

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТИМУСА СОБАК ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ІМУНОФАНУ

У тимусі цуценят під дією радіонуклідів відбувається зменшення відносної площі паренхіми, в тому числі кіркової речовини, що вказує на прискорення інволютивних процесів. Під впливом сучасного імуностимулюючого препарату імунофану відбувається достовірне збільшення відносної площі кіркової речовини на 6,36% у цуценят з незабрудненої радіонуклідами зони. Тенденція до збільшення відносної площі кіркової речовини спостерігається і у цуценят з зони радіоактивного забруднення з 55,96% до 60,85%, на відміну від показників контрольної групи (68,94%).

Постановка проблеми

Останніми роками в усьому світі зростає зацікавленість у дослідженнях імунних процесів на тканинному рівні. Особливістю гістофізіології імунної системи є висока динамічність: в ній постійно відбуваються процеси проліферації, диференціації, міграції, кооперації та апоптозу лімфоцитів. Гістофізіологічні процеси в імунній системі достатньо автономні, але модулюються під впливом факторів зовнішнього середовища [1, 2].

До екологічно несприятливих чинників оточуючого середовища належать радіонукліди, відходи хімічних і металургійних підприємств, залишки пестицидів і добрив, які викликають зміни природної рівноваги в біосфері та екологічний імунодефіцит [3].

Тому, зважаючи на значне поширення імунодефіцитних станів у людей і тварин, важливим завданням є розробка ефективних засобів корекції та реабілітації пошкоджених або послаблених ланок імунної відповіді [4]. Для підсилення імунного захисту організму використовуються імуностимулятори різних видів. Є оптимістичні дані про використання імуномодуляторів з метою профілактики онкологічних захворювань, зокрема остеосаркоми [5].

Метою роботи було з'ясувати вплив імунофану на морфологічний стан центрального органу імунної системи – тимуса собак із зони радіоактивного забруднення. Для досягнення мети було поставлені наступні **завдання**:

– провести гістологічні дослідження тимуса собак із зони радіоактивного забруднення після введення імунофану;

– провести гістохімічні дослідження тимуса собак із зони радіоактивного забруднення після введення імунофану.

Об'єкти та методика дослідження

Для досліду було сформовано дві групи клінічно здорових 2-місячних собак, які народились та утримувались в зоні гарантованого добровільного відселення (м. Овруч) та території, не віднесеної до зони радіоактивного забруднення (м. Житомир). Співвідношення за статтю становило: самці–саміці 1:1. У кожній групі та підгрупі було по 10 тварин. Перед постановкою та впродовж досліду проводили огляд, аускультацию, перкусію, визначення пульсу, температури та маси тіла [6].

Раціон для годівлі був збалансований і складався з натурального корму згідно з рекомендаціями [7].

У ролі імуностимулятора використовували імунофан, який вводили собакам внутрішньом'язево (1 мл/100 кг).

Для морфологічного і гістохімічного дослідження у 2-місячних собак відбирали тимус. Матеріал фіксували в 10%-му розчині нейтрального формаліну, рідинах Карнуа, Бекера, промивали, зневоднювали та заливали у парафін. З парафінових блоків виготовляли гістологічні зрізи на санному мікротомі МС-2 з товщиною до 10 мкм. Частину зрізів виготовляли на заморожувальному мікротомі МЗ-2. Для вивчення морфології клітин і тканин застосовували фарбування гематоксиліном Ерліха та еозином. Для гістохімічного виявлення, визначення локалізації та інтенсивності реакцій нуклеїнових кислот використовували методи Ейнарсона (1951) та Браше (1942). Загальні білки визначали за методом Шуста (1967), основні і кислі білки – Мікель-Кальво (1957). Для вивчення локалізації загальних ліпідів використовували фарбування суданом чорним В за Мак-Манусом (1946), нейтральних ліпідів – суданом III та IV. Виявлення глікогену здійснювали за методами Беста та Байера [8].

Для дослідження морфометричних показників у органі використовували метод кількісної стереометрії. Для стереометричного аналізу гістоstruktur застосовували стереологічну методику крапкової волюметрії із використанням окулярної морфометричної сітки. Вимірювання мікроструктур виконували за допомогою світлових мікроскопів МБИ-10, “Биолам-Ломо” [8].

Мікрофотографування здійснювали за допомогою мікроскопів МБИ-10 та “Биолам-Ломо”, фотокамери “ЗЕНИТ-122”, фотонасадки МФН-2.

Обробку цифрових даних проводили варіаційно-статистичними методами на персональному комп'ютері з використанням програми “Microsoft Excel” [9].

Результати досліджень

Аналіз результатів наших гістологічних та гістохімічних досліджень свідчить, що гістоархітекtonіка тимуса у тварин із зони радіоактивного

забруднення щодо групи собак з м. Житомира після застосування імунофану майже не змінювалась.

Тимус у всіх випадках мав добре розвинену сполучнотканинну капсулу, від якої відходили трабекули (рис. 1). Останні чітко розмежовували орган на часточки. Паренхіма часточок тимуса була побудована з кіркової (на периферії) та мозкової (у центральній ділянці) речовини. Співвідношення при цьому між строюю і паренхімою у тварин з м. Овруча становило 1:5,26, тоді як у собак з м. Житомира такий показник дорівнював 1:8,22.

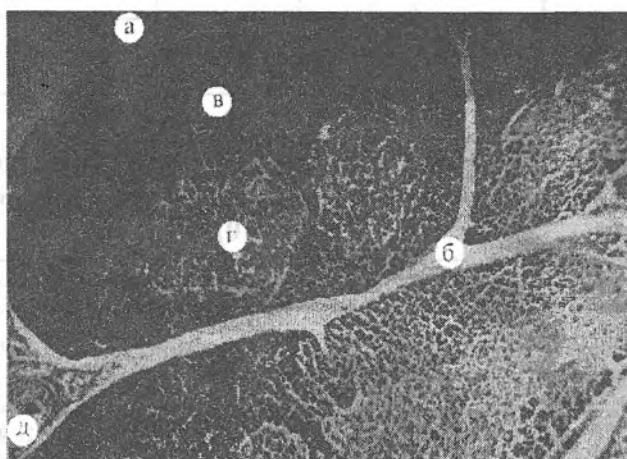


Рис. 1. Мікроскопічна будова тимуса собак із зони радіоактивного

забруднення після застосування імунофану: а – капсула;

б – міжчасточкова сполучна тканина; в – кіркова речовина; г – мозкова речовина; д – судина. Гематоксилін Бомера та еозин. $\times 56$

У тварин із зони радіоактивного забруднення також спостерігали зменшення товщини кіркової речовини часточок та розрідження гістоструктури мозкової речовини. При цьому відбувалось незначне стирання межі між кірковою та мозковою речовинами і збільшення в 1,4 раза відносної площі мозкової речовини до $28,07 \pm 4,68\%$ за рахунок зменшення площі кіркової. Так, відносна площа кіркової речовини у собак, що народились і утримувались в зоні радіоактивного забруднення, достовірно зменшувалась ($P < 0,05$) в 1,23 раза (табл. 1, 2). Гістологічні зміни тимуса під дією радіонуклідів, як правило, спостерігали в кірковій речовині. Вони проявлялися зморщенням окремих часточок, зменшенням кількості лімфоцитів, появою новоутворених тілець Гассала.

Аналіз морфометричних досліджень показав, що після імуностимуляції відносна площа строми у тварин з м. Житомира має тенденцію до зменшення (табл. 1). У цуценят, вирощених в зоні радіоактивного забруднення, після застосування імунофану цей показник також знизився на 2,37% (табл. 2).

Таблиця 1. Морфометричні показники структурних компонентів тимуса собак із м. Житомира після введення імунофану ($M \pm m$, $n=10$)

Групи тварин	Показники						
	відносна площа, %			часточки		тимусні тільца	
	кіркова речовина	мозкова речовина	строма	діаметр, мкм	кількість, шт (об.8, ок. 7)	діаметр, мкм	кількість в одній часточці, шт
до введення препарату	68,94 ± 2,01	20,22 ± 1,56	10,84 ± 1,13	162,68 ± 90,94	2,17 ± 0,77	25,59 ± 5,64	1,68 ± 0,60
після введення імунофану	75,30 ± 2,13*	16,05 ± 1,56	8,65 ± 1,18	157,56 ± 87,53	2,48 ± 0,73	24,57 ± 4,79	1,49 ± 0,54

Примітка: * – $p < 0,05$ Таблиця 2. Морфометричні показники структурних компонентів тимуса собак з зони радіоактивного забруднення після введення імунофану ($M \pm m$, $n=10$)

Групи тварин	Показники						
	відносна площа, %			часточки		тимусні тільца	
	кіркова речовина	мозкова речовина	строма	діаметр, мкм	кількість, шт (об.8, ок. 7)	діаметр, мкм	кількість в одній часточці, шт
до введення препарату	55,96 ± 5,42	28,07 ± 4,68	15,97 ± 2,30	127,14 ± 75,71	1,86 ± 0,99	26,94 ± 10,09	3,81 ± 0,81
після введення імунофану	60,85 ± 4,95	25,55 ± 2,20	13,60 ± 1,94	121,18 ± 40,70	1,71 ± 0,67	26,14 ± 7,81	3,08 ± 1,12

Діаметр часточок тимуса після використання імунофану у цуценят з м. Житомира зменшився на 5,12 мкм та на 5,96 мкм у цуценят із зони радіоактивного забруднення (табл. 1). Відносна площа кіркової речовини зросла відповідно на 6,36% ($p < 0,05$) та на 4,89% (табл. 1 та табл. 2).

Кількість тілець Гассаля та їх діаметр в обох групах тварин дещо зменшилися (табл. 1 та табл. 2).

Аналіз гістохімічних досліджень щодо локалізації та розподілу нуклеїнових кислот, білків, ліпідів і вуглеводів у тимусі собак після застосування імунофану особливих та характерних змін у порівнянні з тваринами, яким не застосовували препарати, не показав. Водночас спостерігали деяке підвищення інтенсивності гістохімічних реакцій на виявлення нуклеїнових кислот та білків (рис. 2).

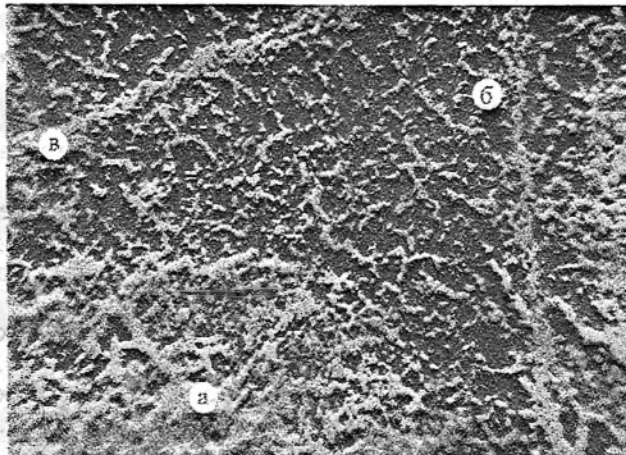


Рис. 2. Розподіл нуклеїнових кислот у тимусі цуценят з м. Житомира після застосування імунофану: а – мозкова речовина; б – кіркова речовина; в – міжчасточкова сполучна тканина. Метод Ейнарсона. $\times 280$

Висновки

1. У тимусі цуценят із зони радіоактивного забруднення відбувалося збільшення відносної площі сполучної тканини, зменшення відносної площі паренхіми, в тому числі кіркової речовини, що вказує на можливе прискорення інволютивних процесів.

2. У собак із зони гарантованого добровільного відселення спостерігалось зменшення інтенсивності гістохімічних реакцій на виявлення РНК та білків, що свідчить про зниження синтезуючої активності клітин тимуса. Водночас застосування імунофану призводить до деякого підвищення інтенсивності відповідних гістохімічних реакцій у тимусі і часткового відновлення синтезуючої активності клітин.

3. У цуценят із зони радіоактивного забруднення під впливом імунофану спостерігається тенденція до збільшення відносної площі кіркової речовини тимуса, у тварин-аналогів з м. Житомира відновна площа кіркової речовини достовірно збільшилася на 6,36%.

Перспективи подальших досліджень

Для мінімізації імунодепресивної дії антропогенних факторів необхідно продовжити пошук препаратів з імуномодельючими властивостями, а для відомих препаратів встановити оптимальні дози.

Література

1. Труфакин В.А., Шурлыгина А.В. Проблемы гистофизиологии иммунной системы // Иммунология. – 2002. – Т. 23. – № 1. – С. 4–8.
2. Boyd J., Tucek C., Gedfrey D. The thymic microenvironment // Immunology today. – 1993. – Vol. 14. – P. 445–449.

3. Клестова З. Здоров'я продуктивних тварин як реалізація їх генетичного статусу // Ветеринарна медицина України. – 1998. – № 2. – С. 34–35.
4. Колесников А.П., Хабаров А.С., Козлов В.А. Диагностика и дифференцированное лечение вторичных иммунодефицитов // Терапевтический архив. – 2001. – № 4. – С. 55–59.
5. Роль системы иммунитета в радиационном поражении организма. Развитие гипотезы / А.А. Иванов, В.Н. Мальцев, А.М. Уланова, Г.А. Шальнова // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2001. – Т. 46. – № 3. – С. 64–78.
6. Пульняшенко П.Р. Анестезиология и реаниматология собак и кошек // Практическое пособие. – К.: Фауна – сервис, 1997. – 192 с.
7. Кінологія: утримання та годівля собак: Навчальний посібник / Бурлака В.А., Степаненко В.М., Павлюк Н.В. та ін. / Під заг. ред. д. с.-г. н., проф. В.А. Бурлаки. – Житомир: Волинь, 2004. – 412 с.
8. Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології. – Житомир: Полісся, 2005. – 288 с.
9. Єріна А.М., Захожай В.Б., Єрін Д.Л. Методологія наукових досліджень: Навчальний посібник. – К.: Центр навчальної літератури, 2004. – 212 с.