

**С.А.Кашченко
В.В.Ерохина**

ГУ «Луганский государственный медицинский университет»

Ключевые слова: паращитовидная железа, крысы, морфометрия, циклофосфан, имунофан.

*Надійшла: 15.04.2013
Прийнята: 23.05.2013*

УДК: 591.444.5:615.275

ОСНОВНЫЕ МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПАРАЩИТОВИДНЫХ ЖЕЛЕЗ БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ИМ ЦИКЛОФОСФАНА И ИМУНОФАНА

Исследование проведено в рамках научно-исследовательской работы «Особенности строения органов иммунной, эндокринной и нервной систем при иммуностимуляции и иммуносупрессии» (номер государственной регистрации 0112U000096).

Резюме. Целью работы было определение морфометрических параметров паращитовидных желез крыс после применения имунофана и циклофосфана. Исследование проведено на 72 крысах-самцах с начальной массой 180 ± 10 г. Животные были разделены на 4 группы. Крысам первой группы вводили однократно циклофосфан по 2,86 мг/кг. Животные второй группы получали имунофан в дозировке 0,71 мкг/кг внутримышечно на 1, 3, 5, 7, 9 сутки. Крысам третьей группы вводили циклофосфан, затем производили иммунокоррекцию имунофаном. Четвертую группу составили интактные животные. Материал забирали на 15, 30, 90 сутки после завершения инъекций. Измеряли толщину, ширину, высоту, площадь паращитовидных желез. Проводили статистическую обработку данных. После введения имунофана и циклофосфана наиболее существенные изменения линейных параметров выявлены на 30 сутки. При коррекции циклофосфан-индуцированной иммуносупрессии с помощью имунофана наиболее достоверное превышение контрольных данных наблюдалось на 15 сутки. К 90 суткам наблюдения показатели приближались к контрольным значениям во всех группах животных.

Морфология. – 2013. – Т. VII, № 2. – С. 53-56.

© С.А.Кашченко, В.В.Ерохина, 2013

Kashchenko S.A., Erokhina V.V. The main morphometric parameters of rat's parathyroid glands after injection by cyclophosphanum and imunofan.

Summary. The aim of the work was determination of the morphometric parameters of rat's parathyroid glands after application imunofan and cyclophosphanum. The study was conducted on 72 male rats with an initial weight 180 ± 10 g. The animals were divided into 4 groups. Rats of the first group were injected once by cyclophosphanum on 2,86 mg/kg. The second group of animals was injected by imunofan on 0,71 mg/kg for the 1, 3, 5, 7, 9 days. The third group of rats were injected by cyclophosphanum, then immunocorrection by imunofan was made. The fourth group was consisted of intact animals. Material was taken at 15, 30, 90 days after the last injection. The thickness, width, height, area of parathyroid glands was determed. The statistical analysis of the data was performed. After the administration of cyclophosphanum and imunofan the most significant changes of the linear parameters were identified on the 30th day. After correction by imunofan the most significant change of the linear parameters was observed on the 15th day. By 90th day the all of parametrs were approaching to the control data in all groups.

Key words: parathyroid gland, rats, morphometry, cyclophosphanum, imunofan.

Введение

Сложная экологическая ситуация в большинстве регионов страны, последствия аварии на ЧАЭС, изменения рациона питания большей части населения вследствие социально-экономических проблем, привели к значительному увеличению количества иммунологических расстройств, которые находятся в основе генеза множества заболеваний. Все больше появляется данных о тесной функциональной связи эндокринной и иммунной систем, направленных на поддержа-

ние гомеостаза организма, однако, сведения относительно морфологической основы со стороны паращитовидных желез при изменении в иммунном статусе отсутствуют (Зербино Д. Д. и соавт., 2006; Яценко М. Ю.; 2011, Фомина К. А., 2012). Проблема строения паращитовидных желез в условиях иммуностимуляции и иммуносупрессии в зарубежной литературе освещена недостаточно, а в отечественной литературе такие данные вовсе отсутствуют, что обуславливает актуальность исследований в данном направлении.

Строение и функционирование иммунной и эндокринной систем у человека и крыс имеют много общего, поэтому крысы были выбраны в качестве экспериментальных животных (Imanishi Y., 2012).

Целью работы было определение морфометрических параметров параситовидных желез подопытных животных после применения иммуностимулятора нового поколения имунофана и цитостатика циклофосфана.

Материалы и методы

Эксперимент выполнен в сертифицированной морфологической лаборатории кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГУ «Луганский государственный медицинский университет». Исследование проведено на 72 лабораторных беспородных крысах-самцах репродуктивного периода молодого возраста с начальной массой 180 ± 10 г.

Животные были разделены на 4 группы по 24 крысы в каждой. Крысам первой группы (ЦФ) вводили однократно циклофосфан внутримышечно в дозировке 2,86 мг/кг. Препарат является одним из наиболее эффективных и широко применяемых цитостатиков, который входит в различные схемы противоопухолевой химиотерапии, активно применяется в трансплантологии и клинике аутоиммунных заболеваний. Животным второй группы (ИМ) вводили имунофан в дозировке 0,71 мкг/кг массы тела внутримышечно по схеме на 1, 3, 5, 7, 9 сутки эксперимента. Имунофан – представитель IV поколения производных тимических гормонов, созданный с помощью нанотехнологий. Крысам третьей группы (ЦФ+ИМ) вводили циклофосфан однократно внутримышечно, затем производили иммунокоррекцию имунофаном в тех же дозировках на 1, 3, 5, 7, 9 сутки после инъекции циклофосфана. Четвертую группу (К) составили интактные животные.

Содержание, уход за животными осуществляли согласно Закону Украины «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 1759-VI от 15.12.2009 и с учетом принципов биоэтики, изложенных в Хельсинской декларации. Животных выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом в одно и то же время суток. Материал забирали на 15, 30, 90 сутки после завершения инъекций. Параситовидные железы извлекали в комплексе со щитовидной железой, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, подвергали стандартной гистологической проводке (Fancy T., 2010). Изготавливали гистологические срезы толщиной 5-7 мкм, при этом препараты левой параситовидной железы резали в продольном направлении, а правой – в поперечном, окрашивали гематоксилином-эозином (рис. 1, 2).

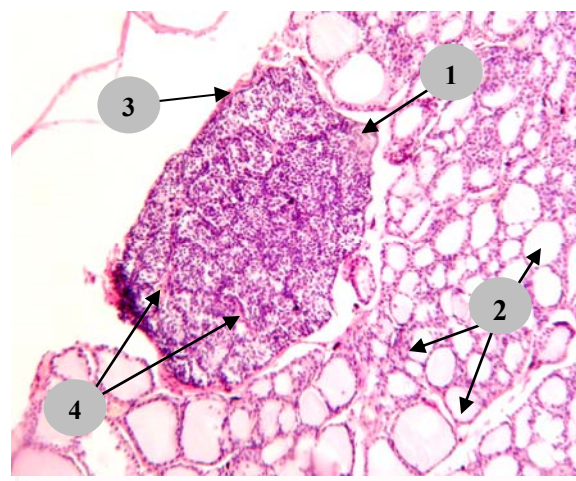


Рис. 1. Правая параситовидная железа первой группы (ЦФ) животных (30 сутки). 1 – параситовидная железа, 2 – фолликулы щитовидной железы, 3 – капсула параситовидной железы, 4 – соединительнотканная прослойка. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличе-

ние: Zoom 18,5. Объектив: PlanC N 10x/0.25 /-/FN22.

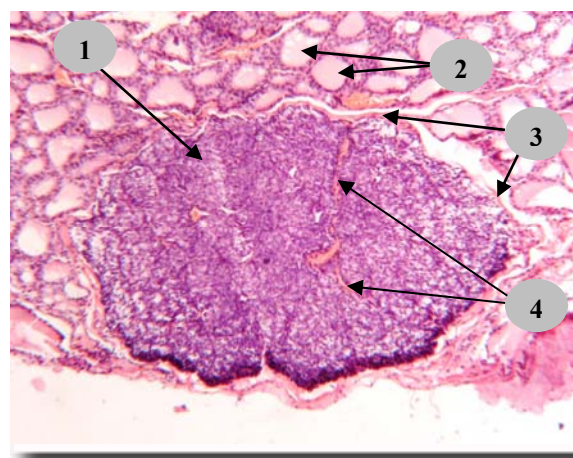


Рис. 2. Правая параситовидная железа второй группы (ИМ) животных (30 сутки). 1 – параситовидная железа, 2 – фолликулы щитовидной железы, 3 – капсула параситовидной железы, 4 – соединительнотканная прослойка. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличе-

ние: Zoom 18,5. Объектив: PlanC N 10x/0.25 /-/FN22.

Анализ изображений объектов проводили с помощью аппаратно-программного комплекса, включающего фотоаппарат Olympus C5050Z, микроскоп Olympus BX 41. Для проведения морфометрии использовали оригинальную морфометрическую программу «Morpholog» (Овчаренко В. В., 2004; Ковешников В. Г., 2008). Измеряли толщину, ширину, высоту и площадь параситовидных желез. При изучении линейных параметров параситовидных желез исследовался самый большой по площади продольный срез. Полученные данные обрабатывали статистически.

Результаты и их обсуждение

После статистической обработки показателей были получены данные, представленные в таблице 1 и на рисунках 3-5. При исследовании параситовидных желез под влиянием циклофосфана выяснили, что у половозрелых крыс наиболее выраженное уменьшение показателей по сравнению с данными контрольной группы наблюдалось на 30 сутки: толщина – 41,24%,

ширина – 30,11%, высота – 27,88% и площадь – 19,04%. На 15 сутки все указанные параметры также уменьшились, но менее выражено. Так, толщина уменьшилась на 13,65%, ширина – на 16,76%, высота – на 17,40%, площадь на 13,05%. В поздние сроки наблюдения (90 сутки) линейные размеры параситовидных желез исследуемых групп приближались к показателям интактных животных.

Таблица 1

Морфометрические показатели параситовидных желез крыс разных экспериментальных групп (M±m, n=72)

Сроки забора материала	Группы животных	Толщина, мкм	Ширина, мкм	Высота, мкм	Площадь, мкм ²
15 сутки	ЦФ	525±14	452±13	703±15	350812±566
	ИМ	680±12	635±11	984±6	455463±1730
	ЦФ+ИМ	660±10	593±12	922±15	445311±2782
	К	608±10	543±11	851±10	403467±1874
30 сутки	ЦФ	436±12	448±16	767±12	352926±2324
	ИМ	954±12	860±12	1488±26	699366±5750
	ЦФ+ИМ	790±6	688±4	1093±5	460430±3493
	К	742±12	641±12	1062±33	435939±1205
90 сутки	ЦФ	771±8	689±9	923±10	523497±3227
	ИМ	832±14	733±10	970±18	555850±1244
	ЦФ+ИМ	793±10	730±10	988±19	553916±2310
	К	809±12	717±14	958±16	548487±2383

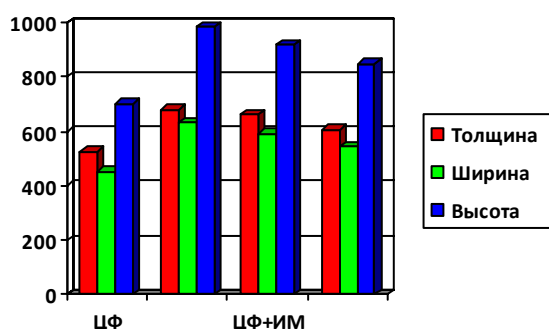


Рис. 3. Изменения морфометрических показателей параситовидных желез крыс на 15 сутки.

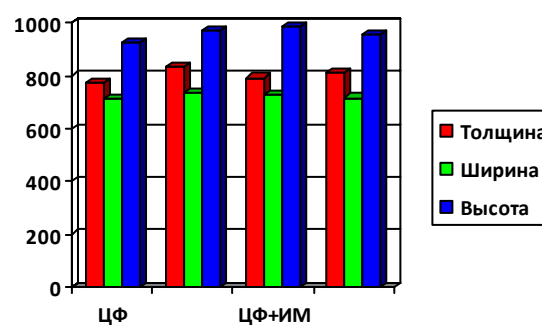


Рис. 5. Изменения морфометрических показателей параситовидных желез крыс на 90 сутки.

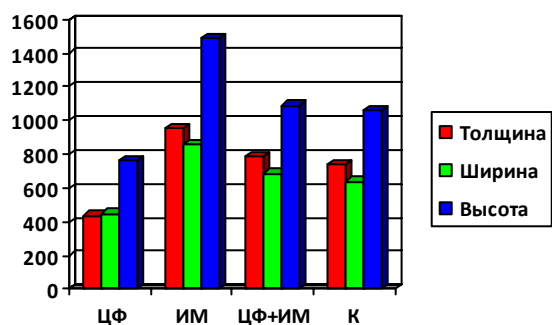


Рис. 4. Изменения морфометрических показателей параситовидных желез крыс на 30 сутки.

После введения имунофана максимальное возрастание всех показателей происходило на 30 сутки. Площадь и высота органа увеличились приблизительно в 1,5 раза по сравнению с контролем, а толщина и ширина – в 1,3 раза. На 15 сутки после введения имунофана ширина увеличилась на 16,94%, высота – на 15,63%, площадь – на 12,89%, а толщина на 11,84%. Данные, полученные на 90 сутки исследования, не имеют статистической значимости.

При коррекции циклофосфан-индуцированной иммуносупрессии с помощью имунофана наиболее достоверное увеличение морфометрических параметров по сравнению с контролем отмечено на 15 сутки: площадь – 10,37%, ширина – 9,21%, толщина – 8,55% и высота – 8,34%.

Менше виражене збільшення всіх показателів спостерігалося при забір матеріалу на 30 днів: товщина – 6,47%, ширина – 7,33%, висота – 2,92%, площа – 5,62%. На 90 днів відбувалося зменшення всіх показателів в межах 3%.

Висновки

1. Після введення імунофану та циклофосфану найбільш суттєві зміни лінійних параметрів органу виявлені на 30 днів.

2. При корекції циклофосфаном індукованої імуносупресії з допомогою

імунофану найбільш достовірне збільшення контрольних даних спостерігалося на 15 днів.

3. К 90 суткам спостереження всі досліджувані показателі наближалися до контрольних значень у всіх експериментальних групах тварин.

В перспективі планується вивчити особливості клітинного складу парашитоподібних залоз білих беспородних мишей-самців репродуктивного періоду при різних умовах експерименту.

Літературні джерела

Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження», № 1759-VI, від 15.12.2009.

Зербіно Д. Д. Раптова смерть в Україні: вплив кризових екологічних чинників / Д. Д. Зербіно, О. Р. Малик, Т. М. Соломенчук // Серце і судина. – 2006. - № 1. – С. 41-49.

Ковешников В. Г. Алгоритм морфологічного дослідження щитоподібної залози / В. Г. Ковешников, К. А. Фомина // Тавричеський медико-біологічний вісник. – 2008. – Т. 11, № 3, ч. 1. – С. 65-68.

Овчаренко В. В. Комп'ютерна програма для морфометричних досліджень «Master of Morphology» / В. В. Овчаренко, В. В. Маврич // Свідчення про реєстрацію авторського права на

винахід № 9604, дата реєстрації 19.03.2004.

Фомина К. О. Екологічна загроза населенню Донбасу / К. О. Фомина // Перспективи медицини та біології. – 2012. – Т. 2, № 1. – С. 76.

Яценко М. Ю. Екологічний маркетинг / М. Ю. Яценко // Український науково-медичний журнал. – 2011. - № 1. – С. 405.

Fancy T. Surgical anatomy of the thyroid and parathyroid glands / T. Fancy, D. Gallagher, J. Hornig // Otolaryngologic clinics of North America. – 2010. – Vol. 43. – P. 221-227.

Imanishi Y. Parathyroid diseases and animal models / Y. Imanishi, Y. Nagata, M. Inaba // Frontiers in endocrinology. – 2012. – Vol. 3. – P. 78-81.

Кашенко С.А., Єрохіна В.В. Основні морфометричні параметри парашитоподібних залоз білих щурів після введення їм циклофосфану та імунофану.

Резюме. Метою роботи було визначення морфометричних параметрів парашитоподібних залоз щурів після застосування імунофану та циклофосфану. Дослідження проведено на 72 щурах-самцях з початковою масою 180±10 г. Тварини були розподілені на 4 групи. Щурам першої групи вводили одноразово циклофосфан по 2,86 мг/кг. Тварини другої групи отримували імунофан в дозуванні 0,71 мг/кг внутрішньом'язово на 1, 3, 5, 7, 9 добу. Щурам третьої групи вводили циклофосфан, потім робили імунокорекцію імунофаном. Четверту групу склали інтактні тварини. Матеріал забирали на 15, 30, 90 добу після завершення ін'єкцій. Вимірювали товщину, ширину, висоту, площу парашитоподібних залоз. Проводили статистичну обробку даних. Після введення імунофану та циклофосфану найбільш суттєві зміни лінійних параметрів виявлені на 30 добу. При корекції циклофосфаном індукованої імуносупресії за допомогою імунофану найбільш достовірно перевищення контрольних даних спостерігалося на 15 добу. До 90 доби спостереження показники наближалися до контрольних значень у всіх групах тварин.

Ключові слова: парашитоподібна залоза, щури, морфометрія, циклофосфан, імунофан.