

© Мельник Н.О., Чекмарьова І.В., Чайковський Ю.Б.

УДК 616.831-005.8-004+616.411+616.438]-018-08:615.849.19

РЕАКТИВНІ ЗМІНИ ОРГАНІВ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ПІД ВПЛИВОМ ПАТОЛОГІЧНИХ ФАКТОРІВ

Н.О.Мельник, І.В.Чекмарьова, Ю.Б.Чайковський

*Кафедра гістології та ембріології (зав. – чл.-кор. АМН України, проф. Ю.Б.Чайковський)
Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця*

Велика кількість досліджень, які проводяться в медицині та біології, дозволила виділити специфічну галузь – "нейроімунологію". Ця наука поєднує вивчення змін, що відбуваються в органах імунного захисту та нервової системи. Однією з невирішених проблем нейроімунології є вивчення особливостей реакцій органів імунної системи за умов патології центральної та периферійної нервової системи [1]. У науковій літературі є окремі дані про зміни тимуса та селезінки при демієлінізації, але зовсім не досліджені морфологічні зміни цих органів при використанні рекомбінантного інтерферону β -1а у короткі та віддалені терміни. Дані літератури [2] свідчать, що при травмі периферійних нервів виникають зміни в регіонарних лімфатичних вузлах. Морфологічні зміни в інших органах імунного захисту за даних умов вивчені недостатньо. Одночасно проводиться велика кількість досліджень щодо дії імуномодулювальних препаратів на стан імунної системи та на регенерацію нервових стовбурів, але такі дослідження частіше стосуються фізіологічних механізмів, а не морфологічних змін в органах імуногенезу [3]. У літературі відсутні дослідження структурних змін органів імуногенезу за умов травми нервів і наступного введення імунодепресантів. Між тим, такі дані мали б суттєве значення для розробки методів стимуляції відновних процесів у нервових стовбурах.

Мета дослідження. Вивчити морфологічні зміни тимуса та селезінки при демієлінізації, після використання препарату ре-

комбінантного інтерферону β -1а (препарат "Ребіф") у короткі та віддалені терміни та після травматичного ушкодження сідничого нерва з наступною фармакологічною корекцією циклоспорином А.

Матеріал і методи. Дослідження впливу препарату "Ребіф" проведено на 62 щурах однієї статі – самках, масою тіла 220-250 г. У 52 тварин моделювали експериментальний алергічний енцефаломієліт (ЕАЕ) введенням гомогенату спинного мозку з ад'ювантом Фрейнда у подушечки кінцівок. Досліджено 2 терміни – через 21 добу та через 39 діб після ініціації ЕАЕ. "Ребіф" вводили підшкірно в ділянці спини тварини. Розрахунок дози препарату проводили відповідно до прийнятих доз у лікуванні розсіяного склерозу людини. Для дослідження тіл нейронів через 21 добу та 39 діб тварини були розподілені на 5 груп: 1 група – тварини з ЕАЕ; 2 група – тварини, яким вводили препарат "Ребіф" по 0,55 мкг щоденно протягом 4 днів, загальна кількість отриманого препарату кожною твариною – 2,2 мкг; 3 група – тварини, яким вводили препарат "Ребіф" по 1,1 мкг щоденно упродовж 3 днів, загальна кількість отриманого препарату кожною твариною – 3,3 мкг; 4 група – тварини, які отримували препарат "Ребіф" по 0,55 мкг через день протягом 15 днів, загальна кількість отриманого препарату – 4,4 мкг; 5 група – інтактні тварини. Експеримент травматичного ушкодження сідничого нерва з наступною фармакологічною корекцією циклоспорином А проведений на 96 білих нелінійних статевозрілих щурах масою 150-160 г віком 4-5 місяців. Тварини поділені на 2 групи по 48 у кожній групі. Тваринам першої групи проведено моделювання травми сідничого нерва: останній розсікали на межі верхньої та середньої третини з наступним зшиванням відрізків нерва на фіксо-

ваній відстані 2 мм. Щури другої групи знаходилися в аналогічних умовах, але їм вводили циклопорин А в дозі 5 мг/кг на добу протягом 6 днів, після чого переводили тварин на підтримуючу дозу 2,5 мг/кг на добу, яку вводили 12 діб. Окремо були виділені інтактні тварини (група порівняння) та щури, яким проводили несправжню операцію (контроль), що полягала в доступі до нерва з наступною його мобілізацією. Тварин виводили з експерименту через 3-12 тижнів за допомогою передозування препарату Тіопентал КМП. Тимус та селезінку фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну. Парафінові зрізи товщиною 4-6 мкм отримували за допомогою роторного мікротома HM360 (Carl Zeiss Jena GmbH). Зрізи забарвлювали азур II-еозином та гематоксилином і еозином. Морфометричне дослідження проводили за допомогою аналізатора зображень, який складається з мікроскопа Olympus BX51 із цифровою камерою C-4040zoom та персонального комп'ютера. При цьому в тимусі визначали співвідношення кіркової та мозкової речовини, в селезінці – відносні розміри білої пульпи, розміри лімфоїдних вузликів у мікрометрах, кількість лімфоїдних вузликів, а також кількість реактивних центрів у лімфатичних вузликах та їх розподіл у загальній кількості лімфатичних вузликів у відсотковому співвідношенні. Статистичну обробку одержаних даних проводили за загальноприйнятими методиками. Визначали середню арифметичну, середню помилку середньої арифметичної, вірогідність різниці. Вірогідність оцінювали на рівні значень не менше 95% ($p < 0,05$) за критерієм Стьюдента [4].

Результати дослідження та їх обговорення. Вивчення гістологічних препаратів тимуса та селезінки інтактних щурів дозволило встановити взаємовідношення окремих структурно-функціональних зон. Вилочкова залоза щурів має добре виражену сполучнотканинну капсулу та трабекули, які ділять її на часточки. У контрольній групі щурів часточки вилочкової залози чітко розподіляються на кіркову та мозкову речовини, причому кіркова переважає над мозковою ($56,75 \pm 3,24\%$ та $43,25 \pm 3,01\%$ відповідно). Біла пульпа селезінки складається з лімфоїдних вузликів та лімфоїдних муфт і їй належить $23,54 \pm 0,23\%$ об'єму органа, кількість лімфоїдних вузликів сягає $13,01 \pm 0,37$, їх діаметр становить $11,40 \pm 0,81$ мкм; серед лімфоїдних вузликів переважають вузлики, що містять один реактивний центр і становить $80,43 \pm 0,81\%$, кількість вузликів, що

містять два або не містять жодного реактивного центру, приблизно однакова і дорівнює $9,82 \pm 0,42\%$ та $9,75 \pm 0,43\%$ відповідно.

Через 21 добу після ініціації ЕАЕ збільшується площа часточок тимуса за рахунок збільшення площі мозкової речовини, у більшості часточок у складі кіркової речовини з'являються вузлики з реактивними центрами розмноження. Загальна площа мозкової речовини майже втричі перевищує площу кіркової. Щільність розміщення лімфоцитів зменшується, тому добре визначаються епітеліоретикулоцити у кірковій та мозковій речовині. Судини гемоциркуляторного русла кіркової речовини розширені, у їх складі спостерігаються скупчення еритроцитів у вигляді "стовпчика монет", тому було добре помітно густе сплетення гемокапілярів у кірковій речовині. Тільця Гассала визначаються дуже слабо, оскільки не мають чітких контурів.

У селезінці визначається збільшення білої пульпи за рахунок збільшення реактивних центрів, іноді спостерігається декілька реактивних центрів. Вузлики селезінки настільки збільшуються, що зливаються між собою, при цьому щільність розміщення клітинних елементів зменшується. Через 21 добу після введення препарату "Ребіф" (незалежно від дози) суттєвих змін у паренхімі тимуса та селезінки не спостерігається.

Через 39 діб після ініціації ЕАЕ відбувається поступове відновлення паренхіми тимуса та селезінки. Площа мозкової речовини тимуса зменшується, зникають розширені судини в кірковій речовині, але вузлики в ній виявляються. Площа білої пульпи селезінки в цей термін експерименту зменшується у порівнянні з гістологічними препаратами селезінки щурів через 21 добу після ініціації ЕАЕ. Щільність розміщення клітинних елементів поступово відновлюється. Через 39 діб після ініціації ЕАЕ та введення препарату інтерферону β -1а паренхіма тимуса та селезінки наближається до норми.

Через 3 тижні після травми периферійного нерва змінюється співвідношення кіркової ($42,40 \pm 1,12\%$) та мозкової речовини ($57,60 \pm 2,02\%$) в тимусі на користь мозкової. У селезінці збільшується об'єм білої пульпи ($49,01 \pm 0,76\%$) як за рахунок збільшення кіль-

кості вузликів ($15,43 \pm 0,59$), так і за рахунок збільшення їх діаметра ($18,76 \pm 0,97$ мкм). При цьому в складі вузликів збільшувалася кількість таких, що містять два реактивних центри, а також збільшується кількість вузликів з одним реактивним центром, відповідно зменшується кількість вузликів, що не містять жодного реактивного центру. В ті ж терміни з використанням циклоспорину А прояви акцидентальної інволюції в тимусі були меншими ($45,15 \pm 2,49\%$ – об'єм кіркової речовини та $54,85 \pm 3,31\%$ – об'єм мозкової речовини), в селезінці зменшується кількість вузликів ($14,22 \pm 0,67$) та їх діаметр ($15,98 \pm 0,78$ мкм) при порівнянні з лімфоїдними вузликами у гістологічних препаратах, що були отримані від тварин, яким не призначали імунодепресант. Кількість лімфатичних вузликів з одним та двома реактивними центрами ($84,76 \pm 0,54\%$ та $10,21 \pm 0,39\%$ відповідно) збільшена по відношенню до контрольної групи, але менша, ніж у тварин, що не отримували циклоспорин А.

Через 12 тижнів після оперативного втручання без фармакологічного впливу в тимусі переважає кіркова речовина (її площа $51,8 \pm 4,25\%$), а кількість білої пульпи селезінки становить $26,8 \pm 0,32\%$. При цьому діаметр лімфоїдних вузликів практично не відрізнявся від такого у тварин контрольної групи та щурів, яким призначали циклоспорин А (різниця між цими показниками не вірогідна). Кількість лімфатичних вузликів з одним реактивним центром була $82,5 \pm 0,44\%$ у групі післяопераційних тварин і $79,5 \pm 0,41\%$ у групі, що підлягала операції та впливу циклоспорину А. Кількість лімфоїдних вузликів з двома реактивними центрами була навіть нижча від показників у контрольній групі.

Морфологічні зміни у складі тимуса та селезінки після ініціації ЕАЕ та при травмі

периферійного нерва збігаються з даними наукової літератури. Вплив препарату "Ребіф" відчутний при пролонгованій дії і має вплив як на тимус, так і на селезінку. Після ініціації ЕАЕ у гострий період у складі тимуса збільшується мозкова речовина та розширюються капіляри кіркової речовини. Після пошкодження нерва в тимусі спостерігаються прояви акцидентальної інволюції. У селезінці після ініціації ЕАЕ через 21 добу та після травми нерва зростає площа білої пульпи за рахунок кількості лімфоїдних вузликів та їх розмірів, також збільшується кількість вузликів з одним та двома реактивними центрами, що свідчить про антигенну стимуляцію. За умов тривалого використання препарату "Ребіф" та циклоспорину А реактивні зміни в органах імуногенезу проявляються значно менше.

Висновки. 1. Після ініціації експериментального алергічного енцефаломієліту в гострий період у складі тимуса збільшується мозкова речовина та розширюються капіляри кіркової речовини. Після пошкодження нерва в тимусі спостерігаються прояви акцидентальної інволюції. 2. У селезінці після ініціації експериментального алергічного енцефаломієліту через 21 добу та після травми нерва зростає площа білої пульпи за рахунок кількості лімфоїдних вузликів та вузликів з одним та двома реактивними центрами. 3. За умов тривалого використання препарату "Ребіф" та циклоспорину А реактивні зміни в органах імуногенезу проявляються значно менше.

Перспективи наукового пошуку. Додільно визначити клітинний склад тимуса та селезінки при експериментальному алергічному енцефаломієліті, введенні препарату "Ребіф" та після травми периферійного нерва і введення імунодепресанта.

Література

1. Завалишин І.А., Головкина В.И. Рассеянный склероз. Избранные вопросы теории и практики. – М., 2000. – 639 с.
2. Мельник Н.О. Морфология підколінних лімфатичних вузлів правої кінцівки щурів у процесі регенерації сідничого нерва // Укр. наук.-мед. молодіжний жс. – 1995. – № 3. – С. 18-22.
3. Контроль и регуляция иммунного ответа / Р.В.Петров, Р.М.Хаитов, В.М.Манько, А.А.Михайлова – Л.: Медицина, 1991. – 310 с.
4. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М., 1990. – 382 с.

РЕАКТИВНІ ЗМІНИ ОРГАНІВ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ПІД ВПЛИВОМ ПАТОЛОГІЧНИХ ФАКТОРІВ

Н.О.Мельник, І.В.Чекмарьова, Ю.Б.Чайковський

Резюме. В експерименті вивчали зміни в органах імуногенезу (тимусі та селезінці), які відбуваються за умов демієлінізації та використання препарату "Ребіф", травми периферійного нерва та фармакологічної корекції цього стану імунодепресантом. Дослідження проводили на білих щурах, у яких ініціювали експериментальний алергічний енцефаломієліт, у гострій стадії якого вводили інтерферон β -1а. Останній відновлює тимус та селезінку при тривалому використанні. Після травми периферійного нерва змінюються співвідношення кіркової та мозкової речовини в тимусі, білої та червоної пульпи в селезінці. За умов введення циклоспорину А вираженість цих змін значно менша.

Ключові слова: тимус, селезінка, експериментальний алергічний енцефаломієліт, інтерферон, імунодепресант.

REACTIVE CHANGES OF THE ORGANS OF THE IMMUNE SYSTEM UNDER THE INFLUENCE OF PATHOLOGICAL FACTORS

N.O.Mel'nyk, I.V.Chekmariova, Yu.B.Chaikovs'kyi

Abstract. The authors studied changes in the organs of immunogenesis (the thymus and spleen) that occur under conditions of demyelination and use of the "Rebif" medication, an injury of the peripheral nerve and pharmacologic correction of this condition by means of an immunodepressant. The study was carried out on albino rats in which experimental allergic encephalomyelitis was initiated. Interferon β -1a was administered during the acute stage. The latter restores the thymus and spleen after a prolonged use. After an injury of the peripheral nerve correlations between the cortical and medullary substances in the thymus, the white and red pulp in the spleen change. Upon introducing cyclosporin A the marked character of these changes is considerably lower.

Key words: thymus, spleen, experimental allergic encephalomyelitis, interferon, immunodepressant.

O.O.Bohomolets National Medical University (Kyiv)

Надійшла в редакцію 03.02.2004 р.