

УДК 616.36-002:612.411:599.323.4

©Н. А. Рикало, О. Ю. Гумінська, О. І. Тереховська

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

**ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНОЇ БУДОВИ СЕЛЕЗІНКИ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ НА ТЛІ ХРОНІЧНОГО МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ГЕПАТИТУ**

ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНОЇ БУДОВИ СЕЛЕЗІНКИ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ НА ТЛІ ХРОНІЧНОГО МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ГЕПАТИТУ – У статті представлено дані щодо морфологічних змін у селезінці статевонезрілих щурів при моделюванні рифампіцин-ізоніазидіндукованого гепатиту. Виявлено різнобічні морфологічні відмінності, зокрема зменшення кількості лімфоїдних елементів білої пульпи, оголення ретикулярної стромы маргінальних зон періартеріальних лімфоїдних муфт та лімфоїдних вузликів, появу ретикулярних клітин із явищами гідропічної дистрофії. Дані зміни свідчать про тісний патогенетичний взаємозв'язок медикаментозного гепатиту та змін у периферичних імунних органах, зокрема селезінці.

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ СЕЛЕЗИНКИ НЕПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ГЕПАТИТА – В статье представлены данные морфологических изменений в селезенке неполовозрелых крыс при моделировании рифампицин-изониазидиндуцированного гепатита. Выявлено различные морфологические различия, в частности уменьшение количества лимфоидных элементов белой пульпы, обнажение ретикулярной стромы маргинальных зон периферических лимфоидных муфт и лимфоидных узелков, появление ретикулярных клеток с явлениями гидрорической дистрофии. Данные изменения свидетельствуют о тесной патогенетической взаимосвязи медикаментозного гепатита и изменений в периферических иммунных органах, в частности селезенке.

PECULIARITIES OF MORPHOLOGICAL STRUCTURE OF IMMATURE RATS' SPLEEN ON THE BACKGROUND OF CHRONIC DRUG-INDUCED HEPATITIS – The article presents data on morphological changes in the spleen of immature rats in rifampin-isoniazid-induced hepatitis. We revealed diverse morphological differences, such as reducing number of lymphoid elements in white pulp denudation of reticular stroma in marginal zones of lymphoid nodes, the appearance of reticular cells with phenomena hydropic dystrophy. These changes indicate a close pathogenetic relationship hepatitis and drug-induced changes in peripheral immune organs such as spleen.

**Ключові слова:** селезінка, медикаментозний гепатит, статевонезрілі щури, рифампіцин, ізоніазид.

**Ключевые слова:** селезенка, медикаментозный гепатит, неполовозрелые крысы, рифампицин, изониазид.

**Key words:** spleen, drug-induced hepatitis, immature rats, rifampicin, isoniazid.

**ВСТУП** Селезінка є найбільшим органом периферичної імунної системи, її морфологічний стан залежить від метаболічних порушень в організмі, дії різних патологічних факторів, зокрема токсичних [2, 3].

Встановлення особливостей імунологічної реактивності організму статевонезрілих щурів на тлі хронічного медикаментозного гепатиту (ХМГ), як стану, що супроводжується вторинною імунною недостатністю, є перспективним та актуальним питанням, що потребує ретельного вивчення [4].

Метою роботи було встановлення морфологічних змін у селезінці на тлі хронічного рифампіцин-ізоні-

зиднукованого ураження печінки статевонезрілих щурів.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Експериментальне дослідження щодо відтворення власної запатентованої моделі медикаментозного рифампіцин-ізоніазидіндукованого гепатиту виконано на 40 статевонезрілих нелінійних білих щурах віком 1 місяць з початковою масою 50–55 г [1].

Усі експерименти проводили з дотриманням Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001) та узгоджених із положенням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей.

На 30 день експерименту тварин піддавали евтаназії шляхом цервікальної дислокації під тіопенталовим наркозом, забір та фіксацію морфологічного матеріалу здійснювали за загальноприйнятою методикою. Морфологічну будову тканин селезінки, зафарбовану гематоксиліном та еозином, досліджували за допомогою мікроскопа "Olympus BX 41" шляхом візуального аналізу гістологічних препаратів.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ** Встановлено, що селезінка тварин контрольної та експериментальної груп щільної консистенції, випукла, має характерну форму, темно-червоного кольору. На гістологічних зрізах вирізняється тонка сполучнотканинна капсула та основні компоненти – червона та біла пульпи. Селезінка щурів контрольної групи має ординарну структуру, представлена білою та червоною пульпами (рис. 1).

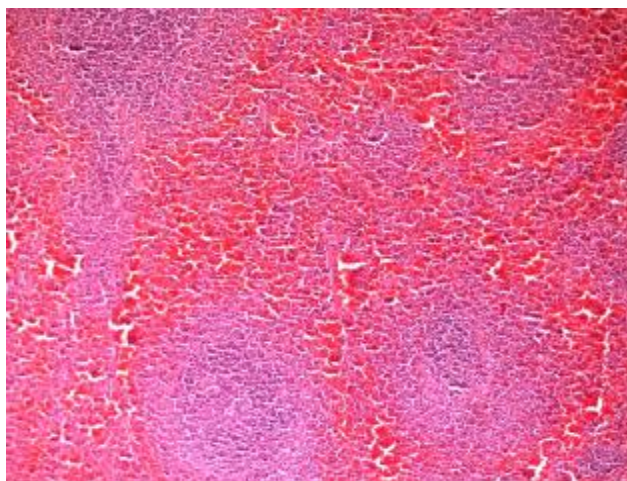


Рис. 1. Селезінка інтактного щура. Гематоксилін та еозин. x 200.

У селезінці щурів експериментальної групи, які отримували рифампіцин та ізоніазид, біла пульпа представлена переважно дрібними лімфоїдними вузликами та періартеріальними лімфоїдними муфтами (рис. 2).

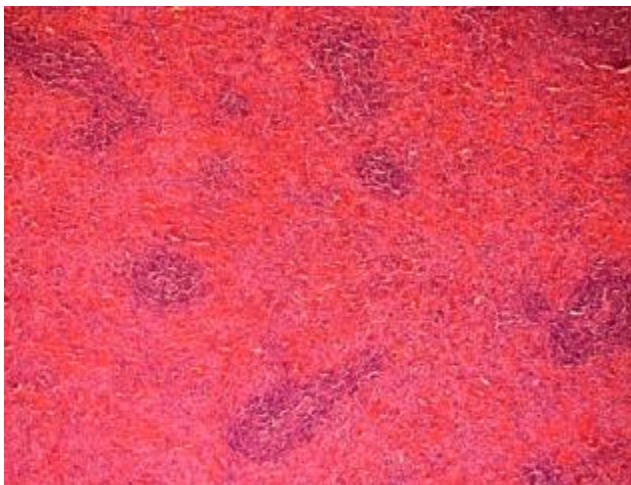


Рис. 2. Селезінка статевонезрілого щура з ХМГ. Біла пульпа представлена переважно дрібними лімфоїдними вузликами та періартеріальними лімфоїдними муфтами. Гематоксилін та еозин. x 200.

Навколо скупчень лімфоцитів у вигляді вузликів чи періартеріальних зон спостерігається скупчення ретикулярних клітин, серед яких розташовуються окремі лімфоцити, дане явище можна розцінити як “оголення” маргінальних зон (рис. 3).

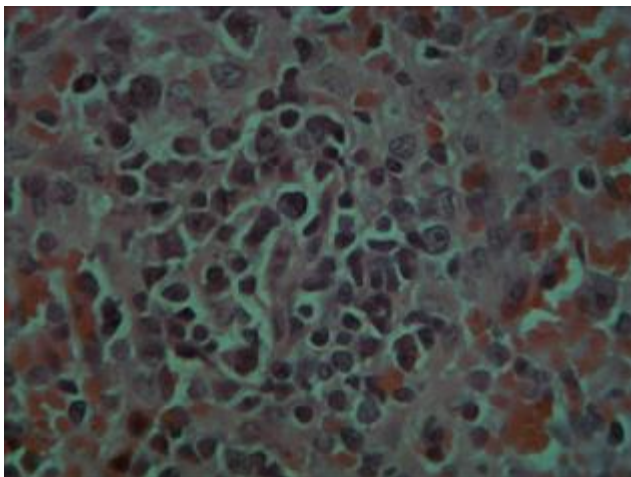


Рис. 3. Селезінка щура з ХМГ. Ретикулярні клітини добре візуалізуються, у їх цитоплазмі визначаються вогнищеві просвітлення, із явищами гідропічної дистрофії. Оголення ретикулярних клітин спостерігається також в окремих ділянках лімфоїдних вузликів та періартеріальних муфт. Гематоксилін та еозин. x 400.

У деяких ділянках лімфоцити розташовані менш щільно, а ретикулярні клітини мають просвітлену, іноді зруйновану цитоплазму. У білій пульпі зростає чисельність макрофагів, особливо у маргінальних зонах на межі червоної та білої пульпи. В окремих лімфоїдних вузликах макрофаги утворюють скупчення (рис. 4), заміщаючи лімфоцити із вузлика.

У маргінальних зонах мало лімфобластів, практично відсутні плазмоцити. Зростає кількість макрофагів у червоній пульпі, спостерігається їх угруповання по 2–3 клітини із цитоплазмою різної щільності. Серед клітин червоної пульпи зустрічаються поодинокі мегакаріоцити різного ступеня зрілості: від малодиференційованих клітин із ядром у вигляді кільця до гіган-

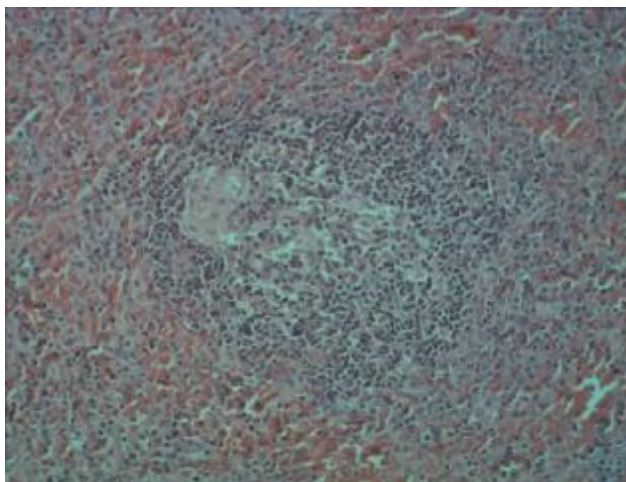


Рис. 4. Селезінка щура з ХМГ. Скупчення макрофагів, витіснення лімфоцитів з вузлика. Гематоксилін та еозин. x 200.

тських із поліплоїдними фрагментованими ядрами.

У селезінці інтактних тварин мегакаріоцити зустрічаються значно частіше та розташовуються групами. У селезінці статевонезрілих щурів, яким з метою моделювання ХМГ вводили рифампіцин та ізоніазид, мегакаріоцити розташовані переважно поодинокі та зустрічаються значно рідше.

**ВИСНОВКИ** При вивченні морфологічних особливостей селезінки статевонезрілих щурів з ХМГ визначається зменшення кількості лімфоїдних елементів білої пульпи, оголення ретикулярної стромы маргінальних зон періартеріальних лімфоїдних муфт (Т-зона) та лімфоїдних вузликів (В-зона) із зростанням чисельності макрофагів у цих зонах. Зменшення кількості плазмоцитів та лімфобластів, зниження кількості мегакаріоцитів. Ретикулярні клітини із явищами гідропічної дистрофії. Подібні морфологічні зміни ми розглядаємо як результат токсичного впливу з пригніченням Т- і В-лімфогенезу.

**Перспективи подальших досліджень** Морфологічні зміни у селезінці статевонезрілих щурів, що виникли на тлі рифампіцин-ізоніазидіндукованого гепатиту, потребують поглибленого вивчення для розробки напрямків патогенетичної корекції.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Пат. 77270 України, МПК (2013) G09B 23/28. Спосіб моделювання токсичного медикаментозного гепатиту у статевонезрілих щурів / Н. А. Рикало, О. Ю. Гумінська; власник Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – № u2012 08154; заявл. 03.07.2012; опубл. 11.02.2013, Бюл. № 3.
2. Симонова Е. Ю. Сравнительная характеристика морфофункционального состояния иммунной системы и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови самцов и самок крыс Вистар / Е. Ю. Симонова // Морфологические ведомости. – 2012. – № 1. – С. 60–65.
3. Стаценко Е. А. Ультраструктура селезенки интактных половозрелых крыс / Е. А. Стаценко // Український медичний альманах. – 2009. – Т. 12, № 6. – С. 180–182.
4. Mebius R. E. Structure and function of the spleen / R. E. Mebius, G. Kraal // Nature Reviews Immunology. – 2005. – P. 606–616.

Отримано 08.05.13

## ПОРІВНЯЛЬНА МОРФОМЕТРИЯ АНГІОАРХІТЕКТОНІКИ СУДИННОЇ ОБОЛОНКИ ОЧНОГО ЯБЛУКА ЩУРА В НОРМІ ТА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ

ПОРІВНЯЛЬНА МОРФОМЕТРИЯ АНГІОАРХІТЕКТОНІКИ СУДИННОЇ ОБОЛОНКИ ОЧНОГО ЯБЛУКА ЩУРА В НОРМІ ТА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ – В роботі наведено результати морфометричного дослідження гемомікроциркуляторного русла судинної оболонки очного яблука білих щурів-самців лінії Вістар в нормі та при стрептозоточиніндукованому цукровому діабеті. Проведено порівняння морфометричних особливостей ланок гемомікроциркуляторного русла судинної оболонки очного яблука щурів у нормі та при цукровому діабеті впродовж 8 тижнів його перебігу. Моделювання експериментального цукрового діабету викликали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозоточину. Розвиток цукрового діабету протягом 56 днів контролювали за зростанням рівня глюкози в крові, яку вимірювали глюкозооксидазним методом. Дослідження проводили на тваринах з рівнем глюкози понад 13,4 ммоль/л на 4 та 8 тижні після початку експерименту. Представлений морфометричний аналіз ангіоархитектоники очного яблука дозволяє оцінити ступінь його васкуляризації в нормі та за умов діабету. Виразно виступає зв'язок між глибиною структурних перетворень гемомікроциркуляторного русла і морфометричними показниками. Зменшення, порівняно з контролем, щільності сітки капілярів та збільшення показника трофічної активності тканини свідчать про розрідження судинної сітки судинної оболонки за умов цукрового діабету.

Вважаємо доцільно використовувати в клінічній офтальмології та ендокринології для створення біологічних моделей органа зору щура.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОМЕТРИЯ АНГІОАРХІТЕКТОНІКИ СОСУДИСТОЇ ОБОЛОЧКИ ГЛАЗНОГО ЯБЛУКА КРЫСЫ В НОРМЕ И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДІАБЕТЕ – В работе представлены результаты морфометрического исследования гемомікроциркуляторного русла сосудистой оболочки глазного яблока белых крыс-самцов линии Вистар в норме и при стрептозоточининдуцированом сахарном диабете. Проведено сравнение морфометрических особенностей звеньев гемомікроциркуляторного русла сосудистой оболочки глазного яблока крысы в норме и при условиях развития сахарного диабета на протяжении 8 недель от начала его развития. Моделирование экспериментального сахарного диабета вызывали одноразовым внутрибрюшинным введением стрептозоточина. Развитие сахарного диабета на протяжении 56 дней контролировали по повышению уровня глюкозы в крови, которую обчисляли глюкозооксидазным методом. Исследования проводили на животных с уровнем глюкозы более 13,4 ммоль/л на 4 и 8 недели после начала эксперимента. Представленный морфометрический анализ ангиоархитектоники глазного яблока разрешает оценить степень его васкуляризации в норме и при диабете. Четко выступает связь между глубиной структурных преобразований гемомікроциркуляторного русла и морфометрическими показателями. Уменьшение, по сравнению с контролем, плотности сетки капилляров и увеличение показателя трофической активности ткани свидетельствует о обеднении сосудистой сетки сосудистой оболочки при сахарном диабете.

Считаем целесообразным использовать в экспериментальной офтальмологии и эндокринологии для создания биологических моделей органа зрения крысы.

COMPARATIVE MORFOMETRY OF ANGIOARCHITECTONICS OF THE VASCULAR LAYER OF THE EYEBALL OF A RAT IN NORMAL CONDITIONS AND EXPERIMENTAL

DIABETES MELLITUS – In this work we represented results of morphometric investigation of hemomicrocirculation stream of the vascular layer of the eyeball white male rats "Wistar" in normal conditions and streptozotocin-induced diabetes mellitus. A comparison of the morphometrical peculiarities of links hemomicrocirculation stream of the vascular layer of the eyeball of rat in normal conditions and in experimental diabetes during 8 weeks of its occurrence was conducted. Modeling of experimental diabetes mellitus was provided with single intraabdominal injection of streptozotocin. Development of diabetes mellitus during the experiment was monitored by the growth of glucose level in blood measured by glucose oxidation method. Investigations were conducted on animals with the level of glucose over 13,4 mmol/l during 4 and 8 weeks after the beginning of the experiment. The applied morphometric analysis of the angiоarchitectonics of eyeball allows evaluating its vascularisation degree – in norm and in diabetes conditions. We can distinctly observe the connection between depth of structural transformations of hemomicrocirculatory bed and morphometric indices. The decrease, comparing to control – of tightness of exchange vessels net and the increase of index of trophic tissue activity testify to rarefying of vascular layer of the eyeball in diabetes mellitus conditions.

We think it reasonable to use rat's eyes for creation of biological models in experimental ophthalmology and endocrinology.

**Ключові слова:** очне яблуко, судинна оболонка, щур, діабет.

**Ключевые слова:** глазное яблоко, сосудистая оболочка, крыса, диабет.

**Key words:** eyeball, vascular layer, rat, diabetes.

**ВСТУП** Цукровий діабет розглядають як найчастішу причину пошкодження органа зору серед інших ендокринних захворювань. При цій патології спостерігають захворювання повік і сполучної оболонки, окорухового апарату, рогівки і кришталика, сітківки і судинної оболонки, порушення гідро- та гемодинаміки. Проте на особливу актуальність питання заслуговує стан мікроциркуляторного русла даного органа. Зміни гемодинаміки ока на мікроциркуляторному рівні зумовлюють суттєвий відсоток втрати зору, що черговий раз підкреслює вагомість дослідження глибини уражень кровоносних судин очного яблука при багатьох захворюваннях [1–3], у тому числі при цукровому діабеті – однієї з найактуальніших проблем сучасної ендокринології та офтальмології.

На сьогодні дуже мало праць присвячено вивченню судинної оболонки, в літературі зустрічаються поодинокі дані, де було б подано комплексну оцінку макро- і мікроскопічному дослідженню, морфометричному аналізу стану мікросудин при експериментальних формах цукрового діабету.

Метою роботи стало визначити морфометричні особливості ангіоархитектоники судинної оболонки очного яблука щура в нормі та на різних етапах розвитку експериментального цукрового діабету та провести порівняльний аналіз цих даних.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Матеріал дослідження представлено препаратами для очей 20 щурів-самців

лінії Вістар масою 100–130 г з ін'єкованим казеїновою олійною газовою сажею "Темпера" судинним руслом [4]. Модель цукрового діабету викликали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотцину ("Sigma", США) з розрахунку 7 мг на 100 г маси тіла тварини. Тварин виводили з досліду за допомогою внутрішньоочеревинного введення препарату тіопенталу натрію з розрахунку 2,5 мг на 100 г маси тварини. Відразу після смерті тварини здійснювали забір біологічного матеріалу.

Морфометричний аналіз гемомікроциркуляторного русла райдужки, війкового тіла та власне судинної оболонки проводили за кафедральною методикою [5]. Використовували наступні кількісні критерії: діаметри мікросудин, щільність (густота) сітки "обмінних" судин, показник трофічної активності тканин. Під терміном "обмінні" судини ми маємо на увазі капіляри, артерії, вени.

Діаметр окремих мікросудинних ланок визначали за допомогою звичайного окуляр-мікрометра. Щільність (густота) сітки капілярів визначається шляхом підрахунку кількості капілярів на одиницю площі (за одиницю площі ми беремо площу поля зору мікроскопа). Показник трофічної активності тканини або радіус дифузії (РД) – це половина відстані між двома сусідніми капілярами. Варіаційно-статистичне опрацювання результатів дослідження проводили на персональному комп'ютері за допомогою пакета прикладних програм для статистичного аналізу даних медико-біологічних та епідеміологічних досліджень "Instat" (GraphPad Software Inc., 1993).

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ** Морфометричний аналіз гемомікроциркуляторного русла судинної оболонки показав, що діаметр капілярів райдужки ( $4,9 \pm 0,13$ ) мкм, власне судинної оболонки – ( $6,83 \pm 0,31$ ) мкм, війкових відростків – ( $6,8 \pm 0,31$ ) мкм; щільність (густота) сітки мікросудин райдужки –  $138,0 \pm 3,0$ , власне судинної оболонки –  $120,6 \pm 4,7$ , війкових відростків –  $139,6 \pm 3,3$ ; трофічна активність тканини райдужки –  $17,6 \pm 0,38$ , війкових відростків –  $11,1 \pm 0,47$ , власне судинної оболонки –  $20,3 \pm 0,5$ .

На 4 тижні перебігу захворювання діаметр петлі капілярів зіничного краю райдужки становить ( $8,5 \pm 0,48$ ) мкм; щільність (густота) сітки мікросудин –  $78,40 \pm 0,6$ ; показник трофічної активності тканини –  $91,5 \pm 4,2$  мкм. При морфометричному аналізі діаметр капілярів війкових відростків становить ( $10,2 \pm 0,79$ ) мкм; щільність (густота) сітки капілярів –  $74,5 \pm 2,71$ ; показник трофічної активності тканини – ( $36,4 \pm 4,0$ ) мкм. Діаметр капілярів власне судинної оболонки становить ( $10,4 \pm 0,5$ ) мкм; показник трофічної активності тканини – ( $66,39 \pm 1,63$ ) мкм; щільність (густота) сітки капілярів –  $90,0 \pm 2,39$ .

На 8 тижні щільність (густота) капілярів райдужки –  $76,1 \pm 0,69$ ; війкових відростків до  $72,2 \pm 1,1$ ; власної судинної оболонки –  $80,5 \pm 0,7$ ; а також достовірне збільшення, порівняно з контролем, показника трофічної активності тканини райдужки до ( $95,4 \pm 4,2$ ) мкм; війкових відростків до  $35,5 \pm 1,44$ ; власної судинної оболонки до ( $70,0 \pm 3,58$ ) мкм свідчать про значне розрідження судинної сітки усіх відділів судинної оболонки. Спостерігається збільшення діаметра петель капі-

лярів зіничного краю райдужки до ( $12,5 \pm 0,5$ ) мкм; діаметра капілярів війкових відростків – до ( $14,2 \pm 0,4$ ) мкм та власної судинної оболонки – до ( $16,1 \pm 1,1$ ) мкм.

Діаметр капілярів власної судинної оболонки блискавично зростає на 8 тижні спостереження. На 4 тижні збільшується інтенсивність росту показника трофічної активності тканин у тканині власної судинної оболонки та гемомікроциркуляторному руслі райдужки.

Через 4 тижні спостерігали зменшення густоти обмінних судин війкових відростків і на 8 тижні перебігу експерименту цей показник надалі зменшується порівняно з попереднім терміном. Діаметр капілярів війкових відростків також зазнав суттєвих змін у результаті розвитку цукрового діабету. Так, на відміну від здорових щурів, через 4 тижні перебігу захворювання діаметр капілярів суттєво збільшувався із досягненням піку на 8 тижні.

**ВИСНОВКИ** Результати досліджень дозволяють впроваджувати експериментальні роботи на щурах при дослідженні очного яблука, що дуже актуально для морфологів та клініцистів.

**Перспективи подальших досліджень** 1. При стрептозотциніндукованому цукровому діабеті відбуваються зміни усіх ланок гемомікроциркуляторного русла судинної оболонки, які характеризуються розрідженням судинної сітки, утворенням безсудинних ділянок, деформацією, звивистістю, формуванням мікроаневризм.

2. Морфометричний аналіз ангіоархітектоніки дозволяє оцінити ступінь васкуляризації судинної оболонки при цукровому діабеті.

3. Виявляється чіткий зв'язок між глибиною структурних перетворень гемомікроциркуляторного русла і морфометричними показниками. Зменшення, порівняно з контролем, щільності сітки капілярів, збільшення показника трофічної активності тканини та діаметра капілярів свідчать про наявність декомпенсаторних процесів та розрідження судинної сітки судинної оболонки за умов експериментального цукрового діабету.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Stitt A. W. Advanced glycation and retinal pathology during diabetes / A. W. Stitt, T. M. Curtis // *Pharmacological Reports*. – 2005. – Vol. 57, Suppl. – P. 156–168.
- Dekker J. M. Diabetic retinopathy is associated with mortality and cardiovascular disease incidence / J. M. Dekker, C. D. A. Stehouwe // *Diabetes Care*. – 2005. – Vol. 28. – P. 1383–1389.
- Моделі імунної форми цукрового діабету різної тяжкості / С. Ф. Гараган, Я. І. Томашевський, В. К. Гусак [та ін.] // *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. – 2002. – № 3. – С. 70–73.
- Матешук-Вацеба Л. Р. До питання про раціональну методику ін'єкції судинного русла / Л. Р. Матешук-Вацеба, Х. А. Кирик // *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. – 2004. – Т. 3, № 3. – С. 53.
- Личковський Л. М. Методика морфометричного аналізу ангіоархітектоніки органів на ін'єкованих препаратах / Л. М. Личковський, Л. Р. Матешук-Вацеба, З. З. Масна : матер. I Всеукраїнської науково-практичної конференції "Роль фізичної культури в здоровому способі життя". – Львів, 1994. – С. 119–120.

Отримано 08.05.13