

Образование активных форм кислорода является неотъемлемым атрибутом функционирования живых клеток в организмах человека и животных. В условиях развития воспаления вклад в продукцию активных форм кислорода может давать "дыхательный взрыв" лейкоцитов. Усиливают процессы трансформации активных форм кислорода ионы металлов переменной валентности. Такая предполагаемая общая схема генерации активных форм кислорода согласуется с наличием в клетках семенников указанных структур и ферментов, но требует дальнейших экспериментальных исследований. Проведено изучение изменения продукции активных форм кислорода в семенниках белых крыс в результате действия на организм отработанного моторного масла. Установлено, что в динамике продолжительного влияния моторного масла на организм белых крыс в тканях семенников отмечается прогрессирующее увеличение продукции супероксидного анион-радикала митохондриальной электроно-транспортной цепью. Увеличение продукции супероксида митохондриальной электроно-транспортной цепью в семенниках ограничивается четким временным промежутком на 60 сутки после начала ведения белым крысам отработанного моторного масла. Продукция супероксидного анион-радикала НАДФН-оксидазой лейкоцитов в тканях семенников белых крыс при условии введения отработанного моторного масла проявляет определенную фазность: на 14-30 сутки – существенно увеличивается, на 90 сутки – уменьшается.

**Ключевые слова:** супероксидный анион-радикал, антиоксидантные ферменты, семенники, отработанное моторное масло.

Стаття надійшла 13.03.2015 р.

Generation of reactive oxygen species ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ , OH, NO,  $Ro_2$  etc.) is an integral part of functioning of living cells in human and animal bodies. Where inflammation develops, a contribution to reactive oxygen species generation might lead to a "respiratory explosion" of white blood cells. The processes of reactive oxygen species transformation are intensified by multiple valence metal ions. Such general scheme of reactive oxygen species generation is consistent with the availability of the said structures and enzymes in testis cells, but requires further experimental research. We have studied the change in generation of reactive oxygen species in white rats' testis at the time their bodies were affected by used engine oil. We found that over time, in case of long-term effect of used engine oil on the body of white rats, the amount of superoxide anion radical generated in testis tissues through mitochondrial electron transport chain is growing. The increased generation of superoxide in testis through microsomal electron transport chain is time-constrained and is observed on the 60th day after the commencement of giving used engine oil to rats by injection. Superoxide anion radical generation by leukocyte NADPH oxidase in white rats' testis tissues on condition of used engine oil injection demonstrates certain phasicity: it increases considerably on 14th-30th day and reduces on the 90th day.

**Key words:** superoxide anion radical, antioxidant enzymes, testicles, used motor oil.

Рецензент Костенко В.О.

УДК 611.41+616-092.9]:615.375

Е. А. Стаценко, О. А. Шерстюк, О. А. Тихонова, Г. Ф. Дейнега  
ВГУЗ Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава

### УЛЬТРАСТРУКТУРА СЕЛЕЗЕНКИ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ГИДРОКОРТИЗОНА

Исследование проведено на 12 половозрелых крысах-самцах. С помощью ультрамикроскопического исследования были определены образования паренхимы селезенки после введения гидрокортизона. Значительные отличия от интактных животных были выявлены на 7 сутки исследования: уменьшение количества митозов, сужение цистерн ЭПС, разрастание коллагеновых волокон. Наиболее выраженные изменения происходили в структуре герминативных центров и мантийной зоны белой пульпы селезенки. Описанные изменения могут свидетельствовать о снижении синтетических процессов в клетке, снижении ее функциональной активности, что происходит под воздействием гормона коркового вещества надпочечников – гидрокортизона.

**Ключевые слова:** селезенка, лимфоциты, ультраструктура.

*Работа является фрагментом НИР ВГУЗ Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия» (государственный регистрационный номер 0111U004878).*

В настоящее время широкое распространение на Украине получили иммунодефицитные состояния как вторичной, так и первичной этиологии. Вероятнее всего это связано с рядом социальных и медицинских причин [2, 4, 5]. Одной из таких причин является широкое применение глюкокортикоидов, которые наряду с противовоспалительным и рядом других положительных эффектов, обладают иммунодепрессивным действием [1, 3]. Селезёнка, относящаяся к вторичным органам иммуногенеза, обеспечивает активный контакт иммунокомпетентных клеток с антигенами крови, транзитом проходящей через орган [2, 4]. Многие современные исследования посвящены изучению строения селезенки при влиянии на организм различных лекарственных веществ, однако в литературе практически отсутствуют сведения о влиянии глюкокортикоидов на морфогенез селезёнки. Необходимо отметить, что ранее были опубликованы работы по изучению ультраструктуры селезенки интактных животных [4], а также при влиянии на орган иммуностимуляторов [2]. Настоящая работа посвящена изучению изменениям ультраструктуры селезенки половозрелых крыс при введении им гидрокортизона.

**Целью** работы было определение на электронно-микроскопическом уровне структуры селезенки крыс-самцов при введении им гидрокортизона.

**Материал и методы исследования.** Объектом исследования послужили 12 беспородных белых крыс-самцов репродуктивного возраста со средней массой  $136,25 \pm 0,11$  г. Экспериментальный эффект достигался путем внутримышечного введения животным группы гидрокортизона ацетата ежедневно в дозе 3,175 мг/кг/ на протяжении соответствующего срока эксперимента, который составил 7 суток, после чего животные выводились из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом. Работу с животными проводили в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных». Немедленно, после извлечения из брюшной полости селезенки она рассекалась на кусочки размером 1 мм<sup>3</sup> который погружали в фиксирующий раствор глутарового альдегида по Тарновскому на 24 часа. Затем материал перекладывали в 1% тетраоксид осмия по Палладе на 1 час. После дегидратации в этаноле возрастающей концентрации и абсолютном ацетоне, материал заливали смесью эпоксидных смол (эпон, аралдит). Полимеризацию проводили в течение 36 часов при 60°C. Ультратонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме УМТП-4. Контрастирование осуществляли в растворе уранилацетата и цитрате свинца по Рейнольдсу и просматривали в электронном микроскопе.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Белая пульпа селезенки животных репродуктивного возраста представлена лимфоидными узелками в которых определяются несколько зон, представленных скоплением различных клеток (лимфоцитов, макрофагов, дендритных и ретикулярных клеток). В центре лимфатических узелков проходит артериола вокруг которой определяется периаfterиальная зона представленная периаfterиальной лимфоидной муфтой в которой находится скопление лимфоцитов расположенных вокруг артериолы проходящей в пульпе селезенки вплоть до последних порядков их ветвления. Несколько эксцентричнее от периаfterиальной зоны находится герминативный центр который окружен мантийной зоной, которая напоминает «корону». Самая наружная зона находящаяся на границе белой и красной пульпы – маргинальная зона.

Производя ультрамикроскопическое исследование на 7 сутки у половозрелых крыс, получавших на протяжении всего срока исследования гидрокортизон, мы отметили значительные отличия от контроля. Наиболее выраженные изменения наблюдались в структуре герминативных центров, мантийной зоны, а периаfterиальная зона, маргинальная зона и красная пульпа оставались практически неизменными. При исследовании белой пульпы селезенки на электронно-микроскопическом уровне в периаfterиальной зоне выявлены лимфоциты, эритроциты и отростки ретикулярных клеток. Плазмолемма лимфоцитов данной зоны имеет неровные контуры. Ядра у лимфоцитов крупные с узкой полоской гетерохроматина вдоль кариолеммы. Ядерная оболочка образует многочисленные выросты и инвагинации. Цитоплазма светлая с размытыми органеллами и мелкими вакуолями, содержит пиноцитозные пузырьки.

В цитоплазме определяются митохондрии с нечетко визуализируемыми кристами, а также незначительное количество рибосом. Цистерны гранулярной эндоплазматической сети сужены. Цитоплазма имеет извитой вид и содержит пиноцитозные пузырьки. Просветы гемокапилляров находящихся в этой зоне заполнены эритроцитами с неровными контурами. В герминативных центрах находятся лимфоциты с нечетко выраженной клеточной мембраной, поэтому можно сказать, что скопления лимфоцитов выглядят похожими на конгломерат. Ядра лимфоцитов мелкие, неправильной формы с нечеткими контурами (рис.1). Цитоплазма лимфоцитов содержит большое количество вакуолей. Комплекс Гольджи слабо развит.

Все вышеперечисленные признаки свидетельствуют о снижении синтетических процессов в клетке, снижении её функциональной активности. Гранулярная эндоплазматическая сеть сужена, выявляются единичные везикулы и гранулы. Количество свободных и связанных рибосом в цитоплазме лимфоцитов уменьшено, другие органеллы не прослеживаются. Повсеместно видны крупные вакуоли и ретикулярные волокна (рис.1). Наблюдается разрастание соединительной ткани, единичное количество митозов.

В мантийной зоне лимфатических узелков белой пульпы выявлено небольшое количество плазмочитов, а также изменение эндоплазматической сети этих клеток: их цистерны сужены, местами фрагментированы, что также может свидетельствует о снижении синтетической способности плазматических клеток. Цитоплазматическая мембрана лимфоцитов этой зоны имеет неровный извилистый вид, ядра крупные с неровными краями, в цитоплазме этих клеток

органеллы почти неразличимы. Видны единичные фигуры митоза (рис.3). Между лимфоцитами, ретикулярными клетками появляется разрастание коллагеновых волокон (рис.2).

Между лимфоцитами определяются макрофаги, в цитоплазме которых содержится фагоцитированный материал. Лимфоциты округлой формы с крупными ядрами, в цитоплазме этих клеток органеллы почти неразличимы. В красной пульпе селезенки на 7 сутки исследования после воздействия гидрокортизона каких-либо изменений не выявлено. Она представлена ретикулярными клетками, макрофагами, а также красная пульпа содержит в относительно большом количестве форменные элементы крови (эритроциты и лимфоциты) расположенные в кровеносных капиллярах и плазматические клетки.

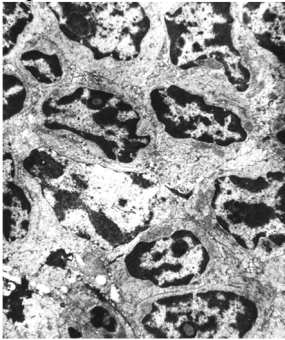


Рис.1. Ультраструктура герминативного центра животных получавших гидрокортизон на 7 сутки исследования.  $\times 8000$ .

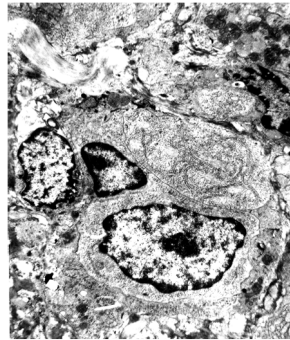


Рис. 2. Ультраструктура мантийной зоны белой пульпы селезенки крыс получавших на протяжении 7 суток гидрокортизон.  $\times 8000$ .



Рис. 3. Ультраструктура мантийной зоны белой пульпы селезенки крыс получавших на протяжении 7 суток гидрокортизон.  $\times 8000$ .

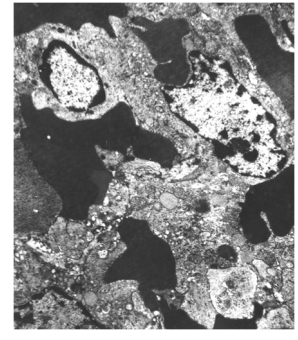


Рис. 4. Ультраструктура красной пульпы селезенки крыс получавших на протяжении 7 суток исследования гидрокортизон.  $\times 8000$ .

Отживающие, «старые» эритроциты фагоцитируются макрофагами, находящимися в веществе пульпы. Макрофаги активные, в их цитоплазме определяются митохондрии с четко очерченными кристами и мелкозернистым матриксом, а также вакуоли, пиноцитозные пузырьки и фагоцитированный материал

### Выводы

1. Селезёнка весьма чувствительна к воздействиям биологически активных веществ различного происхождения, а именно к повышению уровня содержания в крови гормонов пучковой зоны коры надпочечников. При ультрамикроскопическом исследовании селезенки половозрелых крыс на 7 сутки исследования выявлены значительные отличия от интактных животных - уменьшение количества митозов, сужение цистерн ЭПС, разрастание коллагеновых волокон.
2. Наиболее выраженные изменения происходили в структуре герминативных центров и мантийной зоны белой пульпы селезенки, что свидетельствует о снижении синтетических процессов в клетках, их функциональной активности.

*Перспектива дальнейших исследований.* В дальнейшем планируется произвести исследование ультраструктуры селезенки при введении подопытным крысам синтетического глюкокортикоидного дексаметазона.

### Список литературы

1. Zupanec I. Klinicheskaia farmakologija gl'ukokortikoidov / I. Zupanec, N. Bezuglaja // Visnik farmakologii ta farmacii. - 2007. - №11. - S.19-26.
2. Koveshnikov V. G. Stroenie beloj pul'py selezjonki polovozrelyh kryс nahodivshijsja pod vlijaniem bisfosfonata «Zometa» na ul'tramikroskopicheskom urovne / V.G. Koveshnikov, E.A. Stacenko, E.K.Nuzhnaja // Ukraïns'kij morfoloichnij al'manah. - 2010. - Tom 8, № 2. - S.247-248.
3. Motuljak A. P. Strukturna perebudova limfoïdnoï tkanini selezinki mishej radiochutlivoï liniï BALB/C u ran'omu periodi posnatal'nogo ontogenezu pisl'ja oprominennja niz'kimi dozami radiacii / A. P. Motuljak // Bukovins'kij medichnij visnik. - 2003. - T. 9, № 1. - S. 85-89.
4. Stacenko E. A. Ul'trastruktura selezjonki intaktnyh polovozrelyh kryс / E. A. Stacenko // Ukraïns'kij medichnij al'manah. - 2009. - Tom 12, № 6. - S.180-182.
5. Wilt J. H. Surgical treatment of splenic metastases in patients with melanoma / J.H. Wilt, W. H. McCarthy, J. F. Thompson // J. Am Coll Surg.- 2003.- Vol.197, № 1.-P.38-43.

### Реферати

УЛЬТРАСТРУКТУРА СЕЛЕЗІНКИ  
СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ВВЕДЕННІ  
ГІДРОКОРТИЗОНА

Стаценко О. А., Шерстюк О. А., Тихонова О. А.,  
Дейнега Т. Ф.

THE ULTRAMICROSCOPY OF THE SPLEEN  
STRUCTURE OF MATURE RATS IN  
ADMINISTRATION OF HYDROCORTISONE

Statsenko L., Sherstyuk O., Tihonova O., Deynega T.

Дослідження проведено на 12 статевозрілих щурах-самцях. За допомогою ультрамікроскопічного дослідження були визначені утворення паренхіми селезінки після введення гідрокортизону. Особливі відмінності від інтактних тварин були виявлені на сьому добу дослідження: звуження цистерн ЕПС, розрастання колагенових волокон. Найбільш виражені відмінності спостерігалися в структурі гермінативних центрів та мантийної зони білої пульпи селезінки. Описані зміни можуть свідчити про зниження синтетичних процесів в клітині та зниження її функціональної активності, що відбувається під впливом гормону кіркової речовини наднирничкової залози - гідрокортизону.

**Ключові слова:** селезінка, лімфоцити, ультрабудова.

Стаття надійшла 13.03.2015 р.

12 mature male rats have been involved into experimental study. Ultramicroscopic examination has revealed masses of spleen parenchyma following the administration of hydrocortisone. On day 7 of the experimental study the significant differences from intact animals have been noted, including reduced number of mitoses, narrowing of cisterns of endoplasmic reticulum, enlargement of collagenous fibers. The most apparent lesions have been observed in the structure of germinative centers and mantle zone of white pulp of spleen. The described lesions may indicate about a decrease of synthetic processes in the cell, reduction of its functional activity, induced by adrenal cortex hormone hydrocortisone.

**Key words:** spleen, lymphocytes, ultramicroscopy.

Рецензент Костиленко Ю.П.

УДК 535.343: 612.017.4

**Е. И. Сырма, В. О. Ульянов, Н. Е. Думброва, Н. И. Молчанюк, В. М. Скобева**  
Одесский национальный медицинский университет, г. Одесса, НИИ глазных болезней и  
тканевой терапии им. В.И. Филатова, группа электронной микроскопии лаборатории  
патоморфологии и электронной микроскопии, НИИ физики Одесского национального  
университета им. Мечникова, г. Одесса

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КОЖИ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА РАЗНЫХ РАЗМЕРОВ

Целью данной работы являлось изучение особенностей воздействия наночастиц серебра различных размеров на кожу крыс. Использовались наночастицы серебра сферической формы размерами 20, 30, 70 нм, синтезированные цитратным методом. Эксперимент проводился на 261 крысе линии Вистар. После подкожного введения 0,01мл раствора наночастиц серебра эффект оценивался на 1, 3, 7, 14, 21, 30, 45 сутки. Для электронно-микроскопического исследования ультратонкие срезы контрастировались по методике Reynolds. Выявлены размерозависимые эффекты воздействия НЧ серебра 20, 30, 70 нм на междифферонную и внутридифферонную гетероморфию тканей кожи, а именно зависимость от размера НЧ скорости возобновления структуры базальной мембраны (быстрее всего при введении НЧ серебра 30 нм); митотической активности базальных клеток эпидермиса (возрастает в ряду  $20 \leq 70 \leq 30$ ); количества макрофагов (возрастает в ряду  $70 \leq 20 \leq 30$ ) количество активных фибробластов (возрастает в ряду  $20 \leq 70 \leq 30$ ), что приводит к увеличению коллагеновых волокон (максимально в группе 30 нм).

**Ключевые слова:** наночастицы серебра, кожа, размерозависимые эффекты.

*Работа является фрагментом НИР "Морфогенез эпителиальной та сполучної тканини за фізіологічних та патологічних умов" № государственной регистрации 0109U008570.*

Несмотря на большое количество работ, посвященных изучению влияния наночастиц (НЧ) серебра на биологические объекты, наличие размерозависимых эффектов НЧ усложняет их анализ из-за использования различных по размеру НЧ [13]. Большинство существующих исследований, посвященных изучению биологических эффектов НЧ, проводились на культурах клеток, что не позволяет оценить возможные изменения в структуре основного вещества, базальной мембраны, особенностях межклеточных взаимодействий и изменения гетероморфии тканей в условиях воздействия НЧ серебра [8]. В предыдущих исследованиях нами показан комплекс морфофункциональных изменений, возникающий в коже при внутрикожном введении НЧ серебра размерами 20, 30, 70 нм [5, 6], который характеризуется последовательной сменой фаз. Сразу после введения, независимо от размера, отмечается отек и клеточная инфильтрация, затем формируется грануляционная ткань и завершает процесс адаптивная перестройка. Показана зависимость степени дегрануляции тучных клеток от размера НЧ [6].

Имеющиеся данные литературы о влиянии НЧ на базальную мембрану, полученные в результате аппликационного метода нанесения НЧ, свидетельствуют о развитии ее отека [12]. Однако известно, что НЧ серебра не проникают глубже рогового слоя при нанесении на здоровую кожу [1].