

СПІВВІДНОШЕННЯ МІЖ ЩІЛЬНІСТЮ ЛІМФОЦИТІВ ТА СУДИН ГЕМОМІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА У ЧАСТОЧКАХ ЗАГРУДНИННОЇ ЗАЛОЗИ У СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ТА СТАТЕВОЗРІЛИХ БІЛИХ ЩУРІВ

А. С. Головацький, Е. С. Добрянська, А. О. Гербут, О. І. Гецько, М. Ю. Кочмарь

Кафедра анатомії людини та гістології (зав. каф. – д. мед. н., проф. А. С. Головацький), ДВНЗ «Ужгородський національний університет», медичний факультет. 88000, м. Ужгород, вул. Кавказька, 39. e-mail: dobrianska2006@rambler.ru

CORRELATION BETWEEN THE DENSITY OF LYMPHOCYTES AND VESSELS OF HEMOMICROCIRCULATORY BED MAINSTREAM IN THYMUS SLICES IN IMMATURE AND ADULT WHITE RATS

A. S. Holovatsky, ES Dobriansky, A. O. Herbut, O. I. Hetsko, M. Yu. Kochmar

SUMMARY

In mature rats in the cortex increases the density of large lymphocytes twice the average density of lymphocytes in the cortex and cortico-medullary zone in half, and in the medulla – twice than the immature, the density of small lymphocytes in the medulla three times larger compared to immature. In cortex slices zahrudnyynnoi glands mature rats three times greater density of arterioles., Density venules – two times greater than immature. In marrow immature rat density venules and a half times less than in the medulla of mature animals. The density of capillaries in the cortex in the immature and mature rats the same as in the marrow of mature rats capillary density twice higher than in immature.

СООТНОШЕНИЕ МЕЖДУ ПЛОТНОСТЬЮ ЛИМФОЦИТОВ И СОСУДОВ ГЕМОМИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА В ДОЛЬКАХ ТИМУСА У НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ И ПОЛОВОЗРЕЛЫХ БЕЛЫХ КРЫС

А. С. Головацький, Е. С. Добрянська, А. О. Гербут, О. І. Гецько, М. Ю. Кочмарь

РЕЗЮМЕ

Исследование проведено на 36 белых крысах-самцах двух возрастных групп: неполовозрелых (18 особей) и половозрелых (18 особей). Цель исследования – установить связь между плотностью лимфоцитов в корковом и мозговом веществе долек тимуса и сосудов гемомикроциркуляторного русла у неполовозрелых и половозрелых крыс. Морфометрически методами исследования установлено, что у половозрелых крыс в корковом веществе долек тимуса увеличивается плотность больших лимфоцитов в два раза, плотность средних лимфоцитов в корковом веществе и в кортико-медуллярной зоне – в полтора раза, а в мозговом веществе – в два раза, чем у неполовозрелых, плотность малых лимфоцитов в мозговом веществе больше в три раза по сравнению с неполовозрелыми. В корковом веществе долек тимуса половозрелых крыс в три раза больше плотность артериол, плотность венул – в два раза больше по сравнению с неполовозрелых. В мозговом веществе неполовозрелых крыс плотность венул в полтора раза меньше, чем в мозговом веществе половозрелых животных. Плотность капилляров в корковом веществе у неполовозрелых и половозрелых крыс одинакова, а в мозговом веществе у половозрелых крыс плотность капилляров вдвое больше, чем у неполовозрелых.

Ключові слова: часточка загруднинної залози, артеріоли, венули., капіляри, лімфоцити.

Останніми роками будова і функції тимуса привертають велику увагу дослідників [1–9, 12–15]. Цей орган, як і червоний кістковий мозок, є первинним імунним органом, від стану і активності якого багато в чому залежить вираженість захисних реакцій всього організму. Видалення загруднинної залози веде до важких порушень імунних функцій [3,7]. Неодноразово описані особливості будови тимусу [1–9,12–15] та його клітин, однак їх комплексна взаємодія всередині органу залишається в багатьох деталях неясною. Також достатньо не вивчено взаєморозташування клітин лімфоїдного ряду: одна з

одною, з макрофагами, з елементами ретикулоепітеліальної строми, з ланками гемомікроциркуляторного русла. До теперішнього часу не з'ясовано, як саме в цьому органі забезпечується формування імунокомпетентних лімфоцитів, що здійснюють імунний нагляд. Саме це і обумовило мету нашого дослідження.

Мета дослідження. Встановити зв'язок між щільністю лімфоцитів у кірковій та мозковій речовині часточок загруднинної залози і судин гемомікроциркуляторного русла у статевонезрілих і статевозрілих білих щурів-самців.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проведено на 36 білих щурах-самцях двох вікових груп: статевонезрілих (18 особин) та статевозрілих (18 особин). Догляд за тваринами та всі маніпуляції проводили у відповідності з положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.), а також «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.). Загруднинну залозу забирали у тварин під ефірним наркозом. Матеріал для гістологічних досліджень фіксували в розчині ФСО (формальдегід – 100 мл, спирт етиловий 96° – 60 мл, льодяна оцтова кислота – 30 мл) і заливали в парафінові блоки. Гістологічні зрізи товщиною 5–7 мкм фарбували гематоксилін-еозином та за способом Маллорі в модифікації Массона. Щільність та діаметр артеріол та венул визначали морфометричним методом Стефанова С. Б. за допомогою сітки № 3/16 [10] під мікроскопом МБИ – 3 (об'єктив х 70, біокулярна насадка х 1,5, окуляри х 15) на площі 625 мкм². Цифрові величини експериментальних даних представлені вибірковими середніми (М) з довірчим інтервалом ($\pm L$) для рівня достовірності $p=95\%$ за Стьюдентом. Для електронномікроскопічного дослідження матеріал фіксували в 2,5% розчині глутаральдегіду на 0,1 М фосфатному буфері з рН 7,2–7,4 з наступною дофіксацією в 2% розчині чотириокису осмію. Після зневоднення в спиртах та ацетоні, матеріал заливали в аралдіт. Зрізи виговляли на ультрамікротомі LKB 8800WI і вивчали на мікроскопі ЕОМ – 100 АК з прискорюючою напругою 75 кВ.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У статевонезрілих і статевозрілих білих щурів-самців стінка артеріол (рис. 1, 2) загруднинної залози складається з трьох оболонок: внутрішньої, середньої та зовнішньої. Внутрішня оболонка

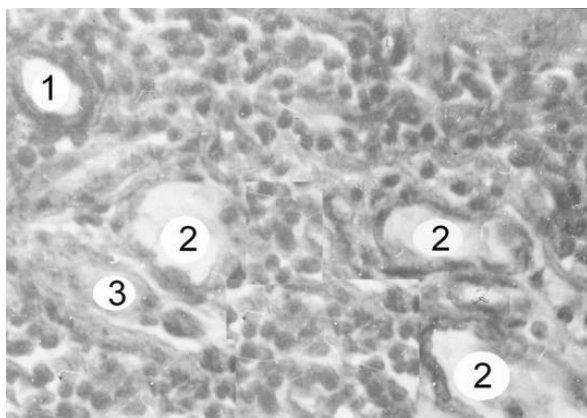


Рис. 1 Фрагмент часточки кіркової речовини загруднинної залози статевозрілого білого щура. 1– артеріола, 2 — венула, 3 — капіляр. Забарвлення гематоксилін-еозином 36. Ок. х 15, об.х 70

артеріол представлена одним безперервним шаром ендотеліоцитів, що розміщені на базальній мембрані, яка представлена дрібнозернистою речовиною середньої електронної щільності. Ззовні від базальної мембрани розташований один коловий шар гладких м'якотців, які на поперечному зрізі артеріоли охоплюють її просвіт у вигляді кільця. Адвентиційна оболонка охоплює артеріолу ззовні. Вона представлена елементами пухкої волокнистої сполучної тканини, що заповнюють периваскулярний простір навколо артеріол. Суттєвих структурних відмінностей в артеріолах тварин обох вікових груп не відмічено.

Щодо щільності артеріол, то у статевонезрілих щурів щільність артеріол на площі 625 мкм² у кірковій речовині тимусу втричі менша, ніж у статевозрілих тварин і становить відповідно $0,04 \pm 0,01$ і $0,13 \pm 0,02$ (табл. 1). У мозковій речовині статевонезрілих щурів артеріол вдвічі менше, ніж у статевозрілих і становить відповідно $0,88 \pm 0,01$ і $0,19 \pm 0,01$. Діаметр артеріол кіркової і мозкової речовини статевонезрілих і статевозрілих щурів майже не відрізняється і становить відповідно: $10,62 \pm 1,69$ мкм і $12,68 \pm 1,84$ мкм та $15,86 \pm 2,81$ мкм і $14,38 \pm 2,17$ мкм (табл. 2).

На субмікроскопічному рівні будова венул не відрізняється в обох вікових групах (рис. 3). Їхня стінка складається з двох характерних шарів: суцільний ендотеліальний шар, який з'єднаний з базальною мембраною і ззовні вкритий адвентиційною оболонкою. Щільність венул (табл. 1) у кірковій речовині статевонезрілих щурів в два рази менша ($0,13 \pm 0,02$), ніж у кірковій речовині статевозрілих ($0,21 \pm 0,02$). У мозковій речовині статевонезрілих щурів щільність венул в півтора рази менша ($0,24 \pm 0,03$), ніж у мозковій речовині статевозрілих тварин ($0,38 \pm 0,02$). Діаметр венул кіркової речовини статевонезрілих і статевозрілих щурів (табл. 2) є майже однаковим і становить відповідно: $18,09 \pm 1,43$ мкм і $19,70 \pm 1,43$ мкм. Діаметр венул у мозковій речовині статевонезрілих щурів на 5 мкм менший діаметру

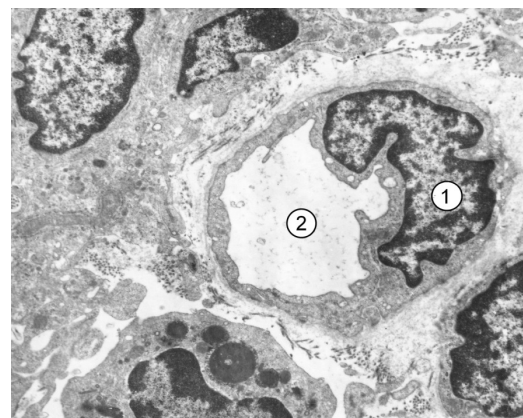


Рис. 2. Артеріола в кірковій речовині часточки загруднинної залози статевонезрілого білого щура. 1 — ядро ендотеліальної клітини; 2 — просвіт артеріоли. Електронна фотографія. 36. х 7000

Таблиця 1

Щільність судин мікроциркуляторного русла часточок загруднинної залози статевонезрілих та статевозрілих білих щурів

Зони часточки загруднинної залози	Щільність судин на площі 625 мкм ² , X±L		
	артеріоли	венули	капіляри
Кіркова речовина статевонезрілих щурів	0,04± 0,01	0,13±0,02	0,50±0,03
Мозкова речовина статевонезрілих щурів	0,88±0,017	0,24±0,03	0,18±0,01
Кіркова речовина статевозрілих щурів	0,13± 0,02	0,21±0,02	0,50±0,03
Мозкова речовина статевозрілих щурів	0,19±0,01	0,38±0,02	0,33±0,02

венул у мозковій речовині статевозрілих щурів (19,84±1,50 мкм і 25,74±1,25 мкм)

При електронномікроскопічному дослідженні встановлено, що капіляри статевозрілих і статевонезрілих щурів за будовою не відрізняються і представлені ендотеліальними клітинами, розташованими на базальній мембрані та перицитами (рис. 4). Щільність капілярів (табл. 1) у кірковій речовині у статевонезрілих і статевозрілих щурів однакова (0,50±0,03 і 0,50±0,03), а у мозковій речовині у статевозрілих щурів щільність капілярів вдвічі більша ніж у статевонезрілих і становить відповідно: 0,33±0,02 і 0,18±0,01. Діаметр капілярів у статевонезрілих та статевозрілих щурів у кірковій речовині майже однаковий і коливається від 6,54±0,25 до 7,03±0,28 мкм (табл. 2).

Нами встановлено, що в часточці тимуса зменшується щільність лімфоцитів у напрямкові від кіркової речовини до мозкової (табл. 3). Особливо чітко це спостерігається у статевозрілих тварин, де зменшення проходить особливо різко великих лімфоцитів: від 2,18±0,40 у субкапсулярній зоні кіркової речовини до 1,90±0,29 у власне кірковій речовині і до 0,80±0,40 у кортико-медулярній зоні, в мозковій речовині їх щільність зменшується аж до 0,55±0,40; зменшення середніх лімфоцитів (таб. 3) менш виражене – від 3,65±0,52 у субкапсулярній зоні до 3,38±0,52 у мозковій речовині; щільність малих

лімфоцитів також має тенденцію до зменшення від 8,15±0,92 у субкапсулярній зоні до 7,60±0,75 у мозковій, але у кірковій речовині спостерігається їх збільшення до 9,25±0,96.

Отже, щільність середніх та малих лімфоцитів у статевозрілих щурів суттєво не відрізняється в кірковій та мозковій речовині (табл. 3).

У часточках загруднинної залози статевонезрілих білих щурів щільність великих лімфоцитів також значно зменшується (табл. 3): від 1,48±0,31 у субкапсулярній зоні до 1,30±0,23 у кірковій речовині і до 0,48±0,31 у кортико-медулярній зоні, а в мозковій речовині зменшення є найбільш значним 0,10±0,03; щільність середніх лімфоцитів зменшується від субкапсулярної зони (2,65±0,46) до 2,15±0,38 у кортико-медулярній зоні і до 1,55±0,46 у мозковій зоні, у кірковій речовині спостерігається незначне збільшення щільності середніх лімфоцитів до 2,78±0,46; щільність малих лімфоцитів від субкапсулярної зони до мозкової речовини зменшується від 10,03±1,08 до 2,88±0,46, але в кірковій речовині спостерігається збільшення до 11,75±1,09.

Щільність великих лімфоцитів у кірковій речовині часточки тимуса статевозрілих білих щурів вдвічі більша і становить відповідно 2,18±0,40 і 1,48±0,31 у субкапсулярній зоні часточки загруднинної залози (табл. 3) та 1,90±0,29 і 1,30±0,23 – у власне кірковій речовині. Також вдвічі більше великих

Таблиця 2

Діаметр судин гемомікроциркуляторного русла часточки загруднинної залози статевонезрілих та статевозрілих білих щурів

Зони часточки загруднинної залози	Діаметр судин, мкм X±L		
	артеріоли	венули	капіляри
Кіркова речовина статевонезрілих щурів	10,62± 1,69	18,09±1,43	6,80±0,60
Мозкова речовина статевонезрілих щурів	15,86±2,81	19,84±1,50	7,03±0,28
Кіркова речовина статевозрілих щурів	12,68± 1,84	19,70±1,43	6,54±0,25
Мозкова речовина статевозрілих щурів	14,38±2,17	25,74±1,25	6,83±0,59



Рис. 3. Венула в кірковій речовині часточки загруднинної залози статевонезрілого білого щура. 1 — просвіт венули; 2 — ядро ендотеліальної клітини; 3 — ядро адвентиційної клітини. Електронна фотографія. 36.х 7000

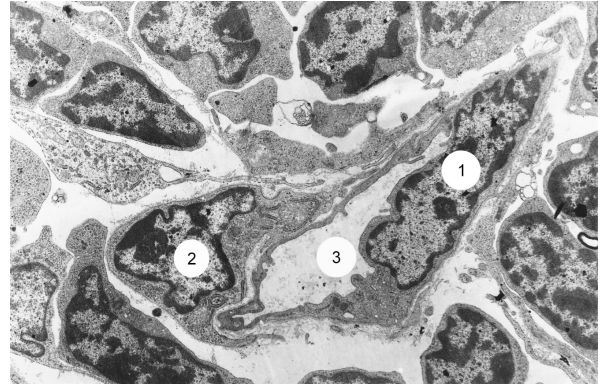


Рис. 4. Капіляр у кірковій речовині часточки загруднинної залози статевозрілого білого щура. 1 — ядро ендотеліоцита, 2 — ядро перицита, 3 — просвіт кровоносного капіляру. Електронна фотографія. 36. х 7000

лімфоцитів у статевозрілих щурів на межі кіркової і мозкової речовини ($0,80 \pm 0,40$ і $0,48 \pm 0,31$), а в самій мозковій речовині у статевозрілих щурів їх щільність більша в п'ять разів ($0,55 \pm 0,46$ і $0,10 \pm 0,03$), порівняно з статевонезрілими.

Щільність середніх лімфоцитів (табл. 3) у статевозрілих щурів у субкапсулярній зоні, у кірковій речовині та в кортико-медулярній зоні в півтора рази більша, ніж у статевонезрілих ($3,65 \pm 0,52$ і $2,65 \pm 0,46$; $3,48 \pm 0,52$ і $2,78 \pm 0,46$; $3,33 \pm 0,46$ і $2,15 \pm 0,38$), а у мозковій речовині – у два рази ($1,55 \pm 0,46$ і $3,38 \pm 0,52$). Щільність малих лімфоцитів у статевозрілих щурів у субкапсулярній та кірковій речовині дещо менша ніж у статевонезрілих тварин ($8,15 \pm 0,92$ і $10,03 \pm 1,08$ та $9,25 \pm 0,96$ і $11,75 \pm 1,09$), на межі кіркової і мозкової речовини відбувається збільшення малих лімфоцитів у статевозрілих щурів ($8,60 \pm 0,92$ і $6,45 \pm 0,84$), а в мозковій речовині статевозрілих щурів

іде різке переважання малих лімфоцитів у три рази ($7,60 \pm 0,75$ і $2,88 \pm 0,46$), порівняно з статевонезрілими.

Збільшення щільності лімфоцитів на судин гоміоциркуляторного русла у статевозрілих щурів, можливо, пов'язане із більшим функціональним навантаженням, яке виконує загруднинна залоза у період статевої зрілості [3,7].

ВИСНОВКИ

У статевозрілих щурів у кірковій речовині часточок загруднинної залози, у порівнянні з статевонезрілими, збільшується щільність великих лімфоцитів у два рази, щільність середніх лімфоцитів у кірковій речовині та в кортико-медулярній зоні – у півтора рази, а у мозковій речовині – у два рази. Щільність малих лімфоцитів у мозковій речовині часточок тимусу більша в три рази у статевозрілих щурів, порівня-

Таблиця 3

Щільність великих, середніх та малих лімфоцитів у зонах часточки загруднинної залози статевозрілих та статевонезрілих білих щурів на площі 625 мкм², $\bar{X} \pm L$ (min-max)

Зони часточки загруднинної залози	Статевонезрілі щурі			Статевозрілі щурі		
	Щільність лімфоцитів			Щільність лімфоцитів		
	Тип лімфоцитів			Тип лімфоцитів		
	великі	середні	малі	великі	середні	малі
Субкапсулярна зона кіркової речовини	$1,48 \pm 0,31$	$2,65 \pm 0,46$	$10,03 \pm 1,08$	$2,18 \pm 0,4$	$3,65 \pm 0,52$	$8,15 \pm 0,92$
Кіркова речовини	$1,30 \pm 0,23$	$2,78 \pm 0,46$	$11,75 \pm 1,09$	$1,90 \pm 0,29$	$3,48 \pm 0,52$	$9,25 \pm 0,96$
Кортико-медулярна зона	$0,48 \pm 0,31$	$2,15 \pm 0,38$	$6,45 \pm 0,84$	$0,80 \pm 0,4$	$3,33 \pm 0,46$	$8,60 \pm 0,92$
Мозкова речовина	$0,10 \pm 0,03$	$1,55 \pm 0,46$	$2,88 \pm 0,46$	$0,55 \pm 0,46$	$3,38 \pm 0,52$	$7,60 \pm 0,75$

но з статевонезрілими. У кірковій речовині часточок загруднинної залози статевозрілих щурів у три рази більша щільність артеріол, щільність венул – у два рази більша, порівняно з статевонезрілими. У мозковій речовині часточок тимусу статевонезрілих щурів щільність венул в півтора рази менша, ніж у мозковій речовині часточок загруднинної залози статевозрілих тварин. Щільність капілярів у кірковій речовині часточок тимусу у статевонезрілих і статевозрілих щурів однакова, а у мозковій речовині у статевозрілих щурів щільність капілярів вдвічі більша, ніж у статевонезрілих.

Робота є фрагментом планової наукової роботи кафедри анатомії людини та гістології медичного факультету Ужгородського національного університету «Дослідження особливостей морфофункціональних параметрів, розвитку лімфоїдних і внутрішніх органів, судинного і лімфатичного русел у нормі, патології та при впливові на організм факторів довкілля» і виконується в рамках наукової проблеми під номером державної реєстрації 0101U004547.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абрамов А. В. Характеристика процессов дифференцировки лимфоцитов в вилочковой железе у крыс (светооптическое и иммуноцитохимическое исследование)/А. В. Абрамов, Ю. М. Колесник, В. А. Любомирская//Запорожский медицинский журнал.-2002.- № 4.- С. 10–13.
2. Бодиенкова Г. М. Роль иммунологических нарушений, сформировавшихся в результате экстремальной экологической ситуации, в развитии патологии нервной системы/Г. М. Бодиенкова, В. С. Рукавишников, Т. И. Иванская//Гигиена и санитария.- 2003.- № 6.- С. 66–69.
3. Волошин М. А. Основи імунології та імуноморфології/М. А. Волошин,
4. Ю. Б. Чайковський, О. Г. Куш.- Запоріжжя – Київ, 2010.- 170 с.
5. Дмитруха Н. М. До проблеми імуноотоксичності свинцю і кадмію/Н. М. Дмитруха//Современные проблемы токсикологии.- 2009.- № 1.- С. 4–9.
6. Ігрунова К. М. Коливання фагоцитарної активності лейкоцитів крові у хворих на гіпертонічну хворобу та інтактних або імунізованих щурів і її зміни у тварин під впливом іммобілізаційного стресу/К. М. Ігрунова, О. Ф. Мельников, С. В. Тимченко//Збірник наукових праць співробітників КМАПО ім. П. Л. Шупика.- 2004.-Вип. 13.- С. 143–149.
7. Колесник Ю. М. Пошук шляхів корекції дисфункції тимуса у щурів з експериментальним цукровим діабетом/Ю. М. Колесник, О. М. Камишний, А. В. Абрамов//Фізіол. журн.- 2008.- № 3.- С. 28–35.
8. Мельник Н. О. Реактивні зміни органів імунної системи під впливом патологічних факторів/Н. О. Мельник, І. В. Чекмарьова, Ю. Б. Чайковський//Клінічна анатомія та оперативна хірургія.- 2004.- Т. 3, № 3.- С. 5–8.
9. Паранько Н. М. Тяжелые металлы внешней среды и их влияние на иммунный статус населения/Н. М. Паранько, Э. Н. Белицкая, Н. Г. Карнаух.- Днепропетровск, 2002.- 144 с.
10. Сапин М. Р. Иммунная система человека/М. Р. Сапин, Л. Е. Этинген.- М.: Медицина, 1996.- 304 с.
11. Стефанов С. Б. Сравнение морфометрических результатов по отношениям кумулят/С. Б. Стефанов//Архив анатомии.- 1982.- Т. 82, № 3.- С. 91–94.
12. Чекмарьова І. В. Морфометричне дослідження тимуса за умов травматичного uszkodження периферійного нерва та дії імунодепресанту/І. В. Чекмарьова, Ю. Б. Чайковський//Патологія.- 2004.- Т. 1, № 1.- С. 29–31.
13. Abedi-Valugerdi M. Bacterial lipopolysaccharide both renders resistant mice susceptible to mercury-induced autoimmunity and exacerbates such autoimmunity in susceptible mice/M. Abedi-Valugerdi, C. Nilsson, A. Zargari//Clin. Exp. Immunol.- 2005.- Vol. 141.- P. 238–247.
14. Carvalho M. C. Behavioral, morphological and biochemical changes after in ovo exposure to methylmercury in chicks/M. C. Carvalho, E. M. Nazari//Toxicol.- 2008.- Vol. 106.- P. 180–185.
15. Gardner R. M. Mercury exposure, serum antinuclear/antinucleolar antibodies, and serum cytokine levels in mining populations in Amazonian Brazil/R. M. Gardner, J. F. Nyland, S. L. Evans//Environ. Res.- 2010.- Vol. 110.- P. 345–354.
16. Pollard K. M. Immunology and genetics of induced systemic autoimmunity/K. M. Pollard//Autoimmun. Rev.- 2005.- Vol. 4.- P. 282–288.