии с современными этическими нормами [10, 11].

Селезёнку извлекали абдоминальным доступом. После экстракции селезёнки производили её взвешивание и измерение органомерических параметров: относительной и абсолютной массы, длины, ширины, толщины. Объем определяли с помощью градуированного мерного цилиндра методом вытеснения дистиллированной воды.

После фиксации фрагментов селезёнки в 10% растворе нейтрального формалина орган подвергали стандартной гистологической проводке. С целью морфологической оценки производили срезы толщиной 4-6 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Полученные гистологические срезы изучали и фотографировали при помощи цифрового программно-аппаратного комплекса. Для измерения микроскопических объектов использовались цифровые изображения, загруженные в программу «Компас-3D 15.2» (АСКОН), с применением соответствующего калибровочного фотофайла, созданного на основе фотографий объекта-микрометра в одинаковых условиях съемки. Данный подход позволил провести микроморфометрические измерения с высокой точностью [3].

В процессе эксперимента проводилось изменение диаметров лимфатического узелка (ЛУ), площадей герминативного центра (ГЦ), центральной артерии (ЦА) и периартериальной зоны (ПЗ), размеров мантийной (МЗ) и маргинальной (МрЗ) зон.

Для изучения иммунологических параметров каждого животного был проведен забор крови из подвздошных сосудов с последующим её центрифугированием с добавлением гепарина. Плазма помещалась в стерильные пробирки с антикоагулянтом и транспортировалась в лабораторию, где хранилась при температуре -18°C до проведения анализа.

С целью определения концентрации медиаторов межклеточного взаимодействия IL-1 β , IL-2, IL-6 и TNF α в плазме крови экспериментальных животных использовался метод иммуноферментного анализа.

Для анализа данных в данном исследовании были использованы методы параметрической статистики. Для проверки подчиненности данных нормальному распределению был применен критерий Шапиро-Уилка. Числовые данные были обработаны с использованием программ Microsoft Office Excel и StatSoft Statistica v6.0, что включало в себя подсчет средних арифметических величин (M), стандартных ошибок средних арифметических (m), а также стандартного отклонения (σ).

Для оценки различий между исследуемыми и интактными группами был использован критерий Стьюдента с уровнем значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании иммунологических параметров было установлено уменьшение концен-

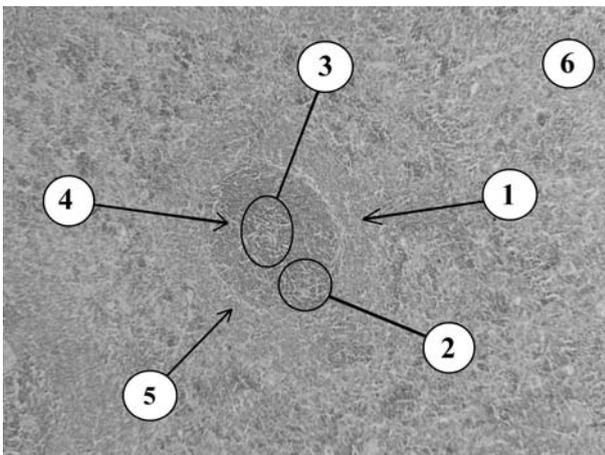
трации медиаторов межклеточного взаимодействия IL-1 β на 4,43%, IL-2 на 3,96%, IL-6 – 4,24% и увеличение TNF α на 4,63% в плазме крови лабораторных животных.

В ходе проведенного эксперимента по окончании третьей недели гестации отмечается, что структура селезенки сохраняла основные морфологические черты, однако были установлены изменения её органометрических и микроморфометрических параметров (см. рис.).

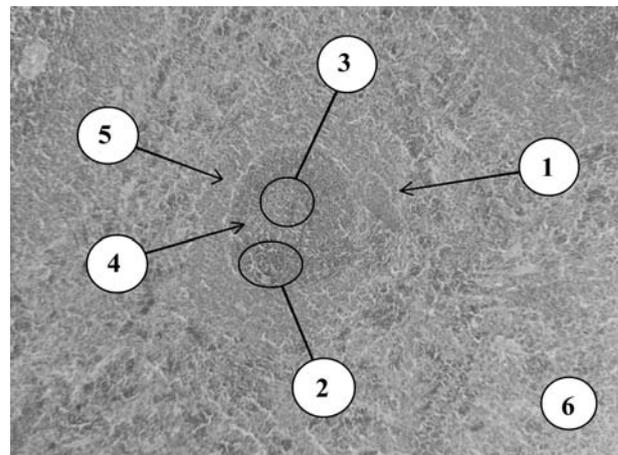
Так, статистически значимые отклонения органометрических показателей наблюдались после окончания 3 недели гестации: абсолютная и относительная масса органа снижалась на 2,12% и 2,17% по отношению к соответствующему значению интактной группы. Линейные показатели изменялись следующим образом: ширина уменьшилась на 5,27%, длина и толщина – на 5,42% и 4,34%. Показатель объема снизился на 4,80%.

В ходе изучения микроморфометрических параметров в конце 3 недели беременности были установлены их статистически значимые различия в изучаемых группах животных (см. табл.).

Анализ научных сведений по данной тематике свидетельствует о том, что гестация является одной из наиболее чувствительных к воздействию факторов окружающей среды состояний организма: в одной из своих работ Т.Ф. Соколова с соавторами исследовала состояние иммунитета у потомства крыс, подвергавшихся воздействию антигенов *Toxoplasma gondii*. Было обнаружено, что неблагоприятные условия, в которых находится мать во время развития лимфоидных структур плода, значительно влияют



а



б

Рис. Фрагмент паренхимы селезенки крыс: а – окончание 3 недели гестации, б – интактная группа: 1 – ЛУ, 2 – ПЗ, 3 – ГЦ, 4 – мантийная зона, 5 – маргинальная зона, 6 – красная пульпа. Окраска: гематоксилин-эозин. Приближение: zoom 18,5, объектив Plan 10x

Таблица.

Морфометрические показатели животных после окончания 3-й недели гестации (M±m, n=6)

	ГЦ, мкм ²	ЦА, мкм ²	МЗ, мкм	МрЗ, мкм	ПЗ, мкм ²	Л/У, больший диаметр, мкм	Л/У, меньший диаметр, мкм
1 группа	42234,78 ±359,68*	4249,78 ±28,28*	192,52 ± 0,69*	192,38 ±0,65*	29103,15 ±161,61*	1006,65 ±1,16*	842,25 ±1,28*
2 группа	44937,43 ±143,57	4495,44 ± 23,55	203,16 ± 0,33	204,17 ±1,04	30834,33 ±154,16	1067,33 ±4,66	890,33 ±1,68

Примечание: * – статистически значимое отличие от интактных данных (p<0,05).

на их функционирование не только в критические моменты формирования иммунной системы после рождения, но также во время полного созревания иммунной системы в период до полового созревания. В этот период физиологические дефициты в иммунной системе, усугубленные воздействием антигена *T. gondii*, могут привести к развитию хронических иммунных патологий. Было выявлено, что чувствительность во время беременности не только изменяет структуру и функции лимфоидных органов, а также количественные показатели клеточного и гуморального иммунитета, но также нарушает сложившиеся взаимосвязи признаков в иммунной системе потомков, чувствительных к антигенам [9].

В своем исследовании И.В. Бобрышева изучала особенности гистологического строения селезенки белой пульпы селезенки белых крыс в различные периоды постнатального онтогенеза в условиях экспериментальной иммуносупрессии. Было выявлено, что введение циклофосфана приводит к изменению морфологических ха-

рактеристик селезенки, проявляющихся в гипоплазии белой пульпы на ранних сроках наблюдения. Наиболее высокий уровень реактивности белой пульпы лимфоидного органа в ответ на введение препарата наблюдается у крыс периода полового созревания [2].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

К концу третьей недели беременности наблюдаются изменения строения селезенки животных, носящие преимущественно количественный характер, на фоне умеренной иммуносупрессии, подтвержденной лабораторно. Отклонения морфометрических параметров органа беременных крыс от данных интактной группы сходны с таковыми при экзогенных воздействиях. Полученные в ходе исследования результаты вызывают интерес к изучению структуры селезенки в условиях иммуносупрессии и иммуностимуляции в разные периоды гестации, результаты которых будут отражены в последующих публикациях.

А.А. Захаров, В.Г. Лозыченко

ФГБОУ ВО «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки» МЗ РФ, Луганск

ОСОБЕННОСТИ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ СЕЛЕЗЁНКИ И ИЗМЕНЕНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС НА ПОЗДНЕМ СРОКЕ ГЕСТАЦИИ

В статье приведены результаты изменений морфометрических параметров селезенки и содержания медиаторов межклеточного взаимодействия в плазме крови белых крыс в конце третьей недели гестации. Эксперимент проводился на 12 самках: первая группа состояла из животных 3 недели беременности, вторая – интактная группа небеременных крыс. С целью изучения особенностей состояния иммунной системы было проведено определение концентрации медиаторов межклеточного взаимодействия IL-1β, IL-2, IL-6 и TNFα в плазме крови лабораторных животных. Определяли линейные размеры (длину, ширину, толщину), относительную и абсолютную массу, объём органа. При исследовании микроморфометрических параметров измеряли диаметры лимфатического узелка, площадь герминативного центра, цен-

тральной артерии и периартериальной зоны, ширину мантийной и маргинальной зон. В ходе эксперимента установлено уменьшение относительной и абсолютной массы органа, линейных размеров, объема, а также уменьшение всех микроморфометрических показателей в те же сроки наблюдения. Так же отмечается снижение иммунологических параметров – концентрации цитокинов в плазме крови белых крыс. К концу третьей недели беременности наблюдаются изменения строения селезенки животных, носящие преимущественно количественный характер, на фоне умеренной иммуносупрессии, подтвержденной лабораторно.

Ключевые слова: селезенка, крыса, беременность, интактная группа.

A.A. Zakharov, V.G. Lozychenko

FSBEI HE «Saint Luka Lugansk State Medical University» MOH Russia, Lugansk

FEATURES OF MORPHOMETRIC PARAMETERS OF THE SPLEEN AND CHANGES IN THE IMMUNOLOGICAL STATUS OF LABORATORY RATS IN LATE GESTATION

The article presents the results of changes in the morphometric parameters of the spleen and the level of mediators of intercellular interaction in the blood plasma of white rats at the end of the third week of gestation. The experiment was carried out on 12 females: the first group included the animals of 3rd weeks of pregnancy, the second - an intact group of non-pregnant rats. In order to study the characteristics of the state of the immune system, the concentration of intercellular interaction mediators IL-1 β , IL-2, IL-6 and TNF α in the blood plasma of laboratory animals was determined. Linear dimensions (length, width, thickness), relative and absolute mass, and organ volume were determined. When studying micromorphometric parameters, the diameters of the lymph

node, the area of the germinal center, the central artery and the periarterial zone, the width of the mantle and marginal zones were measured. During the experiment, a decrease in the relative and absolute mass of the organ, linear dimensions, volume, as well as a decrease in all micromorphometric indicators during the same observation period was established. There is also a decrease in immunological parameters – the concentration of cytokines in the blood plasma of white rats. By the end of the third week of pregnancy, changes in the structure of the spleen of animals are observed, which are mainly quantitative in nature, against the background of moderate immunosuppression, confirmed by laboratory.

Key words: spleen, rat, pregnancy, intact group.

ЛИТЕРАТУРА

- Бахмет А.А., Коплик Е.В. Реакция селезенки у активных и пассивных крыс при стрессорном воздействии, с предварительным введением синтетического аналога АКТГ-семакса. Академический журнал Западной Сибири. 2014; 10 (51): 115-116.
- Бобрышева И.В. Морфологическая реактивность селезенки крыс различных возрастных периодов при иммуносупрессии. Journal of Siberian Medical Sciences. 2015; 6: 53.
- Вергунова В.В., Захаров А.А. Влияние метотрексат-индуцированной иммуносупрессии на морфометрические показатели тимуса крыс в начальные сроки гестации. Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова. 2023; 21 (1): 68-72.
- Захаров А.А., Дикая А.А. Особенности строения эпифиза экспериментальных животных при иммуностимуляции. Journal of Siberian Medical Sciences. 2023; 7 (2): 54-61. doi: 10.31549/2542-1174-2023-7-2-54-61
- Капитонова М.Ю., Кузнецов С.Л., Фуад С.Б.С.А., Дегтярь Ю.В., Хлебников В.В., Нестерова А.А., Чернов Д.А. Иммуногистохимическая характеристика селезенки при действии различных видов стрессоров. Морфология. 2009; 136 (5): 61-66.
- Кашченко С.А., Захаров А.А. Изменения строения придатков семенников крыс репродуктивного периода в условиях иммуносупрессии. Вестник СурГУ. Медицина. 2018; 2 (36): 85-90.
- Киселев О.И. Иммуносупрессия при беременности и грипп. Вопросы вирусологии. 2012; 57(6): 5-8.
- Макалиш Т.П. Ультраструктура селезенки крыс различных возрастов после введения ксеногенной спинномозговой жидкости. Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. 2017; 7 (4): 48-52.
- Соколова Т.Ф., Новиков Д.Г., Индутный А.В., Турок Н.Е., Величко Г.Н. Состояние иммунитета у потомства крыс, подвергавшихся воздействию антигенов тохопlasma gondii. Бюллетень сибирской медицины. 2014; 13 (5): 93-101.
- Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes, complying with the requirements of the European Economic Area. St. Petersburg, 2012. 276:0033: 0079: EN: PDF
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. Strasbourg; 1986: 52.

REFERENCES

- Bakhmet A.A., Koplik E.V. Reaktsiya selezhenki u aktivnykh i passivnykh krysv pri stressornom vozdeistvii, s predvaritel'nyim vvedeniem sinteticheskogo analoga AKTG-semaksa. Akademicheskii zhurnal Zapadnoi Sibiri. 2014; 10 (51): 115-116 (in Russian).
- Bobrysheva I.V. Morfologicheskaya reaktivnost' selezhenki krysv razlichnykh vozrastnykh periodov pri immunosupressii. Journal of Siberian Medical Sciences. 2015; 6: 53 (in Russian).
- Vergunova V.V., Zakharov A.A. Vliyanie metotreksat-indutsirovannoi immunosupressii na morfometricheskie pokazateli timusa krysv v nachal'nye sroki gestatsii. Morfologicheskii al'manakh imeni V.G. Koveshnikova. 2023; 21 (1): 68-72 (in Russian).
- Zaharov A.A., Dikaya A.A. Osobennosti stroeniya epifiza eksperimental'nykh zhivotnykh pri immunostimulyacii. Journal of Siberian Medical Sciences. 2023; 7 (2): 54-61 (in Russian). doi: 10.31549/2542-1174-2023-7-2-54-61
- Kapitonova M.Yu., Kuznetsov S.L., Fuad S.B.S.A., Degtyar' Yu.V., Khlebnikov V.V., Nesterova A.A., Chernov D.A. Immunogistokhimicheskaya kharakteristika selezhenki pri deistvii razlichnykh vidov stressorov. Morfologiya. 2009; 136 (5): 61-66 (in Russian).
- Kashchenko S.A., Zakharov A.A. Izmeneniya stroeniya pridatkov semennikov krysv reproduktivnogo perioda v usloviyakh immunosupressii. Vestnik SurGU. Medicina. 2018; 2 (36): 85-90 (in Russian).
- Kiselev O.I. Immunosupressiya pri beremennosti i gripp. Voprosy virusologii. 2012; 57(6): 5-8 (in Russian).
- Makalish T.P. Ul'trastruktura selezhenki krysv razlichnykh vozrastov posle vvedeniya ksenogennoi spinnomozgovoi zhidkosti. Krymskii zhurnal eksperimental'noi i klinicheskoi meditsiny. 2017; 7 (4): 48-52 (in Russian).
- Sokolova T.F., Novikov D.G., Indutnyi A.V., Turok N.E, Velichko G.N. Sostoyanie immuniteta u potomstva krysv, podvergavshikhsya vozdeistviyu antigenov toxoplasma gondii. Byulleten' sibirskoi meditsiny. 2014; 13 (5): 93-101 (in Russian).
- Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes, complying with the requirements of the European Economic Area. St. Petersburg, 2012. 276:0033: 0079: EN: PDF
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. Strasbourg; 1986: 52.