

біотестах спостережуваний ефект завжди залежить від індивідуальної чутливості біологічних об'єктів не тільки до ентеротоксинів, але і до інших умов проведення досліду. Ці тести неможливо застосовувати безпосередньо в зонах масових шлунково-кишкових захворювань, вони є трудомісткими, дорогими, важковідтворюваними, часто неспецифічними, недостатньо чутливими, а більшість із них не відповідає етичним нормам щодо тварин.

Використання існуючих серологічних методів потребує тривалого часу (24–48 год), що призводить до запізнення результатів лабораторної діагностики колібактеріозу, тимчасом як перевага запропонованого способу — швидкість проведення реакції (5–10 хв).

Виявлення генів ST- і LT-ентеротоксинів за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) не є показником вірулентності *E. coli*. Тільки індикація продуктів експресії цих генів — об'єктивний доказ етіологічної ролі *E. coli* при колібактеріозі. Розроблений латексний діагностикум на основі антитіл до кон'югату ентеротоксинів саме дозволяє ефективно проводити цю індикацію.

Висновки

Розроблений високоефективний латексний антитільний діагностикум для прижиттєвої і посмертної індикації ентеротоксигенних *Escherichia coli* при діагностиці колібактеріозу, визначена частота зустрічальності штамів-продуцентів термостабільного і термолабільного ентеротоксинів, а також концентрація токсинів у фекаліях хворих і вмісті кишечника загиблих телят.

Різниця в кількості позитивних проб діагностикумів на основі антитоксинів у дослідних і контрольних групах була високовірогідною ($P < 0,05$).

Контроль антигену був позитивним у 100 % випадків (титр 1:64), а контроль діагностикума на основі антитіл нормальної сироватки крові биків — негативним.

Перевагою методу є швидкість проведення реакції (5–10 хв), а також можливість тривалого зберігання діагностикума.

Наступний етап роботи передбачає розробку оптимальних алгоритмів застосування латексного діагностикума для поліпшення технологічності, підвищення ефективності та зменшення вартості діагностичних досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Липин А. В. Диспепсія телят / А. В. Липин // Ветеринарный консультант. — 2002. — № 15. — С. 6–7.

2. Ломако Ю. В. Эпизоотический мониторинг колибактериоза новорожденных телят в Республике Беларусь / Ю. В. Ломако, Н. Н. Андросик // Ветеринарная медицина Беларуси. — 2002. — № 2. — С. 15–17.

3. Олійник Л. В. Розповсюдження ешерихій та оцінка їх патогенного потенціалу / Л. В. Олійник // Ветеринарна медицина : міжвід. тематичний наук. зб. — Х., 2004. — № 83. — С. 167–170.

4. Prevalence of Toxin Types and Colonization Factors in Enterotoxigenic *Escherichia coli* Isolated during a 2-Year Period from Diarrheal Patients in Bangladesh / F. Qadri, S. Kumar Das, A. S. G. Faruque [et al.] // J. Clin. Microbiol. — 2000. — January. — Vol. 38 (1). — P. 27–31.

5. Пат. 22298 Україна, А61К 39/108. Спосіб біотестування штамів *Escherichia coli*, продукуючих термостабільний (ST) ентеротоксин / Сухарев Ю. С. ; заявл. 02.10.2006; опубл. 25.04.2007, Бюл. № 5. — С. 3.

6. Сухарев Ю. С. Выделение гаптенспецифических антител с помощью иммуносорбента на основе энтеротоксинов *E. coli* / Сухарев Ю. С. // Ветеринарна медицина : міжвід. тематичний наук. зб. — Х., 2007. — Вип. 88. — С. 248–251.

7. Пат. 30128 Україна, А61К 39/108. Спосіб виготовлення гіперімунної антитоксичної сироватки крові до кон'югату термостабільного і термолабільного ентеротоксинів *E. coli* / Сухарев Ю. С. ; заявл. 06.11.2007; опубл. 11.02.2008, Бюл. № 3. — С. 3.

УДК 611.41:611.16:573.7-017.6

О. Л. Холодкова, А. П. Марасич, Н. В. Нескоромна

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ БІЛОЇ ПУЛЬПИ СЕЛЕЗІНКИ ТА ЇЇ ГЕМОМІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА В ОНТОГЕНЕЗІ

Одеський національний медичний університет

Незважаючи на те, що селезінка не належить до життєво важливих органів, її роль в імунній системі людини посідає особливе місце як периферична лімфоїдна морфо-

функціональна одиниця, яка має тісні анатомічні зв'язки з кровоносною системою завдяки продукції та секреції безлічі клітинних медіаторів. У зв'язку з такою функцією в організ-

мі людини саме селезінці належить важлива роль у здійсненні імунного контролю у відношенні антигенів, що можуть потрапити у кров [3]. Така спільність механізмів основних



регуляторних систем організму стимулює бурхливий розвиток досліджень у цій галузі науки. Функція периферичних лімфоїдних структур селезінки на різних етапах онтогенезу визначається взаємовідносинами вищеперерахованих структур органа та його гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР). Останнім часом усе більше уваги приділяється вивченню судинного русла білої пульпи селезінки. Цьому питанню присвячено багато фундаментальних робіт, у яких відображуються загальні закономірності, що характеризують зміни різноманітних ланок гемомікроциркуляторного русла на різних етапах онтогенезу і при різних станах організму [1; 2; 4].

Одним із недостатньо вивчених компонентів мікроциркуляторного русла є артеріальна ланка та її взаємовідношення із структурно-функціональними зонами білої пульпи селезінки — лімфоїдними вузликами та періартеріальними лімфоїдними муфтами (ПАЛМ) [5–7].

Водночас залишається нез'ясованою низка питань щодо рівня капілярного кровообігу в структурно-функціональних зонах білої пульпи селезінки, не встановлена закономірність взаємодії між розмірами ПАЛМ і розташованих довкола них судин; не вивчена залежність динаміки рухливості популяцій Т-лімфоцитів від стану артеріального русла сполучнотканинної строми в різні вікові періоди, не виявлені етапи інволютивних змін структурно-функціональних зон білої пульпи селезінки в онтогенезі [8].

Метою проведеного дослідження було вивчення закономірностей морфофункціональних особливостей будови білої пульпи селезінки та її ГМЦР у людей різних вікових груп.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальне дослідження проведене на селезін-

ках людей (125 об'єктів) різних вікових груп. Морфофункціональні дослідження проводилися на свіжих і бальзамованих селезінках від трупів людей різних вікових періодів, від антенатального до довгожителів. Матеріал був розподілений за групами згідно з рекомендаціями Симпозіуму з вікової морфології, фізіології і біохімії НАМН України.

Антенатальний період вивчався починаючи з 4 міс. внутрішньоутробного розвитку, через те, що до кінця 4-го місяця великі судини селезінки добре диференційовані та продовжується активний органогенез.

Селезінку фіксували в 10 % нейтральному формаліні, рідині Буена, розчині формалін-сахарози.

Для диференціювання клітинних елементів і отримання загальної картини препарати забарвлювали гематоксилін-еозином, для вивчення елементів ГМЦР застосовувалась імпрегнація сріблом за методикою Купріянова. Для виявлення протеогліканів використовувалась ШИК-реакція з паралельним контролем амілазою.

Глюкозаміноглікани виявлялися фарбуванням альціановим синім при рН 0,5–1,0; 2,2–2,8. Для контролю використовували гіалуронідазу та грипозну вакцину. Популяцію Т-лімфоцитів у ПАЛМ визначали методами виявлення альфанафтилацетатестерази в парафінових зрізах, субпопуляцію Т-супресорів — за допомогою тесту Блюгера.

Морфометрію діаметра внутрішнього просвіту, товщини стінки судин, лімфоїдних вузликів проводили окуляр-мікрометром. Судини артеріального типу диференціювали за будовою стінки. Калібр слугував морфологічним критерієм для оцінки функціонального стану: не функціонуючі (у фазі відпочинку) — це капіляри з діаметром 3,0 мкм і менше, активно

функціонуючі — 7,0 мкм і більше, а також капіляри, які мають проміжне напівфункціональне положення, — плазматичні капіляри з діаметром 4–5 мкм. Клітинний склад лімфоїдних вузликів і ПАЛМ, а також щільність розподілення лімфоїдних клітин і судин визначали за допомогою морфометричної сітки різної площі за методом С. Б. Стефанова [4].

Отримані дані оброблювали математичними методами статистичного аналізу з використанням стандартного пакета даних Statistica.

Результати дослідження та їх обговорення

В антенатальному періоді до кінця I половини у селезінці, що розвивається, добре візуалізується сітка артеріальних судин. Довкола окремих судин формуються остови лімфоїдних вузликів. Формування вузликів відбувається нерівномірно, трапляються як маленькі, так і відносно великі лімфоїдні вузлики. З 20-го тижня внутрішньоутробного розвитку відмічається посилення диференціювання лімфоцитів, які заповнюють ретикулярний остов білої пульпи селезінки. Лімфоїдні вузлики досить одноманітні за клітинним складом. Довкола артерій з діаметром 15–20 мкм починають формуватися ПАЛМ у вигляді концентрично розташованих скупчень лімфоцитів. У найбільш великих лімфоїдних вузликах артерії починають займати ексцентричне положення і давати початок поодиноким капілярам, не формуючи поки що єдиної капілярної сітки. У цей же час кількість структурно організованої білої пульпи в лімфоїдних вузликах і ПАЛМ неухильно зростає. З цими процесами тісно пов'язані ріст і довершення внутрішньоорганного кровообігу в селезінці.

У процесі подальшого росту ПАЛМ в основній речовині стінки артерій відмічається



нагромадження гіалуронової кислоти, а пізніше — сульфатованих глікозаміногліканів. Нагромадження нейтральних глікопротеїнів супроводжує структурне становлення стінки судин протягом усього антенатального періоду. В ПАЛМ активність альфанафтилацетат-естерази виявляється в $(45,0 \pm 0,5)$ % клітин, тимчасом як $(15,3 \pm 3,0)$ % становить популяція Т-супресорів.

У структурі селезінки новонароджених біла пульпа вже має всі характерні для неї ознаки будови. Лімфоїдні вузлики частіше розташовані під капсульними відділами паренхіми, овальної форми, але центри розмноження ще відсутні, маргінальна зона помітна не досить чітко. Ретикулярні волокна по верхній оболонці артерій білої пульпи та строма лімфоїдних вузликів формують єдину систему; ПАЛМ складаються з 3–5 шарів, враховуючи переважно малі лімфоцити, щільність їх розташування невелика. Стінка артерій диференційована на 3 оболонки, добре сформовані внутрішня еластична мембрана й ендотелій. Частина артерій займає центральне положення щодо лімфоїдного вузлика, решта розташовані ексцентрично. Кількість капілярів за умовною одиницею площі приблизно однакова як для Т-залежної, так і тимуснезалежної зони. У стінці судин (середньої оболонки) спостерігається незначна альціанофілія, яка знижується за умов ферментного гідролізу, що свідчить про наявність незначної кількості гіалуронової кислоти, а також хондроїтин-сірчаної А і С кислот. Активність альфанафтилацетат-естерази виявляється в $(45,0 \pm 5,0)$ % клітин, тимчасом як $(17,8 \pm 5,0)$ % становлять Т-супресори.

У грудних дітей спостерігається тенденція до збільшення відносної площі білої пульпи селезінки. Лімфоїдні вузлики розташовані відносно рівно-

мірно, вони збільшуються в розмірах, іноді зливаються один з одним. Товщина стінки артерій має тенденцію до зростання, капілярне русло в Т-залежній зоні різко зростає.

Ранній дитячий вік характеризується максимальним розвитком відносної площі білої пульпи селезінки. Форма вузликів кругла й овальна, розміри максимальні, основна їх маса утримує «світлі» центри. Маргінальна зона виражена чіткіше; ПАЛМ зберігають тенденцію до росту, відрізняючись високою щільністю розташування лімфоцитів. Розвиток лімфоїдної тканини відбувається паралельно з ускладненням будови стінки артерій, посилюється формування капілярної сітки, особливо в тимусзалежній зоні. Стінки артерій знаходяться у функціонуючому стані з діаметром $(10,0 \pm 0,3)$ мкм. У ПАЛМ популяції Т-клітин зростають і становлять $(52,5 \pm 5,0)$ %, Т-супресори також зростають — до $(25,5 \pm 3,0)$ %.

У I періоді дитячого віку відмічається деяке зниження відносної площі білої пульпи, лімфоїдні вузлики збільшуються, мають центри розмноження та виразний мантийний шар. Таким вузликам відповідають артерії з приблизно однаковим діаметром внутрішнього просвіту і товщиною стінки; ПАЛМ характеризуються високою щільністю розташування лімфоцитів, кількість шарів також збільшується. Майже усі артерії білої пульпи розташовані ексцентрично щодо лімфоїдного вузлика. Капілярне русло в тимуснезалежній зоні має тенденцію до росту, у самому ж вузлику виявляються капіляри різного діаметра — від спастичних до функціонуючих, трапляються також капіляри «плазматичного» типу.

В II періоді дитинства вищеперелічені тенденції зберігаються: відносна площа білої пульпи зменшується, як і кількість центрів розмноження, у-

ворення нових вузликів зменшується. Т-зони продовжують зберігати свою тенденцію до росту, діаметр їх збільшується. Ідентифікується скупчення лімфоцитів у межах 5–6 шарів — в цілому, це малі та середні лімфоцити. Кількість капілярів ПАЛМ продовжує збільшуватись. Як і раніше, атрофія лімфоїдних вузликів супроводжується змінами судин, які в них проходять. Облітерація капілярного русла атрофуючого лімфоїдного вузлика може супроводжуватися гіалінозом, а волокниста строма — брати участь у рості трабекул.

Гістохімічна характеристика здебільшого аналогічна картині попереднього періоду, але у міжклітинній рідині судинної стінки артерій вміст глікозаміногліканів знижується.

У підлітків зміни структурно-функціональних зон селезінки та її артеріального русла лише в деяких деталях відрізняються від попереднього періоду: лише волокниста строма лімфоїдних вузликів стає більш грубою; ПАЛМ містять 6–8 шарів лімфоцитів — середніх і малих; стінка артерій білої пульпи продовжує стовщуватися. У ПАЛМ популяції Т-клітин зростають і дорівнюють $(56,7 \pm 5,0)$ %, Т-супресори також зростають — до $(26,5 \pm 3,0)$ %.

У юнацькому віці відмічається деяка тенденція до збільшення об'єму білої пульпи. Лімфоїдні вузлики великі та малі за розмірами, ще зберігають центри розмноження. Тимусзалежні зони зберігають кількість шарів, але щільність розташування у них лімфоцитів зменшується. Товщина стінки артерій продовжує зростати, капілярне русло ПАЛМ і лімфоїдних вузликів починає залучатись у деструктивний процес.

Зрілий вік характеризується тим, що всі процеси диференціювання білої пульпи й її судинного русла знижуються. Лімфоїдні вузлики більше не



мають центрів розмноження, вони округлої форми, межі їх виражені нечітко; ПАЛМ зменшуються за кількістю і щільністю розташування лімфоцитів. Товщина стінки артерій білої пульпи продовжує зростати, у капілярному руслі тривають деструктивні зміни, тобто їх стан характеризується як не функціонуючий. Посилюються процеси склерозу та гіалінозу артерій, що підтверджується низкою гістохімічних реакцій. Капіляри білої пульпи поступово порожніють, стаючи переважно «плазматичного» типу.

У похилому та старечому віці відносна площа білої пульпи продовжує зменшуватися, лімфоїдні вузлики вже не мають чітких меж, являють собою дифузні скупчення лімфоїдної тканини. Складно диференціювати структурно-функціональні зони білої пульпи і шари стінки артерій. Шар стінки артерій практично виявити неможливо, кількість капілярів різко зменшується. Значно зменшується популяція Т-клітин у ПАЛМ, особливо субпопуляція Т-супресорів — до $(10,5 \pm 3,0) \%$.

Таким чином, у результаті проведеного дослідження можна виявити кілька періодів у розвитку структур білої пульпи селезінки:

— етап формування структурно-функціональних зон білої пульпи (20–40 тиж. внутрішньоутробного розвитку);

— етап розвитку (від моменту народження до I періоду дитинства);

— етап становлення (I період дитинства — I період зрілого віку);

— етап інволюційних змін (II період зрілого віку — старечий вік).

Також встановлені закономірність і взаємозв'язок між структурами білої пульпи селезінки та рівнями її артеріального кровопостачання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бобрик *И. И.* Развитие кровеносных и лимфатических сосудов / *И. И. Бобрик, Е. А. Шевченко, В. Г. Черкасов.* — К., Здоров'я, 2005. — С. 207.

2. Сорокин *А. П.* Клиническая морфология селезенки / *А. П. Сорокин, Н. Я. Полянкин, Я. И. Федонюк.* — М., 1989. — 231 с.

3. Моталов *В. Г.* Структурно-функциональная характеристика и зако-

номерности морфогенеза селезенки человека в постнатальном онтогенезе : дис. ... д-ра мед. наук / *В. Г. Моталов.* — М., 2002. — С. 263–293.

4. Сапин *М. Р.* Иммунная система человека / *М. Р. Сапин, Л. Е. Этинген.* — М. : Медицина, 1996. — 304 с.

5. Сапин *М. Р.* Иммунная система, стресс и иммунодефицит / *М. Р. Сапин, Д. Б. Никитюк.* — М. : АЛЛ «Джангар», 2000. — С. 184.

6. Решетилов *В. И.* Морфометрическая характеристика сосудов Т-зон селезенки и лимфоидных фолликулов матки человека некоторых возрастных периодов (васкулярная и нейрогуморальная регуляция паренхиматозных, трубчатых органов и реконструктивные операции на них) / *В. И. Решетилов, Е. В. Артюх, А. П. Марасич* : обл. науч.-практ. конф. морфологов : тез. докл. — Днепропетровск, 1986. — С. 37–38.

7. Щербаков *М. С.* Особенности морфогенеза печени, надпочечников и селезенки крыс в раннем постнатальном периоде онтогенеза / *М. С. Щербаков, О. А. Новоселова, М. Б. Вовченко* // Актуальні питання морфології : міжнар. конф. : матеріали. — Тернопіль, 1996. — С. 475–477.

8. Принципы симметрии и асимметрии в строении органов лимфоидной системы / *Н. А. Волошин, Е. В. Артюх, М. Е. Иванов* [и др.] // Принципы пропорції, симетрії, структурної гармонії та математичного моделювання в морфології. — Вінниця, 1997. — С. 38.

