

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС ПЕРИОДА ПРЕДСТАРЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ КСЕНОГЕННОЙ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ

Макалиш Т.П.

Медицинская академия имени С.И. Георгиевского Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского, г. Симферополь, Россия, e-mail: makalisht@mail.ru

MORPHOMETRIC FEATURES OF THE SPLEEN OF RATS DURING THE PERIOD OF PRESENILE CHANGES UNDER THE INFLUENCE OF XENOGENEIC CEREBROSPINAL FLUID

Makalish TP

SI Georgievsky Medical Academy of the VI Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia, e-mail: makalisht@mail.ru

Для цитирования:

Макалиш Т.П. Морфометрические особенности селезёнки крыс периода предстарческих изменений под действием ксеногенной цереброспинальной жидкости// Морфологические ведомости.- 2017.- Том 25.- № 3.- С. 46-48. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.17\(25\).03.46-48](https://doi.org/10.20340/mv-mn.17(25).03.46-48)

For the citation:

Makalish TP. Morphometric features of the spleen of rats during the period of presenile changes under the influence of xenogeneic cerebrospinal fluid. *Morfologicheskie Vedomosti – Morphological Newsletter*. 2017 Sep 30;25(3):46-48. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.17\(25\).03.46-48](https://doi.org/10.20340/mv-mn.17(25).03.46-48)

Резюме: В работе описаны структурные особенности белой пульпы селезенки крыс периода предстарческих изменений в норме и после введения им ксеногенной цереброспинальной жидкости. Физраствор или ликвор вводили внутримышечно трехкратно и десятикратно на каждые третьи сутки в дозировке 2 мл/кг живого веса. В период выраженных предстарческих изменений у животных наблюдается ослабление иммунной защиты организма, что подтверждается уменьшением доли белой пульпы селезенки, уменьшением количества лимфоидных узелков, исчезновением в них центров размножения лимфоцитов. Трехкратное введение ликвора крысам этого возраста вызвало некоторое торможение процессов инволюции, проявившееся увеличением количества лимфоидных узелков с центрами размножения, четкими границами зон. Многократное введение ликвора оказало менее выраженное действие на белую пульпу селезенки крыс: сократилось количество активных лимфоидных узелков с центрами размножения, исчезли границы зон узелка.

Ключевые слова: селезенка, белая пульпа, цереброспинальная жидкость

Summary: The article describes the structure features of spleen of presenile period rat in normal and after xenogeneic cerebrospinal fluid administration. The saline or liquor was injected intramuscularly three or ten times each 3 days in a doze 2 ml/kg. In presenile period marked changes the decrease of immune defense are observed. That proved by decline white pulp of the spleen, vanish of the lymph nodes, disappearance of the germinal centers. Three time injections of the cerebrospinal fluid caused some inhibition of degradation processes: more lymph nodes with germinal center of the lymphocytes are appeared; the edge of the zones of lymph nodes was precise. Ten time injection had slight effect on white pulp of the spleen. Significantly reduced the number of active centers of the lymph nodules with breeding zone, border of areas nodules are erased.

Key words: spleen, white pulp, cerebrospinal fluid

Введение. Изучение иммунодепрессивных состояний актуально в медицине в настоящее время. Помимо экзогенных факторов, вызывающих ослабление иммунитета, существуют и естественные причины, такие как старение. В литературе широко описаны изменения в иммунной системе стареющих организмов на органном, клеточном и молекулярном уровнях [1-3]. Естественное угасание иммунитета в возрасте предстарческих изменений требует поиска иммуностропных препаратов, способных поддержать защитные силы организма. До настоящего времени исследовалось влияние различных иммуномодуляторов растительного, бактериального происхождения [4-5]. Среди возможных источников сырья животного происхождения для получения высокоэффективных иммуностропных препаратов можно рассматривать цереброспинальную жидкость, которая является гуморальной средой центральной нервной системы. Оптимальный физико-химический состав ликвора обеспечивает необходимые условия для нормального осуществления всех функций ЦНС [6].

Цель исследования – выяснить структурные особенности белой пульпы селезенки крыс периода предстарческих изменений после введения им ксеногенной цереброспинальной жидкости.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проведен на 24 крысах линии Wistar обоих полов возрастом 18 мес. Все процедуры по уходу осуществляли в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных». Всех животных разделили на 2 равные группы: контрольную и экспериментальную. Экспериментальную группу составили животные, получавшие внутримышечные инъекции ксеногенной цереброспинальной жидкости трех- и десятикратно каждые третьи сутки в дозе 2 мл/кг живого веса. Животным контрольной группы вводили физраствор внутримышечно в той же дозировке и кратности. Таким образом, количество животных в каждой подгруппе равнялось 6. На следующий день после последней инъекции животных декапитировали под эфирным наркозом, после чего селезенку взвешивали, измеряли линейные размеры (длина, ширина, толщина) и фиксировали в 10% растворе формалина. Для гистологических исследований кусочки селезенки, соответствующие воротам органа, проводили через спирты возрастающей концентрации, заливали в парафиновые блоки и изготавливали тонкие срезы толщиной 3–5 мкм с последующим окрашиванием их гематоксилином-эозином. Изучение гистоморфометрических параметров проводили методом сопоставления относительных площадей белой, красной пульпы и соединительнотканых компонентов (капсула, трабекулы), измеряли абсолютные площади лимфоидных узелков и относительные площади их зон (периартериальной, мантийной, маргинальной, герминативного центра). Для этих целей применяли морфометрический комплекс, включающий микроскоп Olympus BX-41 с объективами: Plan 4x ∞/-, Plan 10x x/0,25, цифровой фотоаппарат Olympus C 5050Z, персональный компьютер, с использованием программного обеспечения ImageJ

1,45s. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10.0, используя методы описательной статистики и тест Стьюдента. Достоверными считали отличия при вероятности ошибки $p \leq 0,05$ (далее по тексту отмечено *).

Результаты исследования и обсуждение. У крыс возраста предстарческих изменений органы иммуногенеза подвергаются значительной возрастной инволюции, которая затрагивает все структурные компоненты селезенки. Наблюдалось увеличение относительной площади соединительнотканых элементов за счет трабекул и стенок сосудов (в частности центральных артерий), которая составила $4,76 \pm 0,37\%$ от площади среза. Красная и белая пульпа распределились поровну. Красная пульпа была малокровна, с незначительным преобладанием эритроцитов над лейкоцитами. В 52% лимфоидных узелков (далее - ЛУ) имеются слабо просветленные герминативные центры (далее - ГЦ). Остальные узелки герминативных центров не имеют, однако их размеры достоверно не отличаются от вторичных ЛУ. Некоторые ЛУ имеют нечеткие границы зон, в том числе мантийной (далее - МнЗ) и маргинальной (далее - МгЗ); определить в них можно только центральную артерию и периартериальную зону (далее - ПЗ).

После трехкратного введения ликвора доля соединительнотканых элементов увеличилась до $5,51 \pm 0,45\%$, красная пульпа составила $57,91 \pm 1,92\%$ (больше контрольных значений на 22%), белая пульпа — $36,58 \pm 1,98\%$ (меньше таковой в контрольной группе на 24%). В 54% ЛУ имеют четко выраженные центры размножения. Другие зоны узелков также хорошо определяются. Их относительные площади достоверно увеличились в сравнении с контрольной группой. Исключение составила маргинальная зона (табл. 1), вследствие чего несколько уменьшился размер самих узелков. Так, площадь ЛУ в контрольной группе составила в среднем $198104,0 \pm 11388,85$ мкм². У крыс, получавших ликвор, это значение уменьшилось до $147153,0 \pm 11464,98$ мкм², в связи с чем диаметр узелков также стал меньше на 12,23%. По мере течения эксперимента относительная площадь соединительнотканых элементов увеличивалась ($5,46 \pm 0,40\%$ от общей площади среза органа). Доля красной пульпы также увеличилась, а белой уменьшилась ($63,92 \pm 1,53\%$ и $30,64 \pm 1,55\%$ соответственно).

На тридцатые сутки эксперимента после десятикратного введения ликвора капсула селезенки так же уплотнена, трабекулы и стенки сосудов толстые и составляют $6,01 \pm 0,57\%$ от площади среза. Красная пульпа малокровна, ее относительная площадь уменьшилась на $8,15\%$ ($58,71 \pm 1,78\%$ от площади среза), доля белой пульпы при этом возросла на 15% ($35,29 \pm 1,90\%$ от общей площади). ЛУ крупные, однако, лишь в трети случаев содержат герминативные центры, имеющие очень слабое просветление. Такие ЛУ размерами мало отличаются от ЛУ без просветленных центров. Можно предположить, что в таких узелках не проходят процессы пролиферации и дифференцировки лимфоцитов. Гиперплазия белой пульпы селезенки крыс предстарческого возраста, получавших ликвор десятикратно, отразилась увеличением размеров ЛУ, в основном за счет разрастания маргинальной зоны. При этом наружные границы этой зоны во многих случаях определялись плохо. Значение площади ЛУ в контрольной группе составило $172809,3 \pm 7326,00$ мкм², а после введения ликвора оно выросло до $197215,68 \pm 17114,71$ мкм². Соответственно площади на $2,63\%$ увеличился и диаметр ЛУ. Разрастание маргинальной зоны ЛУ на $31,89\%$ сдвинуло соотношение между относительными площадями различных зон ЛУ. Относительные площади герминативных центров, периартериальной и особенно мантийной зон ЛУ в экспериментальной группе оказались ниже контрольных значений (табл. 2).

В период выраженных предстарческих изменений у животных наблюдается ослабление иммунной защиты организма в силу естественной инволюции органов иммуногенеза. Наблюдаемые нами процессы дегенерации белой и красной пульпы селезенки проявлялись уменьшением доли белой пульпы, уменьшением количества лимфоидных узелков, исчезновением в них центров размножения лимфоцитов и делимфатизацией различных зон ЛУ, в т.ч. маргинальной зоны. Это в полной мере соответствует данным литературы [1, 7]. Трехкратное введение ликвора крысам этого возраста вызвало некоторое торможение процессов возрастной инволюции, проявившееся большим количеством ЛУ с центрами размножения, четкими границами зон, увеличением плотности клеток на $9,52\%$ в лимфоидных узелках и на $6,87\%$ в красной пульпе. Произведенный эффект можно объяснить высоким содержанием в ликворе цитокинов, гормонов (в том числе мелатонина) и факторов роста, которые, по мнению зарубежных авторов, играют важную роль в процессах восстановления

иммунитета у стареющих организмов [2-3]. Многократное введение ликвора не остановило инволютивные процессы в селезенке, однако на их фоне рост относительной площади белой пульпы продолжался. Несмотря на увеличение размеров ЛУ, функциональное состояние белой пульпы несколько ухудшилось: снова наблюдались процессы делимфатизации различных зон ЛУ (уменьшение плотности клеток в лимфоидных узелках на $28,33\%$), границы зон узелка стали трудноразличимыми, значительно сократилось количество активных ЛУ с центрами размножения. В целом реакция лимфоидной ткани селезенки на введение КЦСЖ не противоречит таковой для других органов иммунной системы [8].

Заключение. Таким образом, можно заключить, что трехкратное введение ксеногенной спинномозговой жидкости оказывает временным замедлением процессов возрастной

Таблица 1
Относительные площади зон лимфоидных узелков белой пульпы селезенки крыс возраста предстарческих изменений после трехкратного введения КЦСЖ (%) ($M \pm m$)

	ПЗ	МнЗ	МгЗ	ГЦ
Контроль	$4,5 \pm 0,32$	$33,9 \pm 1,27$	$55,1 \pm 1,41$	$6,4 \pm 0,45$
Эксперимент	$6,2 \pm 0,46^*$	$40,2 \pm 0,93^*$	$45,3 \pm 1,20^*$	$8,4 \pm 0,67^*$

*достоверность отличий оценивалась при помощи t-критерия Стьюдента, $p \leq 0,05$.

Таблица 2
Относительные площади зон лимфоидных узелков белой пульпы селезенки крыс возраста предстарческих изменений после десятикратного введения КЦСЖ (%) ($M \pm m$)

	ПА	МнЗ	МгЗ	ГЦ
Контроль	$6,6 \pm 0,56$	$40,7 \pm 1,47$	$46,1 \pm 1,76$	$6,5 \pm 0,60$
Эксперимент	$5,0 \pm 0,69$	$28,6 \pm 2,79^*$	$60,8 \pm 3,14^*$	$5,6 \pm 0,82$

кратковременный иммуностимулирующий эффект, проявлявшийся

инволюции органа. Десятикратное введение ликвора оказывает менее выраженный эффект и не препятствует инволютивным процессам в белой пульпе селезенки. В дальнейшем нами планируется изучить изменения в структуре селезенки после введения КЦСЖ на субклеточном уровне.

**ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES**

1. Мороз Г.А., Озерова Н.Ю. Структурная организация селезенки интактных крыс-самцов линии Вистар 2-х, 6-ти и 12-ти месячного возраста // Таврический медико-биологический вестник.- 2010.- Т. 13.- № 4(52).- С.111–114.
2. Montecino-Rodriguez E, Berent-Maoz B, Dorshkind K. Causes, consequences, and reversal of immune system aging// *The Journal of Clinical Investigation*. 2013;123(3):958-965.
3. Ponnappan S, Ponnappan U. Aging and Immune Function: Molecular Mechanisms to Interventions// *Antioxidants & Redox Signaling*. 2011;14(8):1551-1585.
4. Деева Т.В., Масловский Ю.В. Тимус, костный мозг и селезенка крыс после действия гистината// *Экспериментальная и клиническая медицина*.- 1998.- № 1.- С.140-142.
5. Лебединская Е.А., Лебединская О.В., Годовалов А.В. и др. Морфологические изменения лимфоидных и паренхиматозных органов мышей на фоне введения иммуномодуляторов бактериального происхождения// *Морфология*.- 2011.- Т. 140.- № 5.- С. 97.
6. Пикалюк В.С., Бессалова В.С., Ткач В.В. и др. Ликвор как гуморальная среда организма.- Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2010.- 192 с.
7. Молдавская А.А., Долин А.В. Морфологические критерии строения селезенки в постнатальном онтогенезе// *Успехи современного естествознания*.– 2009.- № 2.- С. 15-18.
8. Кривенцов М.А. Структурная организация тимуса крыс предстарческого возраста при парентеральном введении спинномозговой жидкости// *Вісник морфології*.- 2013.- Т. 19.- № 2.- С. 244-247.

Авторская справка

Макалиш Татьяна Павловна, очный аспирант, ассистент кафедры нормальной анатомии человека, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Россия; e-mail: makalisht@mail.ru