

УДК 611.018+59.086:615.37

Лозыченко В.Г., Захаров А.А.

ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЕЛЕЗЁНКИ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС НА РАННЕМ СРОКЕ ГЕСТАЦИИ

Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки, г. Луганск

Целью исследования явилось изучение изменений морфометрических показателей селезёнки и иммунологических параметров плазмы крови экспериментальных животных раннего срока гестации. Результаты исследования. При изучении органометрических и микроморфометрических показателей наблюдается уменьшение показателей линейных размеров, относительной и абсолютной массы органа, объема, а также уменьшение всех микроморфометрических параметров в те же сроки наблюдения. Так же отмечается снижение иммунологических параметров – концентрации медиаторов межклеточного взаимодействия IL-1 β , IL-2, IL-6 и TNF α в плазме крови животных.

Ключевые слова: крысы, селезёнка, морфометрические изменения, иммунологические показатели, интактная группа.

Lozychenko V.G., Zakharov A.A.

CHANGES IN MORPHOMETRIC INDICES OF THE SPLEEN AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS OF RAT BLOOD PLASMA AT AN EARLY STAGE OF GESTATION

Saint Luka Lugansk State Medical University, Lugansk

The aim of the study was to discover changes in the morphometric parameters of the spleen and immunological parameters of the blood plasma of experimental animals at an early stage of gestation. The results of the study. When studying organometric and micromorphometric indicators, there is a decrease in linear dimensions, relative and absolute mass of the organ, volume, as well as a decrease in all micromorphometric parameters during the same observation period. There is also a decrease in immunological parameters – the concentration of mediators of intercellular interaction IL-1 β , IL-2, IL-6 and TNF α in the blood plasma of animals.

Key words. Rats, spleen, morphometric changes, immunological parameters, intact group.

Организм человека является сложным ансамблем органов, функционально связанных друг с другом. Иммунная система обеспечивает одну из главных функций в организме – защиту от чужеродных тел и веществ, в том числе вызывающих иммунодепрессивные состояния. Иммуносупрессия может быть обусловлена применением некоторых лекарственных средств (например, глюкокортикоиды, иммунодепрессанты), проникновением различных микроорганизмов в организм, вредным влиянием физических факторов, клетками опухолевого происхождения, гормонами эндогенного характера с развитием вторичного иммунодефицита [4]. Помимо негативных факторов внешней среды, можно выделить физиологическую иммуносупрессию, вызванную гестацией. При наступлении беременности иммунитет женщины угнетается, поскольку на этом этапе происходит его подавление вследствие естественного механизма. Одним из первых реагирует клеточный иммунитет – организм матери создает особые белковые факторы и вещества, которые способны угнетать иммунный ответ. Всё это требуется для предотвращения реакции отторжения плода [3].

Селезенка принимает активное участие и играет определённую роль в регуляции иммунных процессов как в физиологических, так и патологических условиях. На данный момент проведено большое количество исследований влияния различных факторов окружающей среды на морфофункциональные изменения селезенки, однако вопросы изменения структуры данного органа во время беременности изучены недостаточно и требуют дальнейших исследований [2, 5].

Цель работы

Целью работы явилось изучение изменений морфометрических показателей селезёнки и иммунологических параметров плазмы крови исследуемых животных на раннем сроке гестации.

Материал и методы

Эксперимент был выполнен на 12 самках белых лабораторных крысах первого триместра гестации массой 210-250 г. Животные находились в стандартных условиях вивария, расположенного на территории медицинского университета. Крысы были разделены на 2 группы: первая состояла из лабораторных животных 1 периода гестации, вторая – интактная группа небеременных самок. В конце первой недели беременности крыс выводили из эксперимента путем декапитации при помощи эфирного наркоза согласно актуальным, на сегодняшний день, этическим нормам. Манипуляции, проводимые над исследуемыми животными, осуществлялись в соответствии с правилами и нормами, принятыми «Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных» и Директивой Европейского парламента [8, 9].

После извлечения селезёнки из брюшной полости, орган взвешивали на торсионных весах, рассчитывали относительную массу, измеряли линейные размеры: длину, ширину, толщину. Объем определяли при помощи градуированного цилиндра, методом вытеснения дистиллированной воды.

Затем орган фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, после промывали в водопроводной воде в течение 24 часов, обезживали в смесях спиртов восходящей крепости, производили просветление препаратов в смесях ксилола со спиртом и заливали в парафин. Для исследования выбирались по 6 участков органа, из которых изготавливались минимум 6 микропрепаратов, содержащих не менее 6 срезов толщиной 3-5 мкм, окрашенных гематоксилином и эозином [7].

Готовые гистологические препараты исследовали и фотографировали на цифровом аппаратно-программном комплексе. На каждом срезе изучалось не менее 6 полей зрения, содержащих исследуемые структуры. Микрофотографии получали в нескольких режимах увеличения: при использовании объективов PlanC N 10^x/0.25 ∞ /-FN22, PlanC N 40^x/0.65

$\infty/0.17/\text{FN}22$, PlanC N $60^\times/0.80$ $\infty/0.17/\text{FN}22$ и приближения объектива zoom 18,5. Морфометрические измерения объектов проводили путём анализа полученных данных с помощью цифровых изображений в компьютерной программе АСКОН «Компас-3D 15.2», используя калибровочный файл, созданный с помощью фотографий объект-микрометра в одинаковых режимах съёмки [1]. Микроморфометрические параметры изучались для определения диаметров лимфатического узелка (ЛУ), размеров мантийной и маргинальной зон, площади герминативного центра (ГЦ), центральной артерии (ЦА) и периартериальной зоны (ПЗ).

У каждого животного при жизни осуществлялся забор крови из подвздошных сосудов с целью изучения иммунологических параметров. Полученная кровь сразу центрифугировалась с добавлением гепарина на центрифуге со скоростью 300 оборотов в минуту. Полученная плазма помещалась в стерильные пробирки, обработанные антикоагулянтом, и немедленно транспортировалась в лабораторию, где хранилась при температуре -18°C до анализа.

Для установления особенностей состояния иммунной системы было проведено определение концентрации медиаторов межклеточного взаимодействия IL-1 β , IL-2, IL-6 и TNF α в плазме крови животных методом иммуноферментного анализа с помощью наборов «Rat Elisa Kit» «Луганской диагностической лаборатории».

Для статистической обработки данных применялись методы параметрической статистики. Подчиненность данных нормальному закону распределения устанавливалась при помощи критерия Шапиро-Уилка. Числовые данные, полученные в ходе эксперимента, обрабатывали с использованием программы Microsoft Office Excel и специализированного программного обеспечения «StatSoft Statistica v6.0», что включало в себя подсчет средних арифметических величин (M), стандартных ошибок средних арифметических (m), а также стандартного отклонения (σ).

Для определения значимости различий использовался критерий Стьюдента. В общем виде статистически достоверными считались различия, при которых уровень достоверности (p) составлял более 95,0% ($p < 0,05$), в остальных же случаях различия признавались статистически недостоверными ($p > 0,05$).

Результаты и обсуждение: В процессе исследования селезёнка сохраняла основные морфологические черты, в то же время были установлены изменения её органометрических и морфометрических показателей.

Исследование органометрических параметров показало, что статистически значимые различия показателей исследуемых групп наблюдаются в конце 1-й недели наблюдения - отмечалось уменьшение абсолютной и относительной масс селезёнки на 1,47% и 1,68%.

Показатели линейных размеров снижались однонаправленно: длина органа – на 3,57%, ширина – на 2,04%, толщина – на 3,3%. Объем уменьшился на 4,32% соответственно окончанию 1-го триместра гестации.

При исследовании микроморфометрических параметров было установлено, что статистически значимые различия показателей контрольной и интактной группы животных наблюдаются так же в конце 1-й недели гестации (рис. 1).

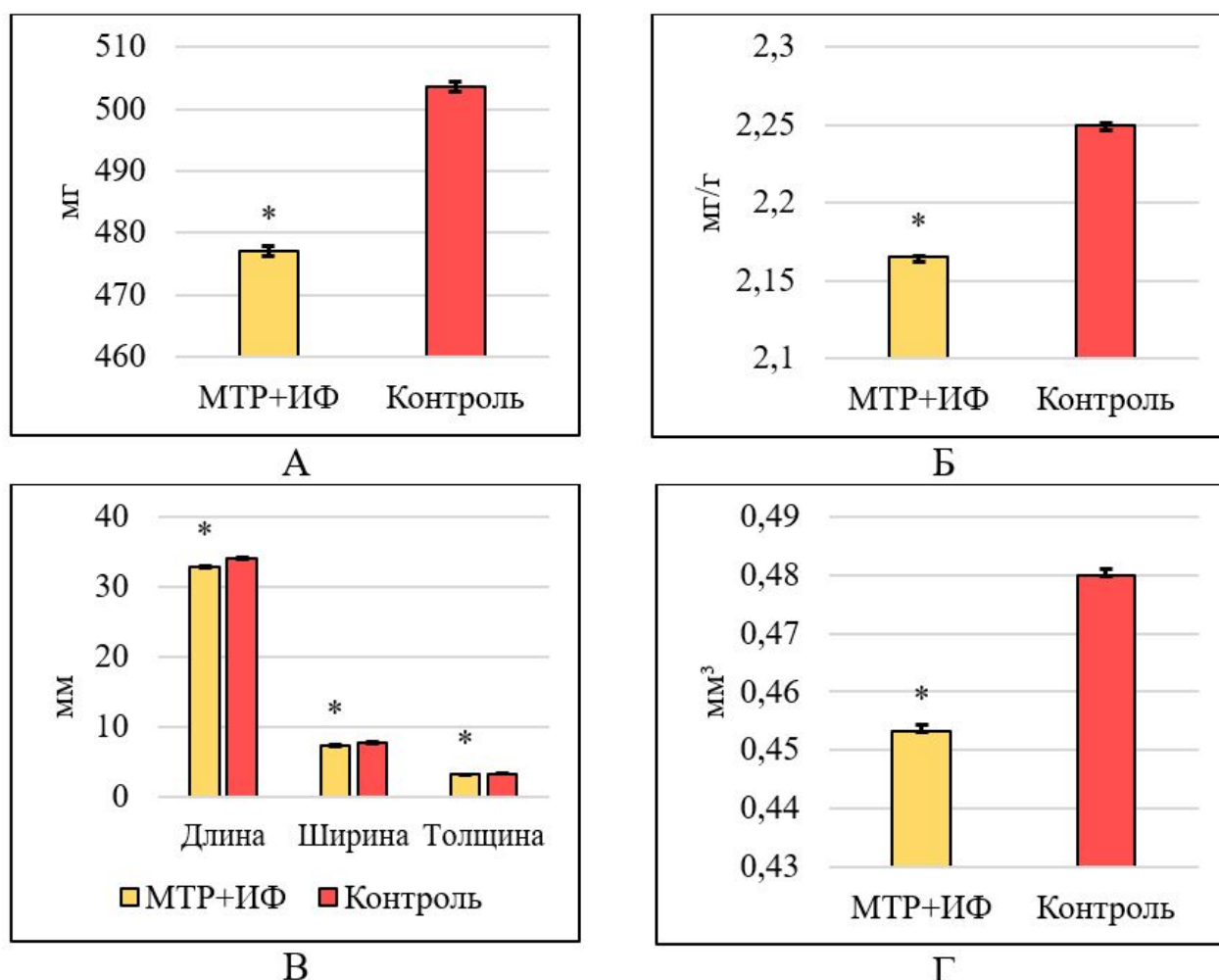


Рис. 1. Фрагмент паренхимы селезенки крыс, наблюдаемый в конце 1 недели беременности: А – окончание 1 недели гестации, Б – интактная группа: 1 – ЛУ, 2 – ГЦ, 3 – ПЗ, 4 – мантийная зона, 5 – маргинальная зона, 6 – красная пульпа. Окраска: гематоксилин-эозин. Приближение: zoom 18,5, объектив Plan 10x.

Таким образом, по истечении одной недели наблюдения были отмечены следующие статистически значимые различия между показателями экспериментальной и интактной группы животных: уменьшение площади герминативного центра, центральной артерии и периартериальной зоны на 2,53%, 2,12% и 4,27% соответственно, ширина мантийной и

маргинальной зон – на 3,12% и 3,15%. Диаметры лимфатического узелка снизились в тот же период на 5,47% и 5,15%.

При исследовании иммунологических параметров было отмечено уменьшение концентрации медиаторов межклеточного взаимодействия IL-1 β на 2,08%, IL-2 на 3,74%, IL-6 – 2,28% и TNF α – 4,29% в плазме крови экспериментальных животных.

Анализ научных сведений по данной тематике свидетельствует о том, что беременность является одним из самых чувствительных к воздействию факторов окружающей среды состояний организма: в одной из своих работ Н.М. Мельникова с соавторами исследовала содержание отдельных микроэлементов в таких органах, как почки, печень, селезенка беременных крыс при отравлении ацетатом свинца. Были получены следующие результаты: отмечается нарушение обмена некоторых микроэлементов в органах беременных отравленных животных. А именно: отмечается снижение концентрации меди в почках и селезенке; увеличение содержания железа в почках, печени, селезенке и перераспределение содержания цинка относительно этих показателей в организме беременных крыс [6].

Таким образом, анализ полученных результатов обнаружил комплексный ответ органа, что, по-видимому, свидетельствует о его участии в реакции регуляторных механизмов иммунной системы во время беременности.

Заключение и выводы

1. В конце первой недели гестации наблюдается видимая реакция селезёнки экспериментальных животных по сравнению с интактной группой.
2. Были отмечены изменения морфометрических и иммунологических показателей селезенки в конце первой недели беременности, что говорит об умеренной физиологической иммуносупрессии.
3. Полученные данные вызывают интерес к изучению структуры селезёнки в условиях гестации на более поздних сроках, результаты которых будут отображены в следующих работах.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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. Т. 21, №1. С. 68-72.
2. Бобрышева И.В. Морфологическая реактивность селезенки крыс различных возрастных периодов при иммуносупрессии // Journal of Siberian Medical Sciences. 2015. №6. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/morfologicheskaya-reaktivnost-selezenki-krys-razlichnyh-vozrastnyh-periodov-pri-immunosupressii> (дата обращения: 20.01.2024).

3. Киселев О.И. Иммуносупрессия при беременности и грипп // Вопросы вирусологии. 2012. Т. 57, №6. С. 5-8.
4. Лебединская Е.А., Лебединская О.В., Годовалов А.П., Прокудин В.С. Иммуноморфологические особенности тимуса крыс на фоне введения цитостатика в эксперименте // Саратовский научно-медицинский журнал. 2016. №1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/immunomorfologicheskie-osobennosti-timusa-krys-na-fone-vvedeniya-tsitostatika-v-eksperimente> (дата обращения: 20.01.2024).
5. Макалиш Т.П. Морфофункциональные особенности селезенки при воздействии на организм факторов различного генеза // Таврический медико-биологический вестник. 2013. Т. 16, № 1. С. 265-269.
6. Мельникова Н. М., Ткаченко Т. А., Лазаренко И. А. Характеристика содержания отдельных микроэлементов в печени, почках и селезенке беременных крыс при отравлении свинцом // 2010. Т. 12, №1. С. 159-162. URL: <https://elibrary.ru/rkuurf> (дата обращения: 20.01.2024).
7. Саркисов Д.С. Микроскопическая техника: Руководство для врачей и лаборантов // М.: «Медицина», 1996. С. 544.
9. 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
10. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – P. 52.

Сведения об авторах статьи:

Лозыченко Владислав Геннадиевич – ассистент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО ЛГМУ им. Свт. Луки Минздрава России (291045, РФ, ЛНР, г. Луганск, кв. 50-летия Оборона Луганска, 1г), e-mail: q2033f1@mail.ru.

Захаров Алексей Александрович – д.м.гн., профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ФГБОУ ВО ЛГМУ им. Свт. Луки Минздрава России (291045, РФ, ЛНР, г. Луганск, кв. 50-летия Оборона Луганска, 1г). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7377-2891>; e-mail: masterhist@mail.ru.