

УДК 611.438+611.41+611.428:612.014.482

А.П.Мотуляк

МОРФОЛОГІЧНІ ФЕНОМЕНИ „КВАНТУВАННЯ”, „КЛАСТЕРИЗАЦІЇ” ТА „КОМПАРТМЕНТАЛІЗАЦІЇ” ПРИ РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНОМУ АПОПТОЗІ В ОРГАНАХ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ЮВЕНІЛЬНИХ МИШЕЙ РАДІОЧУТЛИВОЇ ЛІНІЇ BALB/C

Кафедра гістології, цитології та ембріології (зав. – проф. С.Б.Герашенко)
Івано-Франківського державного медичного університету

Резюме. За допомогою методів світлової і трансмісійної електронної мікроскопії вивчали імунологічні аспекти структурної організації селезінки, брижових лімфатичних вузлів і тимуса ювенільних мишей-самців радіочутливої лінії BALB/c після дії низьких доз γ -випромінювання. Встановлено існування своєрідних часових і просторових характеристик загибелі лімфоцитів імунних органів та клітин їх безпосереднього мікрооточення, що свідчить про феномени „квантування”,

„кластеризації” та „компартаменталізації”. Зазначені феномени, у сукупності, відображають істотне неблагополуччя в органах імунної системи – тимусі, брижових лімфатичних вузлах та селезінці мишей, що розвиваються за умов застосованих у експерименті низьких доз іонізуючого випромінювання.

Ключові слова: селезінка, лімфатичні вузли, тимус, апоптоз, радіація.

Вступ. Представляється вельми перспективним вивчення імунологічних аспектів структурної організації центральних та периферійних органів імунної системи, що розвиваються в нормі [1,7] та за умов екзогенної дії таких доз гамма-випромінювання, котрі не викликають безпосередніх патологічних змін в інших системах організму [2,3,10]. У попередніх публікаціях [4] нами представлено переконливі відомості стосовно індукції низькими дозами γ -випромінювання апоптозу клітин (переважно лімфоцитів) у брижових лімфатичних вузлах ювенільних мишей-самців радіочутливої лінії BALB/c у ранньому постнатальному онтогенезі. Водночас вивчення структурних особливостей та феноменів при радіаційно-індукованому апоптозі в комплексі органів імунної системи після дії низьких доз радіації не було предметом спеціальних досліджень.

Мета дослідження. Вивчити морфологічні феномени та особливості структурної організації селезінки, брижових лімфатичних вузлів і тимуса в ювенільних мишей-самців радіочутливої лінії BALB/c після дії одноразового загального зовнішнього γ -випромінювання (у дозах відповідно 0,05Гр і 0,2Гр).

Матеріал і методи. Досліджено селезінку, брижові лімфатичні вузли і тимус 170 ювенільних мишей-самців радіочутливої лінії BALB/c. У віці 6-7 діб після народження піддослідні тварини опромінені на установці Агат-Р1, заряд ^{60}Co , потужність дози 45,9 Р/хв, поле 20х20 см, ВДШ – 1м. 50 тварин підлягали зовнішньому, одноразовому, загальному опроміненню в дозі 0,05Гр (мала) і 50 – у дозі 0,2 Гр (проміжна).

Утримання, догляд за тваринами і усі маніпуляції проводили в чіткій відповідності до положень “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей” (Страсбург, 1985). Евтаназію здійснювали шляхом декапітації. Матеріал від тварин експериментальних груп забирали через 7-10 діб після одноразового опро-

мінення. Окрім цього, тотожний матеріал відбирали в 70 тварин (контроль) аналогічних вікових груп. Забір матеріалу для гістологічного та електронно-мікроскопічного досліджень проводили відразу після декапітації. Для гістологічного дослідження матеріал фіксували в рідині Буена, Карнуа, 70° спирті, а також в 10% нейтралізованому за Ліллі розчині формаліну. Підготовку гістологічного матеріалу та приготування парафінових зрізів виконували за загальновизнаним методом. Гістологічні зрізи товщиною 5 мкм фарбували гематоксиліном та еозином, толуїдиновим синім, азуром А.

Для електронно-мікроскопічного дослідження одержаний матеріал обробляли згідно із загальновизнаними у світовій практиці методами. Після забору зазначений матеріал переносили пастерівською піпеткою у фіксатор Millonig (1% OsO_4 на фосфатному буфері при рН 7.45) на 1 годину. Частину матеріалу фіксували в 2,5% розчині глутаральдегіду на фосфатному буфері. Після дегідратації у спиртах зростаючої концентрації, у суміші спирт-ацетон та абсолютному ацетону тканини заливали епоксидними смолами.

Напівтонкі зрізи, отримані на ультрамікроскопі Tesla, фарбували толуїдиновим синім, вивчали і документували в моторизованому мікроскопі дослідницького класу Olympus BX61 (цифрова камера Olympus DP70). Ультратонкі зрізи контрастували ураніацетатом і цитратом свинцю, досліджували і фотографували в електронному мікроскопі ПЕМ – 125К за умов прискорюючої напруги 75 кВ.

Результати дослідження та їх обговорення. Результати проведених досліджень свідчать про існування своєрідних часових і просторових характеристик загибелі лімфоцитів і клітин досліджуваних імунних органів та клітин їх безпосереднього мікрооточення за умов дії низьких доз гамма-випромінювання, що, у свою чергу, дозволяє стверджувати про феномени „квантування”, „кластеризації” та „компартаменталізації”.

За усіх випадків ми спостерігали „відстрочену” загибель лімфоцитів (та інших клітин), якій передували адекватні структурні зміни самих клітин. Феномен „квантування” проявлявся в тому, що через 6-24 доби після опромінення одні клітини залишалися повністю інтактними, інші проявляли ознаки апоптозу, а треті – навіть некрозу (локально зруйнована цитолема з виходом вмісту в міжклітинний простір). Морфологічними проявами апоптозу клітин, як і за даними літератури [3,8,9], є їх зморщування, зменшення лінійних розмірів. Закономірне ущільнення цитоплазматичного матриксу адекватне при цьому щільності ядерного матриксу. Характерними проявами є особлива, брилчаста конденсація цитоплазматичного матриксу, а також не дуже різко виражена деструкція частини мітохондрій (супроводжується формуванням поодиноких мієліноподібних тіл), розширення каналців гранулярної ендоплазматичної сітки. Гермінативні (реактивні) центри лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки на напівтонких зрізах виглядають суттєво розрідженими (рис.1).

На 7-му добу після тотального опромінення в дозі 0,2Гр у брижових лімфатичних вузлах спо-

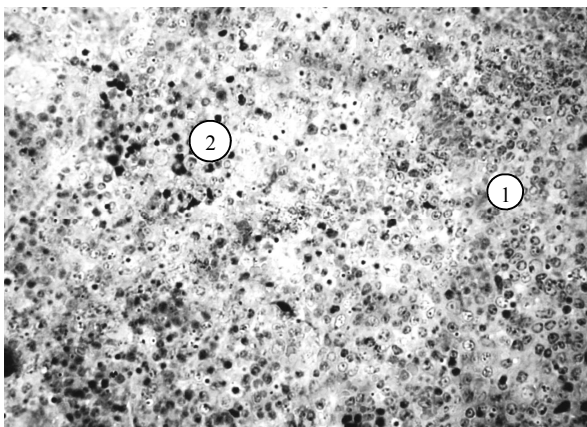


Рис.1. Біла пульпа (1) та її реактивний (гермінативний) центр (2) у селезінці миші через 7 діб після тотального опромінення в дозі 0,2Гр. Напівтонкий зріз. Толуїдиновий синій. Зб.: x 200.

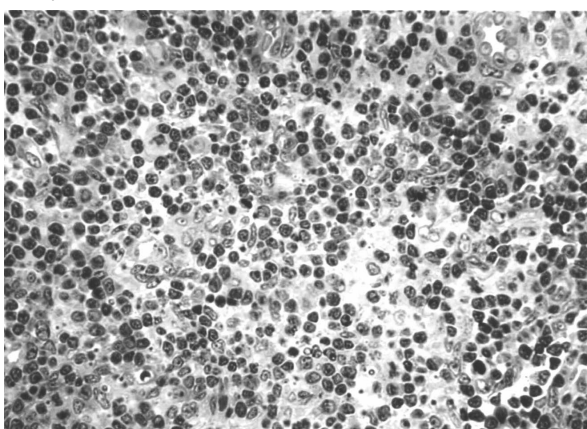


Рис.2. Збільшення кількості лімфоцитів з різко гіперхромними ядрами в брижовому лімфатичному вузлі миші через 7 діб після тотального опромінення в дозі 0,2Гр. Напівтонкий зріз. Толуїдиновий синій. Зб.: x 400.

стерігали зменшення набряку, спадання навколо-вузликкових кіркових синусів, одночасно появу довкола венул макрофагів і обширних груп різко гіперхромних та апоптотичних лімфоцитів. У гістологічних препаратах (напівтонкі зрізи) такі клітини виглядають зменшеними, ущільненими, відмежованими від оточення світлою зоною (рис.2). На великих світлооптичних збільшеннях особливо помітні явища конденсації хроматину довкола каріолеми та ущільнення цитоплазми. З'являються групи апоптотичних тілець, що містять цитоплазматичні і ядерні компоненти. Також ми виявляли чисельні активні макрофаги та фагоцитовані апоптотичні тілця. Особливо масивний характер апоптоз лімфоцитів носить у паракортикальній зоні брижових лімфатичних вузлів. Характерною також є виражена фагоцитарна активність обширних груп паравазальних макрофагів, цитоплазма яких містить рештки апоптотичних тіл. Як відомо, паракортикальна зона – це Т-залежна зона, через посткапілярні венули з високим ендотелієм якої здійснюється міграція рециркулюючих лімфоцитів у паренхіму лімфатичного вузла [4,7].

Також важливо зазначити, що апоптозу підлягають не поодинокі лімфоцити тимуса, а їх поширені групи, що ми характеризуємо як феномен „кластеризації”. Зазначений феномен (в усіх досліджуваних органах) спершу проявлявся поодинокими апоптотичними лімфоцитами, згодом їх угрупованнями. Цікаво, що суттєве підвищення активності апоптозу лімфоцитів і зникнення набряку на тлі посилення трансмуральної міграції (рециркуляції) лімфоцитів у тимусі поєднується із вогнищевим зникненням лімфоцитів (ефект „зоряного неба”) та появою молодих тілець Гас-сала на 7-10-ту добу після опромінення в дозі 0,05-0,2Гр (рис.3). Таким чином, є підстави стверджувати, що в тимусі феномен „кластеризації” носить органоспецифічний характер і реалізується через появу вперше описаних нами на ультраструктурному рівні „кістоподібних структур” [5].

Термін „кістоподібна структура” звичайно є умовним, адже ці структури не мають „капсули”.

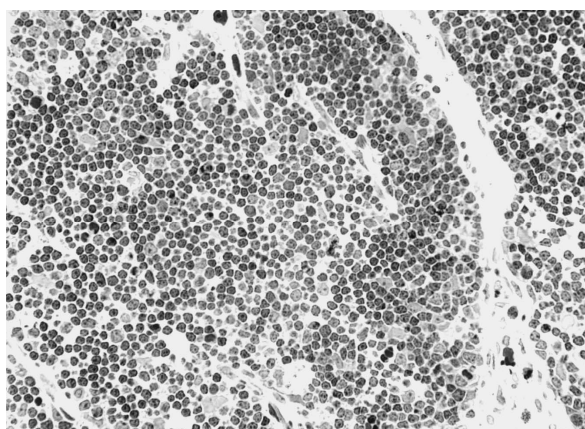


Рис.3. Ефект „зоряного неба” в кірковій речовині тимуса миші через 7 діб після тотального опромінення в дозі 0,05Гр. Напівтонкий зріз. Толуїдиновий синій. Зб.: x 400.

Об'єднані в групи апоптозні тимоцити не підлягають фагоцитозу (у деяких випадках вони навіть не фрагментуються на апоптозні тіла), формують обширні кластери і перебувають в оточенні інтактних тимоцитів чи моношару епітеліоретикулоцитів. На нашу думку, становить інтерес той факт, що найбільш стійкими структурами цих кістоподібних утворів є ядра, клітинні мембрани та мембрани органел. Виявлені нами утвори сягають великих розмірів, однак із деградацією їх вмісту, зменшуються. Зазначені структури, очевидно, формуються тому, що частина апоптозних клітин не підлягає фагоцитозу і перетворюється в клітинний детрит. Чи можливий апоптоз без фагоцитозу? Це запитання скоріше риторичне! І все ж таки, зважаючи на сукупність ознак процес більше нагадує апоптоз хоча б тому, що не прослідковується супутнє запалення.

Збудувати послідовний ланцюг подій при досліджуваному нами радіаційно-індукованому апоптозі в органах імунної системи досить складно, адже це багатокомпонентний процес. Цілком вірогідно, що при дії низьких доз радіації запускається декілька програм реалізації клітинної загибелі [3,9]. Очевидно, в одних клітинах зазначені механізми можуть працювати паралельно, в інших – функціонують переважно одні, в окремих – інші. Одним із матеріальних підтверджень зазначеної думки є описаний нами феномен „квантування” (від латинського „quanto” – наскільки, як, до якого ступеня). Особливо слід підкреслити, що апоптоз лімфоцитів імунних органів поєднується з морфологічними змінами і апоптозом клітин їх безпосереднього мікрооточення – ретикулярними (селезінка, брижові лімфатичні вузли) і епітеліоретикулярними (тимус) клітинами. Отож, описані нами феномени „квантування”, „кластеризації” та „компарменталізації” свідчать про серйозні зрушення міжклітинних взаємодій у мікрорегіонах досліджуваних органів, про взаємний вплив апоптозних лімфоцитів і клітин мікрооточення, неминучим фіналом якого є їх деградація. У контексті цього не виникає сумніву, що зафіксовані нами морфологічні зміни відображають істотне неблагополуччя в органах імунної системи, які розвиваються за умов дії низьких доз гамма-випромінювання.

Висновки

1. Результати дослідження свідчать про існування своєрідних часових і просторових характеристик загибелі лімфоцитів імунних органів та клітин їх мікрооточення за умов дії низьких доз гамма-випромінювання, що свідчить про феномени „квантування”, „кластеризації” та „компарменталізації”.

2. Зафіксовані нами морфологічні зміни відображають істотне неблагополуччя в тимусі, брижових лімфатичних вузлах та селезінці ювенільних мишей радіочутливої лінії BALB/c, що розвиваються за умов застосованих у експерименті низьких (малих) доз іонізуючого випромінювання.

Перспективи наукового пошуку. У плані подальших досліджень становить інтерес вирішення наступних питань:

1) роль лектинового розпізнавання поверхневих структур мігруючих лімфоцитів органів імунної системи в нормі та після дії низьких доз іонізуючого випромінювання;

2) внутрішньоорганне лімфатичне русло імунних органів;

3) взаємний вплив апоптозних лімфоцитів і клітин їх безпосереднього мікрооточення в імунних органах за умов дії малих доз гамма-випромінювання.

Література

1. Долгих В.Т. Основы иммунопатологии. – Н.Новгород: НГМА, 1998. – 208с.
2. Гродзинський Д.М. Радіобіологія. – К.: Либідь, 2000. – 448с.
3. Йегер Л. Структура и функция иммунной системы. Клиническая иммунология и аллергология (в 3-х томах). – М.: Медицина, 1999. – Т.1. – С.17-60.
4. Мотуляк А.П. Апоптоз лімфоцитів у брижових лімфатичних вузлах мишей лінії BALB/c після дії низьких доз радіації // Вісн. проблем біол. і мед. – 2003. – №6. – С.50-53.
5. Мотуляк А.П. До питання про гістогенез кістоподібних структур у тимусі ювенільних мишей після дії іонізуючого випромінювання // Гал. лікар. вісник. – 2001. – Т.8, №4. – С.68-70.
6. Радиочувствительность и мембраны лимфоцитов /Под ред. Афониной Г.Б., Яценко В.П. – К.: НМУ им. О.О.Богомольца, 2001. – 203с.
7. Сапин М.Р., Никитюк Д.Б. Иммунная система, стресс и иммунодефицит. – М.: АПП “Джангар”, 2000. – 184с.
8. Jacobson M.D., Weil M., Raff M.C. Programmed cell death in animal development // Cell. – 1997. – Vol.88. – P.347-354.
9. When cells die: A comprehensive evaluation of apoptosis and programmed cell death / Ed. R.A.Lockshin, Z.Zakeri, J.L.Tilly. – NY: Wiley-Liss, 1998. – 504p.
10. Zeiss C.J. The apoptosis-necrosis continuum: insights from genetically altered mice // Vet. Pathol. – 2003. – Vol.40, N5. – P.481-495.

MORPHOLOGICAL PHENOMENA OF "QUANTIZATION", "CLUSTERIZATION" AND "COMPARTMENTALIZATION" WITH RADIATION-INDUCED APOPTOSIS IN THE ORGANS OF THE IMMUNE SYSTEM OF JUVENILE MICE OF THE RADIOSENSITIVE BALB/C LINE*A.P.Motuliak*

Abstract. The immunobiological aspects of the structural organization of the spleen, mesenteric lymphatic nodes and thymus of juvenile male rats of the radiosensitive BALB/c line were studied by means of the methods of light and transmission electron microscopy after low doses of γ -radiation. The existence of distinctive time and space characteristics of the destruction of lymphocytes of the immune organs and cells of their immediate microsurrounding was established, the latter being indicative of the phenomenon of "quantization", "clusterization" and "compartmentalization". The said phenomena, in total, reflect a considerable trouble in the organs of the immune system – the thymus, mesenteric lymphatic nodes and spleen of mice that develop under conditions of used low doses of ionizing radiation in an experiment.

Key words: spleen, lymphatic nodules, thymus, apoptosis, radiation.

State Medical University (Ivano-Frankivsk)

Buk. Med. Herald. – 2006. – Vol.10, №3. – P.113-116

Надійшла до редакції 6.06.2006 року

УДК 616.61-06:546.4/.5+616.45-001.1/3

*В.П.Пішак, О.І.Петришен***ІОНОРЕГУЛЮВАЛЬНА ФУНКЦІЯ НИРОК, ЩО ЗАЗНАЛИ
МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН ЗА ПОЄДНАНОЇ ДІЇ СОЛЕЙ АЛЮМІНІЮ,
СВИНЦЮ ТА СТРЕСУ НА ФОНІ ГІПОФУНКЦІЇ ШИШКОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ**

Кафедра медичної біології, генетики та гістології (зав. – чл.-кор. АПН України, проф. В.П.Пішак)
Буковинського державного медичного університету, м.Чернівці

Резюме. В експериментальних дослідженнях на статевозрілих білих щурах-самцях досліджено іонорегулювальну функцію нирок, що зазнали поєднаного впливу солей алюмінію, свинцю та іммобілізаційного стресу на фоні гіпофункції шишкоподібної залози.

Ключові слова: алюмінію хлорид, свинцю хлорид, іммобілізаційний стрес, нирка, шишкоподібна залоза, гіпофункція.

Вступ. Антропогенне забруднення навколишнього середовища, у тому числі солями різноманітних металів, призвело до виділення нової групи захворювань – мікроелементози [3]. Найбільш поширеними металами, що викликають морфологічні та функціональні зміни в нирках, є алюміній та свинець за рахунок кумулятивного ефекту [3,6]. Слід враховувати, що при пероральному надходженні ксенобіотиків, першочергово ці метали потрапляють до печінки і там накопичуються, а потім проходить їх перерозподіл в інші органи, викликаючи морфологічні та функціональні порушення.

Сучасний темп науково-технічного прогресу примушує суспільство зазнавати зростаючого стресорного стану [7]. З кожним роком збільшуються психоемоційні навантаження, людині все частіше приходится працювати в екстремальних виробничих, кліматичних, географічних умовах, що пов'язані з психоемоційними перевантаженнями. У відповідь на це адаптаційно-компенсаторні системи організму для стабілізації основних гомеостатичних параметрів функціонують у високому та напруженому режимі [1]. При тривалому впливі стресорного фактору відбувається виснаження компенсаторних резервів організму, що призводить до зриву адаптації та вини-

кнення патологічних змін. Основою розвитку патологічних станів при стресі є тривалий вплив гормонів, які беруть участь у формуванні стресової реакції і викликають порушення в обміні ліпідів, вуглеводів та електролітів [5,8]. Як наслідок, це зумовлює низку патологічних процесів та порушення функціонування органів і систем органів, які підтримують сталість внутрішнього середовища організму [9].

Набуває актуальності вивчення проблеми механізмів розвитку патологічних змін, реакцію структур нирки, їх проліферативну активність у відповідь на хронічну алюмінієво-свинцеву інтоксикацію організму під час стресу та зміні добового ритму [2,4,8].

Мета дослідження. Дослідити поєднаний вплив солей алюмінію, свинцю та стресу на структуру та іонорегулювальну функцію нирок за умов гіпофункції шишкоподібної залози.

Матеріал і методи. Експериментальні дослідження проведено на статевозрілих самцях білих щурів (n=40), масою 150-180 г, які утримувалися в умовах віварію при сталій температурі та вологості повітря з вільним доступом до води та їжі. У ході експерименту вели спостереження за зовнішнім виглядом, поведінкою, масою тіла тварин. Тварин розподіляли на 4 групи по 10 особин