

УДК 611.41:612.824.1+616-092.4

Abstract

Pikalyuk V.S.* , Makalish T.P.
*Crimea State Medical University named after
S. I. Georgievskiy,
27a, R. Lyuksemburg st.,
Simferopol, 95000, Ukraine*

MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE WHITE PULP OF THE SPLEEN OF NEWBORN RATS AFTER INJECTIONS OF XENOGENIC CEREBROSPINAL FLUID

The spleen is the largest organ of the peripheral immune system in the human body that makes the significant contribution to the immune response, the quantitative and qualitative composition of the immune cells of blood, lymph and other lymphoid organs [3-5]. The influence of various chemical and biological substances on spleen was investigated [2]. Of particular interest among them is xenogenic cerebrospinal fluid (XCSF). The influence of XCSF on the morpho-functional features of ovaries, adrenal glands, bone marrow, mesenteric lymph nodes [1] were revealed, but the structural changes of the spleen after injections of XCSF was not studied. In the early postnatal period there is a rapid development of the lymphoid organs, including spleen, and therefore the response to various factors is expressed. Therefore, the aim of our work was to investigate the histomorphological features of neonatal rat spleen after three and ten times injection of xenogenic cerebrospinal fluid.

The experiment was conducted on Wistar rats of both sexes weighing 10 to 45 g, depending on the time of sampling of the material. All exposures were carried out in accordance with "The international guidelines for biomedical research using laboratory animals." All animals were divided into 2 groups: control and experimental. Each group had two subgroups of six animals, the first of which was administered parenterally saline or XCSF three times, the second one 10 times exposure, every third day, in a dose of 2 ml/kg of body weight. For histological examinations thin slices 3-5 mm thick were made, followed by staining with hematoxylin-eosin.

Based on the data the conclusion was made that triple parenteral administration of XCSF for newborn rats promoted more rapid development of the white pulp of the spleen. Its relative area increased by 60%. By the thirtieth day of life the majority of nodules of white pulp of the spleen already had separate zones. There were secondary nodules containing lymphocytes productive centers. Repeated administration of XCSF for newborn rats caused an increase in the relative area of the white pulp by 18%, while the average square of lymph nodules increased by 44.89% compared to the control group.

Key words: xenogenic cerebrospinal fluid, spleen, white pulp, newborn.

Corresponding author: * pikaluk@ukr.net

Резюме**Пикалюк В.С.,
Макалиш Т.П.***Крымский государственный
медицинский университет
им. С. И. Георгиевского,
ул. Р. Люксембург, 27а,
Симферополь, 95000,
Украина***МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БЕЛОЙ ПУЛЬПЫ
СЕЛЕЗЕНКИ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ ПОСЛЕ ВВЕ-
ДЕНИЯ КСЕНОГЕННОЙ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИД-
КОСТИ**

В работе представлены морфометрические особенности белой пульпы (в частности лимфатических узелков) селезенки новорожденных крысят в норме, а так же после трех- и десятикратного введения ксеногенной цереброспинальной жидкости. Доказано, что парэнтеральное введение КЦСЖ новорожденным крысятам способствует более быстрому развитию белой пульпы селезенки и увеличению ее относительной площади.

Ключевые слова: ксеногенная цереброспинальна жидкость, селезенка, белая пульпа, новорожденные.

Резюме**Пикалюк В.С. *,
Макалиш Т.П.***Кримський державний медич-
ний університет ім.
С. І. Георгієвського,
вул. Р. Люксембург, 27а,
Сімферополь, 95000, Україна***МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ БІЛОЇ ПУЛЬПИ СЕЛЕЗІ-
НКИ НОВОНАРОДЖЕНИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ
КСЕНОГЕННОЇ ЦЕРЕБРОСПІНАЛЬНОЇ РІДИНИ**

У статті наведені морфологічні особливості білої пульпи селезі-
нки (а саме лімфатичних вузликів) новонароджених щурів в нормі,
а також після трьох- та десятикратного введення ксеногенної цере-
броспінальної рідини. Доведено, що парентеральне введення КЦСР
новонародженим щурам сприяє ільш швидкому розвитку білої
пульпи селезінки та збільшенню її відносної площі.

Ключові слова: ксеногенна цереброспінальна рідина, селезінка,
біла пульпа, новонароджені.

Автор, ответственный за корреспонденцию: * pikaluk@ukr.net

Селезенка является крупнейшим периферическим органом иммунной системы в организме человека, вносящим значительный вклад в формирование иммунного ответа, количественный и качественный состав иммуноцитов крови, лимфы и других лимфоидных органов [3-5]. Изучено влияние на селезенку различных веществ химической и биологической природы [2]. Особый интерес среди них вызывает ксеногенная цереброспинальная жидкость (КЦСЖ), эффекты которой на морфо-функциональные особенности яичников, надпочечников, костного мозга, брыжеечных лимфатических узлов [1]. Однако структурные изменения селезенки при введении КЦСЖ практически не изучены.

В раннем постнатальном периоде происходит стремительное развитие лимфоидных органов, в т.ч. селезенки, а значит и выраженная реакция на различные факторы. Поэтому целью нашей работы стало выявление гистоморфологических особенностей селезенки новорожденных крысят после трех- и десятикратного введения им ксеногенной цереброспинальной жидкости.

Материалы и методы

Эксперимент проведен на крысах линии Wistar обоих полов и массой от 10 до 45 г в зависимости от сроков забора материала. Все процедуры по уходу осуществляли в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных». Всех животных разделили на 2 группы: контрольную и экспериментальную. В каждой группе было 2 подгруппы из шести животных: первой вводили парэнтерально физраствор или ликвор трехкратно, второй 10-кратно на каждые третьи сутки в дозировке 2 мл/кг живого веса. 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 зоне ворот органа, проводили через спирты возрастающей концентрации, заливали в парафиновые блоки и изготавливали тонкие срезы толщиной 3-5 мкм с после-



дующим окрашиванием их гематоксилином-эозином.

Изучение гистоморфометрических изменений проводили методом сопоставления относительных площадей белой, красной пульпы и стромы, измеряли абсолютные и относительные площади лимфатических узелков и 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, Microsoft Office Excell 2007.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6.0, используя методы описательной статистики и U-тест Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение

Селезенка крыс снаружи покрыта плотной соединительнотканной капсулой, от которой вглубь органа отходят трабекулы, содержащие сосуды. Паренхима селезенки представлена красной и белой пульпой. Красная пульпа полнокровна, содержит форменные элементы кро-

ви, лимфоциты, плазматические клетки. Белая пульпа у новорожденных крысят только начинает формироваться. Наблюдается концентрация малых лимфоцитов вокруг артерий, однако четко различить периартериальные лимфатические влагалища и лимфатические узелки (ЛУ) достаточно сложно. В отдельных случаях в уже сформированных узелках можно различить мантийную и маргинальную зоны. Клеточные элементы и ретикулярные волокна в них расположены концентрически вокруг центральной артерии.

Герминативных центров узелки как правило не имеют.

Относительная площадь красной пульпы селезенки новорожденных крысят, получавших физраствор, составила $76,35 \pm 1,16\%$, белой пульпы — $17,98 \pm 1,06\%$, на долю элементов стромы пришлось $5,80 \pm 0,65\%$ (рис. 1). Среднее значение площади ЛУ у новорожденных крысят составило $21551,21 \pm 2167,89$ мкм², их диаметр $184,78 \pm 9,88$ мкм. В 36,51 % случаев в узелках можно различить маргинальную и мантийную зоны. Их относительные площади составили $64,53 \pm 2,11\%$ и $35,47 \pm 2,11\%$ соответственно.

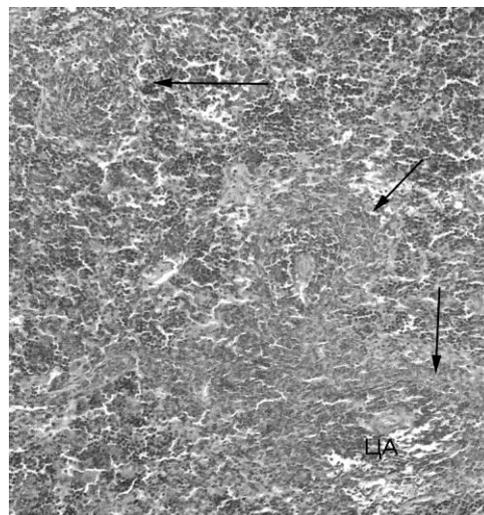


Рис. 1. Белая пульпа селезенки новорожденных крысят после 3-хкратного введения физраствора. Гематоксилин-эозин. Ув. об.х10.

→ — созревающие лимфатические узелки

ЦА — центральная артерия

Гистологические исследования позволили выявить некоторые морфометрические особенности селезенки новорожденных крысят после введения КЦСЖ.

После трехкратного введения ликвора относительные площади несколько изменились: доля красной пульпы уменьшилась на $14,67\%*$ (до

$65,14 \pm 3,17\%$); доля белой пульпы, наоборот, возросла на $60,6\%*$ (до $28,87 \pm 3,60\%$), стромы также стало несколько больше — $5,98 \pm 0,70\%$. Среднее значение площади лимфатических узелков составило $56606,71 \pm 9841,93$ мкм², диаметр узелков при этом $294,17 \pm 25,20$ мкм, что больше контрольных значений на $162,66\%*$ и

59,21%* соответственно, при этом общее количество узелков было меньше (рис. 2). В 47,06 % случаев можно было выделить зоны узелка. Относительная площадь маргинальной зоны рав-

нялась $55,89 \pm 2,96\%$ (меньше контроля на 13,39%), относительная площадь мантийной зоны — $44,11 \pm 2,96\%$ (больше контроля на 24,36%).

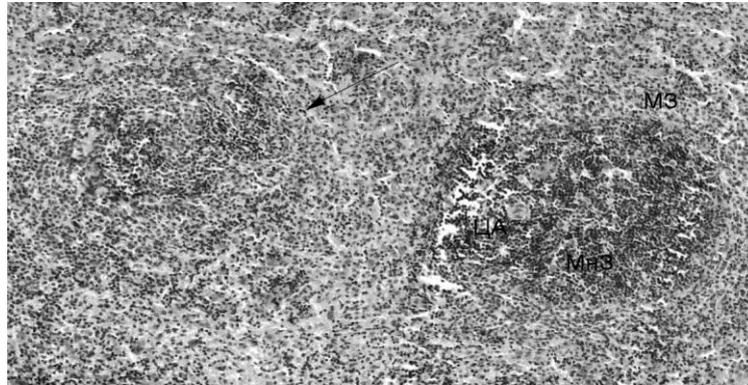


Рис. 2. Белая пульпа селезенки новорожденных крысят после 3-хкратного введения КЦСЖ. Гематоксилин-эозин. Ув. об.х10.

→ — созревающие лимфатические узелки
ЦА — центральная артерия

МнЗ — мантийная зона
МЗ — маргинальная зона

На тридцатые сутки эксперимента, после десятикратного введения физраствора, относительная площадь стромы составила $5,44 \pm 0,55\%$, красной пульпы — $65,38 \pm 2,05\%$, белой пульпы — $29,32 \pm 2,07\%$ (рис. 3). Средняя площадь лимфатических узелков равнялась $61434,17 \pm 5564,59$ мкм², а их диаметр — $313,80 \pm 14,86$ мкм. В 81,97% случаев в узелках можно было различить зоны, а в 10% случаев узелки имели центры размножения. На долю маргинальной зоны первичного лимфатического узелка пришлось в

среднем $65,64 \pm 1,66\%$, мантийной зоны — $31,28 \pm 1,06\%$, периартериальной зоны — $1,62 \pm 0,49\%$. В узелках с герминативными центрами средняя площадь узелка была больше — $122801,80 \pm 26694,23$ мкм², их диаметр — $467,50 \pm 57,14$ мкм; относительные площади зон: мантийная зона — $36,70 \pm 3,47\%$, периартериальная зона — $8,00 \pm 1,20\%$, маргинальная зона — $43,20 \pm 3,79\%$, герминативный центр — $12,10 \pm 1,25\%$.

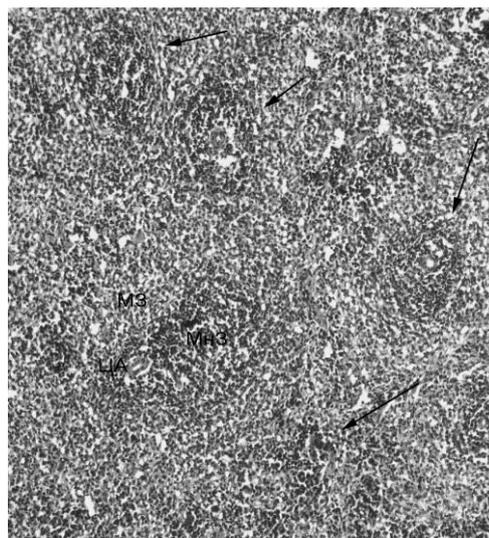


Рис. 3. Белая пульпа селезенки новорожденных крысят после 10-тикратного введения физраствора. Гематоксилин-эозин. Ув. об.х10.

→ — созревающие лимфатические узелки
ЦА — центральная артерия

МнЗ — мантийная зона
МЗ — маргинальная зона



После десятикратного введения КЦСЖ новорожденным крысам относительные площади незначительно изменились и составили: для стромы — $4,57 \pm 0,43\%$ (меньше контрольных значений на $16,02\%$), для красной пульпы — $60,86 \pm 2,27\%$ (меньше по сравнению с контрольной группой на $6,72\%$) и для белой пульпы — $34,57 \pm 2,32\%$ (больше контроля на $17,91\%$). Средняя площадь лимфатических узелков равнялась $102120,20 \pm 9221,67$ мкм², а их диаметр — $406,80 \pm 19,63$ мкм. Эти значения превышают контроль на $44,89\%*$ и $26,18\%*$ соответственно. В $87,04\%$ случаев можно было различить зоны узелка (рис. 4). При этом $22,22\%$ узелков содержали герминативные центры. Средняя площадь таких узелков составила

$184685,01 \pm 22322,40$ мкм² (превышает контроль на $50,39\%$), диаметр — $549,10 \pm 42,63$ мкм (превышает контроль на $17,47\%$); на долю мантийной зоны пришлось в среднем $41,20 \pm 1,40\%$ (больше на $12,33\%$), периартериальной зоны — $6,80 \pm 0,56\%$ (меньше на $15,48\%$), маргинальной зоны — $45,40 \pm 1,61\%$ (больше на $5,09\%$), герминативного центра — $6,60 \pm 0,78\%$ (меньше на $45,33\%*$). Относительная площадь мантийной зоны первичных узелков $37,72 \pm 1,84\%$, что больше контрольных значений на $20,58\%*$. Относительная площадь маргинальной зоны составила в среднем $62,28 \pm 1,84\%$, что меньше контроля на $5,12\%$.

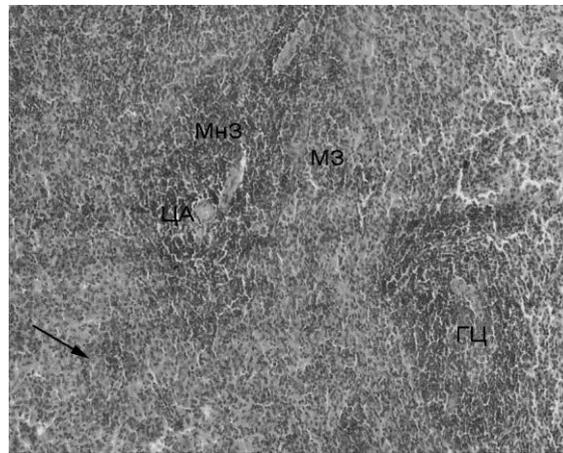


Рис. 4. Белая пульпа селезенки новорожденных крысят после 10-тикратного введения КЦСЖ. Гематоксилин-эозин. Ув. об.х10.

→ — созревающие лимфатические узелки
ЦА — центральная артерия
МнЗ — мантийная зона

МЗ — маргинальная зона
ГЦ — герминативный центр.

Заключение

Исходя из полученных данных, можно заключить, что трехкратное парэнтеральное введение КЦСЖ новорожденным крысам способствует более быстрому развитию белой пульпы селезенки. Ее относительная площадь увеличилась на 60% . К тридцатому дню жизни большинство узелков белой пульпы селезенки уже имеют обособленные зоны. Появляются вторичные узелки, содержащие центры размножения лим-

фоцитов. Многократное введение КЦСЖ новорожденным крысам вызвало увеличение относительной площади белой пульпы на 18% , при этом средняя площадь лимфатических узелков возросла на $44,89\%$ относительно контрольной группы.

Перспективы дальнейших исследований

Планируется изучение морфологических особенностей селезенки крыс других возрастов после введения им КЦСЖ.

References (список литературы)

1. Pikaluk VS, Bessalova EYu, Tkach VV J. et al. *Liquor kak gumoralnaya sreda organizma* [Liquor as humoral environment of the body]. Simferopol: ARIAL, 2010. 192 p.

2. Makalish TP. *Morfofunkcionalnye izmeneniya selezenki pod deystviem faktorov razlichnogo geneza* [Morphofunctional changes of the spleen under the influence of factors of various origin]. TMBV. 2013; V16(1):265-269.

3. Kapitonova MYu, Krayushkin AI, Ryabikina AI, Demidovich IL, Sharaevskaya MV, Nesterova AA. *Vozrastnaya gistofiziologiya beloy pulpy selezenki v rannem postnatalnom ontogeneze* [Age histophysiology of white pulp of the spleen in the early postnatal period]. *Success of modern natural science*. 2008;1:93-94.
4. Kodama R. and al. Age difference in morphology and Immunohistology in the Thymus and spleen in Crl:CD (SD) Rats // *Journal of Toxicological Pathology*. – 2012. – No 25. – P. 55-61. Access mode:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3319772/>
5. Mark F. Cesta. Normal Structure, Function, and Histology of the Spleen // *Toxicol Pathol.* - 2006. - vol. 34 no. 5. – P. 455-465. Access mode:
<http://tpx.sagepub.com/content/34/5/455.long>.

(received 14.11.2014, published online 30.03.2015)

(получено 14.11.2014, опубликовано 30.03.2015)

