

© Гаврилюк-Скиба Г.О., Волков К.С., Небесна З.М.

УДК: 616-001.17-06:616.441-091.8-074]-092.9

*Гаврилюк-Скиба Г.О., Волков К.С., Небесна З.М.*

Кафедра гістології, цитології та ембріології ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України" (вул. Руська, 12, м. Тернопіль, 46001, Україна)

## ДИНАМІКА ЗМІН МАКРОМЕТРИЧНИХ ТА МОРФОМЕТРИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СЕЛЕЗІНКИ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ

**Резюме.** Проведені макрометричні та морфометричні дослідження селезінки статевозрілих білих щурів-самців після експериментальної термічної травми. Встановлено, що на 7 добу макрометричні та морфометричні показники органу найбільш змінені, що підтверджується гістологічно і свідчить про розвиток пристосувально-компенсаторних змін, а на 14 показники зменшуються і на 21 добу досліджу досягають найменших величин, що свідчить про глибокі деструктивні зміни структурних компонентів органу.

**Ключові слова:** селезінка, морфометричні зміни, термічна травма.

### Вступ

Селезінка, периферійний лімфоїдний орган, що вносить вагомий вклад в розвиток імунної відповіді та гостро реагує на патологічні чинники різного ґенезу. Дослідження динаміки змін макрометричних та морфометричних показників органу дають можливість більш об'єктивно оцінювати морфофункціональний стан структурних компонентів селезінки, як в нормі, так і виявити в них закономірності перебігу компенсаторних, пристосувальних та деструктивних процесів при різних патологічних станах організму [Нужная, 2004; Клименко та ін., 2009]. Проте в науковій літературі недостатньо даних про зміни структурних компонентів селезінки при важкій термічній травмі шкіри, що ускладнює розуміння закономірностей розвитку імуномодуляційних процесів, які при цьому виникають [Сапін, Никитюк, 2000; Гербут, 2004; Козинець та ін., 2008].

Метою цієї роботи було встановлення особливостей динаміки змін макрометричних та морфометричних показників структурних компонентів селезінки після експериментальної опікової травми.

### Матеріали та методи

Експерименти проведено на 40 статевозрілих білих щурах самцях. Тварин утримували у віварії з дотриманням вимог біоетики. Робота виконана в рамках комплексної наукової програми кафедри гістології, цитології та ембріології Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського "Зміни в ксенотрансплантатах при впливі на них фізичних чинників та ефективність їх використання у хворих з опіковою травмою" (держбюджетна НДР, номер держреєстрації 0105U004112).

Опік наносили під кетаміновим наркозом мідними пластинами нагрітими у кип'яченій воді. Площа ураження становила 18-20 % поверхні тіла тварин, а опік був III ступеня. Піддослідних тварин декапітували на 1, 7, 14 та 21 добу експерименту (що відповідає стадіям шоку, ранньої і пізньої токсемії та септикотоксемії опікової хвороби). У попередньо зважених тварин всіх груп з масою тіла 200-250 г, для дослідження забирали се-

лезінку, визначали її масу та лінійні розміри (довжину, ширину та товщину). Шматочки тканини селезінки фіксували в 10% розчині формаліну, при цьому тривалість експозиції не перевищувала 1-2 доби. Далі проводили дегідратацію шматочків в спиртах зростаючої концентрації та заливали їх в парафінові блоки. Отримані на санному мікроскопі зрізи товщиною 4-5 мкм фарбували гематоксиліном-еозинном.

При морфометрії селезінки досліджувались наступні параметри: загальні площі перерізу сполучнотканинного компоненту, червоної та білої пульпи. Окремо визначались загальні площі перерізу гермінативних центрів, периартеріальних лімфоїдних піхв, периартеріальних лімфоїдних зон, загальна площа перерізу маргінальних та мантійних зон та центральної судини лімфоїдних вузликів білої пульпи. Оцінку функціонального стану центральних судин лімфоїдних вузликів проводили шляхом вирахування ІВ - індекса Вогенворта. Одержані дані порівнювали з даними, які одержали від інтактних тварин.

Морфометричні дослідження здійснювали, використовуючи систему візуального аналізу гістологічних препаратів. Зображення на монітор комп'ютера виводили з мікроскопу ЛОМО Биолам И за допомогою відеокамери Vision CCD Camera і програми InterVideoWinDVR. Морфометричні дослідження проведені за допомогою програм ВидеоТест-5.0, КАРА Image Base та Microsoft Excel на персональному комп'ютері. Достовірною рахували вірогідність похибки менше 5% ( $p < 0,05$ ) [Автандилов, 2002].

### Результати. Обговорення

Після виведення тварин з експерименту на першу добу середнє значення маси селезінки недостовірно збільшується, а на 7 добу зростає 1,13 рази у досягає свого максимуму ( $4,36 \pm 0,14$ ) г. Починаючи з 14 доби середнє значення маси зменшується у 0,94 рази порівняно з попереднім терміном до ( $4,09 \pm 0,11$ ) г і на 21 добу стає меншим у 0,89 рази порівняно з інтактним показником і становить ( $3,45 \pm 0,10$ ) г (таблиця 1). Аналогічна динаміка змін встановлена при визначенні лінійних параметрів органу. Середні величини довжи-

**Таблиця 1.** Динаміка змін масометричного показника та лінійних розмірів селезінки в різні терміни після термічної травми ( $M \pm m$ ).

Показник	Термін досліджу				
	Норма	1 доба	7 доба	14 доба	21 доба
Маса (г)	3,84±0,11	3,89±0,12	4,36±0,14	4,09±0,11	3,45±0,10
Довжина (см)	1,71±0,04	1,82±0,07	2,12±0,05	1,90±0,03	1,51±0,06
Ширина (см)	0,52±0,02	0,53±0,03	0,64±0,03	0,61±0,02	0,40±0,03
Товщина (см)	0,42±0,01	0,41±0,02	0,52±0,02	0,49±0,02	0,36±0,01

**Примітки:** \*  $p < 0,05$  в порівнянні з показниками інтактних тварин, у всіх інших випадках  $p > 0,05$ .

**Таблиця 2.** Динаміка змін співвідношення (%) структурних компонентів селезінки в різні терміни після термічної травми ( $M \pm m$ ).

Показник	Термін досліджу				
	Норма	1 доба	7 доба	14 доба	21 доба
Біла пульпа	21,52±0,85	21,82±0,80	24,32±0,73*	21,01±0,69	19,25±0,57*
Червона пульпа	72,11±1,73	71,74±1,46	68,83±1,38*	70,85±2,07	71,40±1,51
Строма	6,37±0,24	6,44±0,23	6,85±0,25	8,14±0,36*	8,75±0,29*

**Примітки:** \*  $p < 0,05$  в порівнянні з показниками інтактних тварин, у всіх інших випадках  $p > 0,05$ .

ни, ширини та товщини на 1 добу були недостовірно змінені, а на 7 добу вони досягають максимальних достовірних значень збільшуючись у 1,23 рази і становить відповідно (2,12±0,05) см, (0,64±0,03) см, (0,52±0,02) см. З 14 доби досліджу середнє значення лінійних параметрів зменшується відносно попереднього терміну досліджу до (1,90±0,03) см, (0,61±0,02) см, (0,49±0,02) см, а на 21 добу вони достовірно зменшуються у 0,88, 0,76, 0,85 рази в порівнянні з інтактними показниками і становлять відповідно (1,51±0,06) см, (0,40±0,03) см, (0,36±0,01) см (таблиця 1).

Проведені гістологічні дослідження препаратів селезінки тварин показали чітку диференціацію органа на сполучнотканинну строму (капсула, трабекули) та білу і червону пульпу. В стадії шоку на частку білої пульпи припадає (21,82±0,80) %, в стадії ранньої токсемії займає найбільшу частку від загальної площі органа, в порівнянні з інтактними тваринами, зростає у 1,13 рази і займає (24,32±0,73) %, а на 21 добу досягає найменших достовірних значень (19,25±0,57) %, що в 0,89 рази

менше у порівнянні з показником норми.

Морфометричний показник середнього значення площі перетину червоної пульпи на 1 добу досліджу становить (71,74±1,46) %, на 7 добу площа її перетину достовірно зменшується в 0,95 рази і має найменше значення (68,83±1,38) %, а на 21 добу досліджу площа перетину червоної пульпи зменшується в 0,99 рази і становить (71,40±1,51) %. Сполучнотканинний компонент органа має стійку динаміку до збільшення величини площі перетину в порівнянні з інтактними тваринами. В стадії шоку та ранньої токсемії він займає (6,44±0,23) % та (6,85±0,25) % відповідно, на стадіях пізньої токсемії та септикотоксемії величини середньої площі перерізу його достовірно збільшуються у 1,27 та 1,37 рази в порівнянні з інтактними показниками і становить (8,14±0,36) % та (8,75±0,29) % відповідно (табл. 2). Біла пульпа є основною імунною структурою селезінки та має складну анатомічну будову. В ній розрізняють такі нечітко розмежовані зони: периартеріальна лімфоїдна піхва, периартеріальну, мантіїну, маргінальну (краєву) зони та гермінативний центр.

на лімфоїдна піхва, периартеріальну, мантіїну, маргінальну (краєву) зони та гермінативний центр.

Периартеріальна лімфоїдна муфта представлена 2-4 шарами щільно прилягаючих один до одного лімфоцитів, які оточують центральну артерію лімфоїдного вузлика та безпосередньо продовжується в периартеріальну зону. Гермінативний центр лімфоїдного вузлика гістологічно відрізняється меншою, в порівнянні з іншими зонами, щільністю клітин, та оточений по периферії мантіїною зоною і складається, головним чином, з щільно розташованих клітин. Ззовні від периартеріальної лімфоїдної та мантіїної зон знаходиться маргінальна зона, вона відмежовує білу пульпу від червоної пульпи.

Середнє значення площі перетину периартеріальної лімфоїдної піхви в стадії шоку, по відношенню до загальної площі органа становить (2,09±0,07) % а периартеріальної зони (2,13±0,08) %, в стадії ранньої токсемії площі їх перетину збільшуються у 1,08 та 1,15 рази відповідно, в порівнянні з інтактними тваринами, і займають (2,26±0,08) % та (2,44±0,09) %. На 14 добу

**Таблиця 3.** Динаміка змін співвідношення (%) структурних компонентів білої пульпи селезінки в різні терміни після термічної травми ( $M \pm m$ ).

Компоненти білої пульпи	Термін досліджу				
	Норма	1 доба	7 доба	14 доба	21 доба
Мантіїна та маргінальна зони	13,51±0,47	13,80±0,39	15,50±0,49*	13,49±0,37	12,49±0,32*
Гермінативний центр	3,81±0,12	3,80±0,14	4,12±0,17*	3,44±0,09	3,04±0,12*
Периартеріальна лімфоїдна піхва	2,08±0,03	2,09±0,07	2,26±0,08	1,99±0,06	1,71±0,05
Периартеріальна зона	2,12±0,09	2,13±0,08	2,44±0,09*	2,09±0,07	2,01±0,06*

**Примітки:** \*  $p < 0,05$  у порівнянні з показниками інтактних тварин, у всіх інших випадках  $p > 0,05$ .

**Таблиця 4.** Параметри центральної артерії білої пульпи селезінки тварин та коефіцієнт Вогенворта в різні терміни після термічної травми ( $M \pm m$ ).

Параметри центральної артерії	Термін досліджу				
	Норма	1 доба	7 доба	14 доба	21 доба
d <sup>1</sup> (мкм) зовнішній діаметр артерії	13,84±0,61	12,76±0,24	18,74±0,58*	21,66±0,39*	23,18±0,61*
d <sup>2</sup> (мкм) внутрішній діаметр артерії	5,92±0,23	5,67±0,21	5,83±0,13	5,80±0,25	5,71±0,26
Sm (мкм <sup>2</sup> ) площа медії	200,32±21,34	193,14±20,93	350,21±22,48*	566,51±44,62*	713,01±39,23*
Spr (мкм <sup>2</sup> ) площа просвіту	57,51±5,28	55,35±5,73	54,38±4,34	53,51±4,62	52,03±1,69
Коефіцієнт Вогенворта (%)	362,59±22,63	369,38±22,30	703,85±62,50*	1146,98±81,48*	1361,19±50,54*

**Примітки:** \*  $p < 0,05$  в порівнянні з показниками інтактних тварин, у всіх інших випадках  $p > 0,05$ .

середнє значення площі перетину їх зменшується у 0,95 і 0,98 рази, а на 21 добу експерименту середні площі їх перетину досягають найменших достовірних значень в порівнянні з контролем, зменшуючись у 0,82 та 0,94 рази, та становлять (1,71±0,05) % та (2,01±0,06) % (табл. 3).

Морфометричні дослідження встановили, що показник середнього значення площі перетину гермінативного центру лімфоїдних вузликів на 1 добу досліджу становить (3,80±0,14) %, на 7 добу площа її перетину збільшується в 1,08 рази і має найбільше значення (4,12±0,17) %, в порівнянні з інтактними тваринами. Починаючи з 14 доби проведення експерименту, площа перетину гермінативного центру має стійку динаміку до зменшення середніх показників у 0,90 рази і становить (3,44±0,09) %, а на 21 добу досліджу площа перетину його достовірно зменшується у 0,79 рази до (3,04±0,12) % (табл. 3).

Середні площі перетину мантійної та маргінальних зон лімфоїдних вузликів білої пульпи органу на та 7 добу досліджу збільшується у 1,14 рази, в порівнянні з інтактними тваринами, вони займають (15,50±0,49) %. На 14 та 21 добу досліджу величини середньої площі їх перерізу зменшуються у 0,99 та 0,92 рази до (13,49±0,37) % та (12,49±0,32) % відповідно (табл. 3).

Проведені морфометричні дослідження центральної артерії лімфоїдного вузлика селезінки показали, що коефіцієнт Вогенворта на стадії шоку незначно відрізняється від показників інтактних тварин та дорівнює (369,38±22,30) %, а на 7, 14 та 21 доби досліджу достовірно збільшується в 1,31; 3,16 та 3,75 рази за рахунок збільшення зовнішнього діаметру та площі медії і зменшення внутрішнього діаметру і площі просвіту судини і становить (703,85±62,50) %, (1146,98±81,48) %, (1361,19±50,54) % відповідно (табл. 4).

### Список літератури

Сапин М. Р. Иммуная система, стресс и иммунодефицит / М. Р. Сапин, Д. Б. Никитюк - М. : АПП "Джангар", 2000. - 184 с.

Опікова травма та її наслідки / [Козинець Г. П., Слесаренко С. В., Сорочіна О. Ю., Клигуненко О. М., Циганков В. П.]. - Дніпропетровськ, 2008. - С. 20-26.

Клименко Н. А. Морфофункциональное состояние селезёнки в динамике хро-

нического иммунного воспаления / Н. А. Клименко, С. В. Татарко, И. В. Со-рокина // Экспериментальная і клінічна медицина. - 2009. - №1. - С. 35-38.

Нужная Е. К. Особенности динамики органо-метрических показателей селезёнки половозрелых крыс при иммунодефицитном состоянии, вызванном тимэктомией / Нужная Е. К. // Український морфологічний аль-

манах. - 2004. - Т.2, № 1. - С. 59-61.

Гербут А. О. Порівняльна характеристика структурних компонентів білої та червоної пульпи селезінки у статевозрілих білих щурів / А. О. Гербут / Клінічна анатомія та оперативна хірургія. - 2004. - Т. 3, № 3. - С. 43.

Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии / Г. Г. Автандилов - М. : Медицина, 2002. - 240 с.

*Гаврилюк-Скиба Г.О., Волков К.С., Небесна З.М.*

#### ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ МАКРОМЕТРИЧЕСКИХ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЕЛЕЗЁНКИ ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ

**Резюме.** Проведены макрометрические и морфометрические исследования селезенки половозрелых белых крыс-самцов после экспериментальной термической травмы. Установлено, что на 7 день опыта макрометрические и морфометрические показатели имеют наибольшие значения за все время проведенного опыта, на 14 показатели уменьшаются, а на 21 день достигают наименьших величин, что свидетельствует про глубокие деструктивные изменения органа.

**Ключевые слова:** селезенка, морфометрические изменения, термическая травма.

*Havryliuk-Skyba H.O., Volkov K.S., Nebesna Z.M.*

#### THE DYNAMIC OF MACROMETRIC AND MORPHOMETRIC CHANGES OF THE SPLEEN AFTER EXPERIMENTAL THERMAL INJURY

**Summary.** In mature white male rats there has been conducted macrometric and morphometric research of the spleen after experimental thermal injury. It has been defined that on the 7 day macrometric and morphometric parameters most changes, this is confirmed histologically, and shows the development of compensatory-adaptive changes. The parameters have decreased on the 14 day and on the 21 day of the experiment they have reached the lowest levels, what shows that the deep destructive changes in the structural components of the spleen have occurred.

**Key words:** spleen, morphometric changes, thermal injury.

Стаття надійшла до редакції 1.10.2012р.

© Пипа Л.В., Мургіна М.М

УДК: 616.944:577.245-053.2

*Пипа Л.В., Мургіна М.М.*

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра педіатрії факультету післядипломної освіти (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 20018, Україна)

#### ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНУ TNF- $\alpha$ ПРИ ЛОКАЛІЗОВАНИХ І ГЕНЕРАЛІЗОВАНИХ ГНІЙНО-СЕПТИЧНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ У ДІТЕЙ

**Резюме.** В статті наведені дані по вивченню одноалельного поліморфізму гену TNF- $\alpha$ , як предиктора розвитку генералізованих форм гнійно-септичних захворювань у дітей. Було обстежено 27 дітей з генералізованими та локалізованими бактеріальними інфекціями. Визначали поліморфізм промоторної ділянки гену TNF- $\alpha$  в точці 308 (G→A). Виявлено, що атиповий варіант гену TNF- $\alpha$  (308A) є фактором ризику генералізації бактеріальної інфекції.

**Ключові слова:** діти, фактор некрозу пухлин  $\alpha$ , одноалельний поліморфізм.

#### Вступ

Досягнення фармакології та сучасні хірургічні методи дозволили значно покращити наслідки багатьох захворювань, однак кількість гнійно-септичних захворювань та їхнього крайнього прояву - сепсису - постійно зростає [Александрович и др., 2010; Watson et al., 2001; Holmes et al., 2003]. Стабільно високий рівень летальності при септичних станах ставить їх у центрі уваги спеціалістів самих різних спеціальностей [Ісаков, Белобородова, 2001; Волосовець, Кривопустов, 2006]. За останні десятиріччя значно змінилися погляди на патогенез розвитку генералізованої форми гнійно-септичних захворювань - сепсису. Стало очевидним, що в основі патогенезу сепсису лежить запуск цитокінового каскаду, який включає в себе продукцію як прозапальних, так і протизапальних цитокінів. Відомо, що ступінь продукції кожного з медіаторів запалення характеризується вираженою варіабельністю, яка генетично детермінована та обумовлена, зокрема, алельним поліморфізмом генів цитокінів [Westerndorp et al., 1997]. Алельний варіант генів цитокінів, особливо в його промоторній частині, може детермінувати рівень продукції білку, що має особливе значення в умовах патології [Курганова и др., 2007; Wilson et al., 1997]. Фактор не-

крозу пухлини альфа (ФНП- $\alpha$ ) є одним із найкраще вивчених цитокінів. Це білковий цитокін доімунного запалення із вираженою прозапальною активністю і є пусковим медіатором системної запальної відповіді (СЗВ). Він стимулює вивільнення та синтез інших прозапальних медіаторів та володіє прямою цитотоксичною дією на ендотеліальні клітини органів та тканин, що обумовлює його генералізовану дію на організм [Ісаков, Белобородова, 2001; Козлов, 2008].

В багатьох дослідженнях було виявлено, що певні патологічні стани супроводжуються високим вмістом ФНП- $\alpha$  в крові [McGuire et al., 1994; Westerndorp et al., 1997]. Ген ФНП- $\alpha$ , представлений однією копією в 6-тій хромосомі людини, розміщується в головному комплексі гістосумісності (ГКГ) біля локусу HLA-B на  $\approx$  250 кілобаз центрометрично і на 850 кілобаз телеметрично від HLA-DR та належить до генів 3 класу (рис. 1).

Найбільше описаний поліморфізм в промоторній ділянці гену ФНП- $\alpha$  в позиції 308. При типовому варіанті алелі в позиції 308 розміщується гуанін (ФНП- $\alpha$  308 G), в атиповому (дикому) варіанті - аланін (ФНП- $\alpha$  308 A). Дикий варіант в людській популяції зустрічається у близько 30% осіб [Goldstein et al., 2005]. Дослідження