

УДК: 611.41+616.411:616-097]:57.017.645]-092.9

Особливості формування Т-залежних зон селезінки після внутрішньоутробної дії антигенів

О. А. Апт

Запорізький державний медичний університет, м.Запоріжжя
Це дослідження є фрагментом планових НДР кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету «Лектингістохімічна характеристика морфогенезу органів і тканин в ранньому постнатальному періоді в нормі та експерименті» (№ держреєстрації 0109U003986), «Реактивність органів новонароджених після дії антигенів та факторів різної природи у внутрішньоутробному періоді».

Вступ. В останні десятиріччя відзначається прогресивне зростання кількості інфекційних та алергічних захворювань у дітей раннього віку, що, безумовно, пов'язане із високою частотою випадків патологічного перебігу вагітності та інфікування вагітних різними антигенами. Окрім факторів зовнішнього середовища, в цьому процесі велике значення відіграють внутрішньоутробні інфекції та порушення функції плаценти, що полегшує інфікування плоду під час вагітності. Таке антигенне навантаження викликає слабкість первинної імунної відповіді у новонароджених, що сприяє розвитку патологічних станів у дітей [5].

Мета дослідження – вивчення особливостей формування білої пульпи селезінки щурів у ранньому післянатальному періоді в нормі та після внутрішньоутробного введення антигенів різної природи.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження була селезінка 168 білих щурів лінії Вістар у віці від 1 до 30 доби післянатального життя. Тварин розподілили на 4 групи: перша – інтактні щури (38); друга (контрольна) - тварини після внутрішньочеревного введення фізіологічного розчину (23); третя - щури, яким внутрішньочеревно вводили імуноглобулін (53); четверта – тварини після пренатального введення вакцини паротиту (54).

Внутрішньочеревне введення фізіологічного розчину та антигенів здійснювали під час лапаротомії, на 18-й добі датованої вагітності, шляхом кризьматочної, кризьоболонкової підшкірної ін'єкції в об'ємі 0,05 мл кожному з плодів за М.А.Волошиним (1981). За антигени обрані: 1- імуноглобулін людини нормальний в дозі 0,165 мг білку; 2- вакцина жива паротитна суха, яку вводили у дозі 25 ГАТЕ50. Забій тварин проводили з 13:00 до 14:00 шляхом декапітації під ефірним наркозом. При роботі з тваринами керувалися «Європейською конвенцією з захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986). Визначали масу селезінки в абсолютних та відносних величинах. Для гістологічного та гістохімічного дослідження шматочки органу фіксували у суміші Буена, а також у 10% нейтральному формаліні. Серійні парафінові зрізи завтовшки 5-6 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозином, та використовувати ШК- реакцію з дофарбуванням ядер гематоксиліном. На зрізах селезінки вивчали абсолютну та відносну морфофункціональних зон білої пульпи (ПАЛМ, лімфоїдних вузликів, маргінальної зони), елементів стромы. У ПАЛМ підраховували відносну кількість малих, середніх та

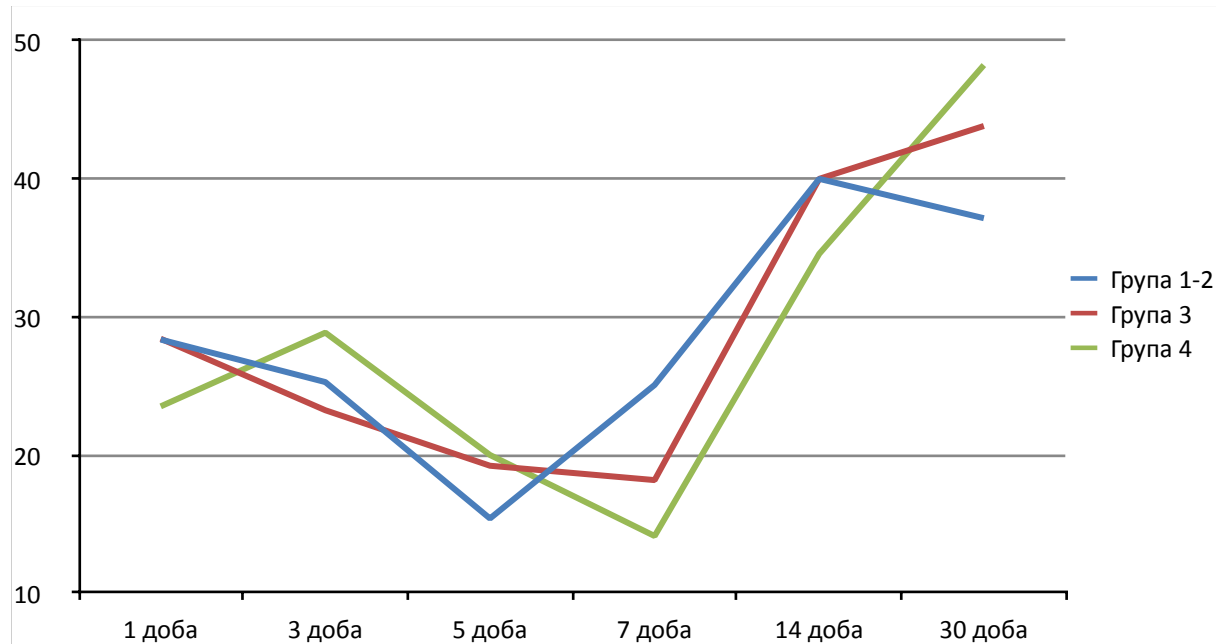
великих лімфоцитів (до цієї групи клітин відносили лімфобласти), ретикулярних клітин, фібробластів та фіброцитів (одна група), макрофагів, тілець Флемінга, плазмоцитів та клітин з фігурами мітозу. Обробку отриманих числових результатів проводили за допомогою статистичних методів з використанням комп'ютерної програми Statistica® for Windows 6.1. Порівнювані результати вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати власних досліджень та їх обговорення. У інтактних новонароджених тварин біла пульпа селезінки представлена ПАЛМ – періартеріальними лімфоїдними муфтами, $85,7 \pm 1,7\%$ яких мають площу менш, ніж 5000 мкм^2 . Вони складаються з трьох – чотирьох шарів переважно середніх лімфоцитів, відокремлені від червоної пульпи розташованими по периферії фібробластами та колагеновими волокнами, що співпадає з даними інших авторів [6]. У центрі Т-залежної зони визначається артерія, в стінці якої чітко диференціюється тільки внутрішня оболонка. З 3-ї доби життя виявляється маргінальна зона, представлена двома – трьома шарами лімфоцитів, ретикулярних клітин, фібробластів та маргінальним синусом. Відносна площа ПАЛМ неухильно зростає за рахунок розширення Т-залежних зон та їхнього новоутворення. Абсолютна площа ПАЛМ збільшується, досягає максимуму на 7-у добу ($11802 \pm 2816 \text{ мкм}^2$), зменшується наприкінці другого тижня ($10843 \pm 1663 \text{ мкм}^2$) та майже не змінюється до 30-ї доби. Зростання площі Т-залежних зон пов'язане з появою великих лімфоїдних муфт на 3-тю добу та збільшення їхньої кількості до 7-ої доби життя. Одночасно, зменшується об'єм ПАЛМ малих розмірів. Кількість середніх муфт з 3-ї по 30-ту добу майже не

змінюється. Закінчення формування стінки центральної артерії відмічається на 5-ту добу. Навколо артерій Т-залежних зон постійно виявляються судини мікроциркуляторного русла, заповнення яких лімфоцитами хвилеподібно змінюється на протязі першого місяця життя.

Для клітинної популяції Т-залежних зон характерне збільшення частки середніх (з $37,96 \pm 1,91$ до $60,15 \pm 1,55\%$) та зменшення вмісту великих лімфоцитів (з $21,04 \pm 1,91\%$ до $9,02 \pm 1,04\%$) до 7-ої доби життя у інтактних тварин. В цьому віці зафіксоване статистично вірогідне падіння відносної кількості ретикулярних клітин фібробластів в ПАЛМ. З 14-ої доби в Т-залежних зонах селезінки інтактних та контрольних щурів знижується частка середніх лімфоцитів й збільшується вміст лімфоцитів малого діаметру (див. графіки 1-2). Подібні дані наведені в роботі [4], стосовно селезінки людини. Найбільша мітотична активність, відмічена на першу ($1,22 \pm 0,32\%$), п'яту ($1,20 \pm 0,31\%$) та тридцяту добу життя, що, можливо, є відображення процесу становлення популяції пулу цитотоксичних лімфоцитів в селезінці в цей період [7]. Таким чином, до 5-ї доби у інтактних та контрольних тварин відбувається становлення внутрішньої зони ПАЛМ. З 5-ї доби виявляються численні лімфоїдні вузлики, що формуються; виникнення гермінативних центрів в них визначається у віці двох тижнів, що корелює з результатами [2].

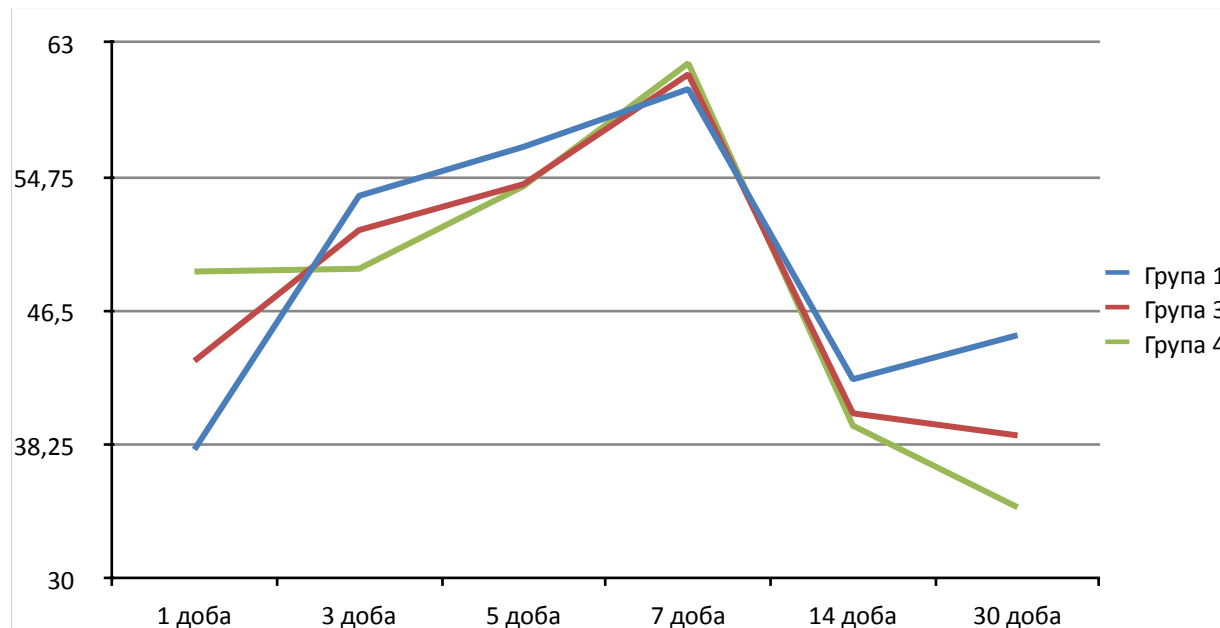
Графік 1: вміст малих лімфоцитів в ПАЛМ тварин різних груп (%)



- *достовірні зміни у порівнянні з 1-2 групами*
- *достовірні зміни у порівнянні з 3 групою*

У тварин після внутрішньочеревного введення імуноглобуліну зростає відносна площа білої пульпи за рахунок більш раннього формування маргінальної зони, а також збільшення площі та кількості ПАЛМ (середня площа Т-залежних зон 3083 ± 801 мкм² та 5876 ± 1132 мкм², відповідно). Максимум абсолютної площі ПАЛМ у тварин цієї групи, як і у інтактних тварин, відмічається на 7-му добу, на дві доби раніше, ніж у контролі, спостерігається масовий початок утворення лімфоїдних вузликів. В клітинній популяції, в порівнянні з контролем, виявлено більш високий відсотковий вміст лімфоцитів середнього розміру ($37,96 \pm 1,91\%$ та $14,21 \pm 1,14\%$, відповідно) (див. графік 2). Протягом перших трьох діб життя відзначено збільшення макрофагоцитарної активності, підвищення кількості клітин з фігурами мітозу.

Графік 2: вміст середніх лімфоцитів в ПАЛМ тварин різних групах (%)



- *достовірні зміни у порівнянні з 1-2 групами*

Надалі відмічається прогресивне збільшення площі білої пульпи, яке випереджає її розвиток у інтактних щурів. Швидше, ніж в контролі, поширюється маргінальна зона, формуються лімфоїдні вузлики, в яких на 14-ту добу життя виявляються початкові етапи утворення гермінативних центрів. Абсолютна площа ПАЛМ досягає максимуму на 5-ту добу ($11246 \pm 1985 \text{ мкм}^2$), потім знижується наприкінці другого тижня ($8492 \pm 1795 \text{ мкм}^2$) й зростає до 30-ї доби життя.

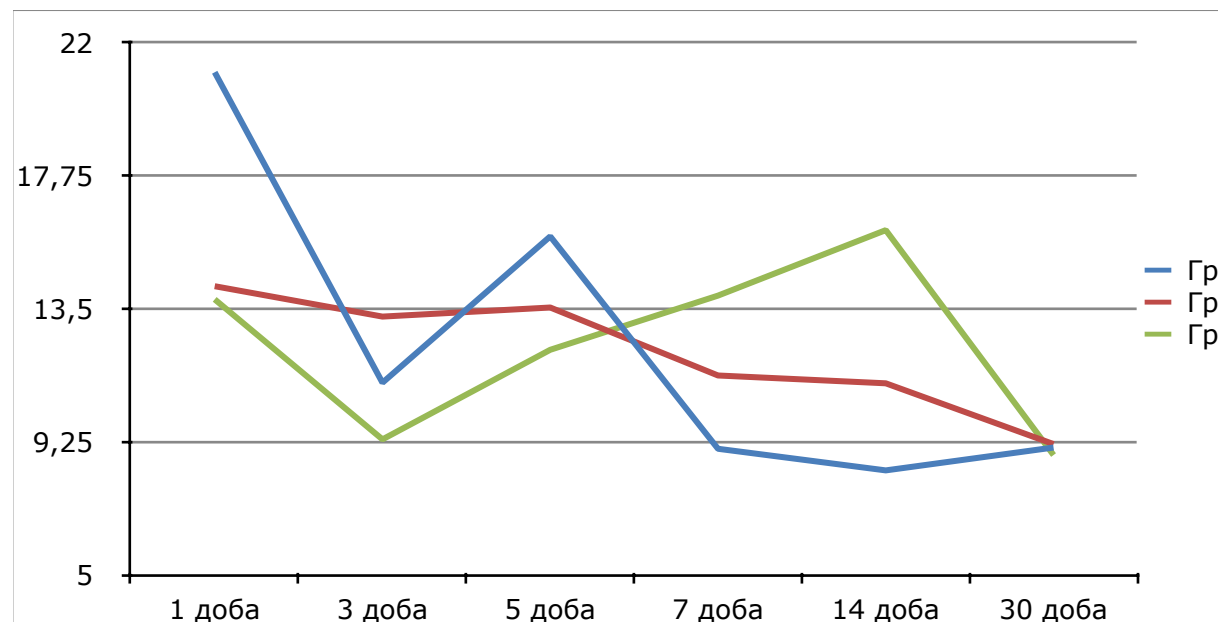
З 3-ї до 14-ї доби склад клітинної популяції ПАЛМ майже не відрізняється від показників для інтактних тварин. Від 14-ї до 30-ї доби відмічається більш високий вміст лімфоцитів малого діаметру та зниження числа середніх лімфоцитів, в порівнянні з контрольними щурами того ж віку (на 30-ту добу малих лімфоцитів $37,19 \pm 3,41\%$ та $43,83 \pm 1,95$, середніх лімфоцитів $45,00 \pm 2,99\%$ та $38,83 \pm 2,22\%$, відповідно).

Відносна площа білої пульпи у тварин, яким вводили вакцину паротита, після народження перевищує дані контролю ($1,19 \pm 0,95\%$ і $4,55 \pm 1,64\%$, відповідно) та, надалі, розвивається

більш швидкими темпами, ніж у інтактних тварин. У новонароджених щурів даної групи, на відміну від контролю, виявляються великі ПАЛМ, що оточені починаючою своєю формування маргінальною зоною. Т-залежні зони у цих тварин прогресивно збільшуються до 5-ї доби життя. Утворення лімфоїдних вузликів у таких щурів до 3-ї доби життя запізнюється порівняно з контролем та тваринами після антенатального введення імуноглобуліну. Більш швидкими темпами, ніж у інтактних щурів, іде становлення стінки центральної артерії, усі оболонки якої чітко диференціюються на 5-у добу.

В клітинній популяції ПАЛМ у новонароджених тварин 4-ї групи виявляється вірогідно більше середніх лімфоцитів ($37,96 \pm 1,91\%$ та $48,96 \pm 2,92\%$, відповідно), ніж у контролі, та менше лімфоцитів великого діаметру, кількість яких нижча на протязі 5 днів життя (див. графік 2-3).

Графік 3: вміст великих лімфоцитів в ПАЛМ тварин різних груп (%)



- *достовірні зміни у порівнянні з 1-2 групами*

- *достовірні зміни у порівнянні з 3 групою*

Відразу після народження в ПАЛМ тварин експериментальної групи частіше зустрічаються макрофаги, тільця Флемінга та клітини з фігурами мітозу. Це може бути пов'язане з прискоренням масового виходу недозрілих лімфоцитів з тимусу та їх впливом на формування мікрооточення і стромальних елементів в периферійних лімфоїдних та паренхіматозних органах [1,5]. Надалі, площа білої пульпи у щурів після внутрішньочеревного введення вакцини паротиту збільшується швидше, ніж у інтактних тварин, за рахунок випереджаючого зростання ПАЛМ та маргінальної зони. З 14-ї до 30-ї доби відносна площа лімфоїдних вузликів у тварин даної групи нижча за контроль. Абсолютна площа Т-залежних зон досягає максимуму на 7-ій добі, зменшується на 14-й день, значно зростає наприкінці першого місяця життя та є найбільшою серед усіх груп тварин.

З 7-ї до 14-ї доби відмічається збільшення вмісту великих лімфоцитів та зниження кількості лімфоцитів малого діаметру в ПАЛМ тварин після внутрішньочеревного введення вакцини паротиту. На 30-й добі у клітинній популяції Т-зон селезінки цих тварин стає більше лімфоцитів малого діаметру та менше середніх і великих лімфоцитів, порівняно з контролем.

Висновки. 1. Динаміка співвідношення білої та червоної пульпи селезінки в ранньому післянатальному періоді онтогенезу характеризується прогресивним зростанням площі білої пульпи до 30-ї доби життя. Формування білої пульпи має стадійний характер. На першій стадії – від моменту народження до п'ятої доби – йде становлення внутрішньої зони ПАЛМ та стінки центральної артерії; на протязі другої стадії –

до 14-ї доби формується зовнішня зона ПАЛМ та маргінальна зона, розпочинається утворення лімфоїдних вузликів; третя стадія – з 14-ї доби до 30-ї доби – характеризується завершенням формування лімфоїдних вузликів. Внутрішньочеревний вплив антигенів призводить до збільшення площі білої пульпи після народження та прискорення формування ПАЛМ.

2. Площа та кількість ПАЛМ у інтактних та контрольних щурів збільшується з першої до сьомої доби життя, з наступним зменшенням її абсолютної площі на 14-ий день та стабілізацію розмірів до 30-ї доби. Кількість ПАЛМ малого діаметру хвилеподібно змінюється, обернено пропорційним площі Т-зон та залежить від природи антигену, введеного у внутрішньочеревному періоді. Вміст муфт великих розмірів є прямо пропорційним площі ПАЛМ, і вони виявляються раніше в експерименті.

3. У клітинній популяції ПАЛМ інтактних тварин першого тижня життя, переважно зустрічаються лімфоцити середнього діаметру, кількість яких знижується до 14-ї доби. Внутрішньочеревне введення антигенів призводить до збільшення вмісту малих та середніх лімфоцитів і зниження кількості лімфоцитів великого діаметру у ПАЛМ новонароджених. Протягом першого місяця життя у інтактних та експериментальних тварин динаміка кількості муфт з малим діаметром співпадає зі змінами сумарного вмісту середніх та великих лімфоцитів, а великих ПАЛМ – з динамікою малих та середніх лімфоцитів.

Література

1. Волошин Н.А. Лимфоцит – фактор морфогенеза / Н.А. Волошин // Запорожский медицинский журнал.-2005.-№5.-С. 123.
2. Волошин Н.А. Внутриутробная антигенная стимуляция как модель для изучения морфогенеза органов / Н.А. Волошин, Е.А. Григорьева, О.Г. Куц, М.С. Щербаков, М.Б. Вовченко, А.А. Светлицкий, С.В. Чугин // Морфологические ведомости.-2006.-№1-2.-С.57-59.
3. Матвейшина Т.М. Особливості морфогенезу внутрішніх органів щура після внутрішньоутробного впливу інактивованої антивірусної вакцини / Т.М. Матвейшина, О.С.Таланова, Н.В.Грінівецька // Укр. морфологічний альманах. – 2011. – Т.9, №3. – С.180-182.
4. Сапин М.Р. Цитоархитектоника белой пульпы селезенки у людей различного возраста / М.Р. Сапин, Е.Ф. Амбарцумян // Архив АГЭ.-1990.-т.98.-вып.12.-С.5-13.
5. Чугин С.В. Влияние внутриутробного введения антигена на формирование лимфоидной ткани паренхиматозных органов крыс в раннем постнатальном периоде / Чугин С.В., Щербаков М.С., Вовченко М.Б.// Український морфологічний альманах. – 2010. – Т.8. – №2. – С.225-227.
6. Gomariz R.P. Postnatal development of the splenic white pulp in the Golden Hamster *Mesocricetus Auratus*. The Periarterial Lymphoid Sheathe (PALS) / R.P. Gomariz, L. De Cardenas, A. Zapata // Tissue and Cell.-1989.-Vol.21.-N3.-P.403-417.
7. Miller J.F. The discovery of immunological function of the thymus // Immunology Today. – 1991. – Vol.12. – N1. – P.42-44.

Ключові слова: селезінка, біла пульпа, періартеріальна лімфоїдні муфта, морфогенез, внутрішньочеревне введення антигенів.

Ключевые слова: селезёнка, белая пульпа, периаартериальная лимфоидная муфта, морфогенез, внутриутробное введение антигенов.

Key words: spleen, white pulp, periaarterial lymphoid sheathes, morphogenesis, intrauterine antigens injection.

Резюме. У роботі вивчені особливості морфогенезу морфофункціональних зон білої пульпи селезінки білих щурів у різні терміни після народження в нормі та після внутрішньочеревного введення антигенів. Встановлено, що процес формування зон білої пульпи має стадійний характер; внутрішньочеревне введення антигенів різної природи призводить до змін в темпах становлення морфофункціональних зон білої пульпи та динаміці їх клітинної популяції. Незалежно від типу антигену після народження спостерігається прискорення формування внутрішньої зони періартеріальних лімфоїдних муфт та стінки центральної артерії.

Резюме. В работе исследованы особенности строения морфофункциональных зон белой пульпы селезёнки белых крыс в разные сроки после рождения в норме и после внутриутробной антигенной стимуляции. Установлено, что процесс становления морфофункциональных зон белой пульпы носит стадийный характер. Внутриутробное введение антигенов вызывает изменения в темпах формирования таких зон и динамике их клеточной популяции. Независимо от вида внутриутробно введенного антигена, после рождения

наблюдается ускорение формирования внутренней зоны периартериальных лимфоидных муфт и стенки центральной артерии.

Resume. This research was made, using 168 rats of Wistar line in the age from 0 to 30 days. For the investigation were applied morphological, morphometrical, histological methods. This work describes peculiarities of rat's splenic white pulp, morphofunctional zones structure attached to different terms after the birth normally and after intrauterine injection of human immunoglobulin and alive paroties vaccine. It's established that intrauterine injection of antigens with different nature leads to the megalosplenia development. It's noted that formation process of morphofunctional zones of white pulp has a stagical character. It had been shown that after the birth acceleration of inner periarterial lymphoid sheathes and central artery wall formation is occurred independently of intrauterine injected antigen type. The dynamics of the growth of the white pulp divisions depends on the prenatal antigen stimulation: it changes the terms of the development of morphofunctional zones of the splin, varies relationship between microenvironment and different groups of lymphocytes. Prenatal antigen stimulation leads to increase of the contents of middle and small lymphocytes and decrease of amount of large lymphocytes in the newborn PALS. The development of morphofunctional zones of the splin has the same dynamics up to the 5-th day of rat's life independently of the antigen's type. The changes of content of the lymphocytes in the morphofunctional zones were determined after 7-th day of the experimental animals' life.

Опубліковано:

Апт О. А. Особливості формування Т-залежних зон селезінки після внутрішньоутробної дії антигенів / О. А. Апт // Світ медицини та біології. - 2014. - № 4(47). - С. 80-83.