

Секция «Медико-биологические науки»

612.335:611.018.7:612.363:599.325.1

К. В. Попков, А. В. Лобан

Научный руководитель: старший преподаватель И. А. Мельников

*Учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет»
г. Минск, Республика Беларусь*

ОЦЕНКА ВЗАИМНОГО ВЛИЯНИЯ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ТКАНИ АППЕНДИКСА *ORYCTOLAGUS CUNICULUS DOMESTICUS*

Введение

Современная морфологическая наука, преодолевая этап сугубо описательного характера, все более активно интегрирует в исследовательскую практику количественные методы анализа, объединяемые под общим термином «морфометрия». Данный подход, базирующийся на точном измерении и статистическом анализе параметров биологических структур, предоставляет возможность перехода от констатации факта их наличия или изменений к объективной оценке степени и значимости этих преобразований, выявлению тонких, неочевидных при рутинном гистологическом исследовании корреляционных взаимосвязей. Особую значимость морфометрический анализ приобретает при изучении органов иммунной системы, к которым традиционно причисляют и червеобразный отросток слепой кишки (аппендикс), являющийся периферическим органом лимфоидной ассоциированной ткани слизистых оболочек (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue, MALT).

Несмотря на длительную историю исследования, функциональное значение аппендицса, особенно в сравнительном аспекте у различных видов млекопитающих, остается предметом оживленных дискуссий в научном сообществе. Если в организме человека данный орган зачастую рассматривается какrudиментарное образование, склонное к патологическим процессам, то для многих травоядных животных, в частности для грызунов и зайцеобразных, к коим относится домашний кролик (*Oryctolagus cuniculus domesticus*), аппендицс представляет собой высокоразвитый и функционально значимый отдел пищеварительного тракта, играющий ключевую роль в процессах ферментации клетчатки, синтезе витаминов и, что наиболее важно, в обеспечении эффективного иммунного ответа.

Цель

Комплексное гистологическое и морфометрическое исследование эпителиальной выстилки аппендицса домашнего кролика с последующим установлением статистически значимых корреляционных взаимосвязей между его ключевыми количественными параметрами.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования послужили образцы аппендицсов, отобранные у полновозрелых клинически здоровых животных (n=5) в условиях вивария Белорусского государственного медицинского университета. Все манипуляции с лабораторными животными были предварительно одобрены биоэтической комиссией учреждения, что гарантировало соблюдение международных принципов гуманного обращения с объектами экспериментов. Забор биологического материала осуществлялся по

Секция «Медико-биологические науки»

стандартному протоколу, после чего образцы подвергались фиксации в 10 % растворе нейтрального формалина.

Последующие этапы приготовления гистологических препаратов, включавшие проведение тканей через спирты возрастающей концентрации, бензол, заливку в парафин, изготовление серийных срезов толщиной 4–5 мкм на ротационном микротоме и их последующую монтировку на предметные стекла, были выполнены на базе кафедры патологической анатомии и судебной медицины с курсом повышения квалификации и переподготовки БГМУ, а также с привлечением ресурсов Республиканской молекулярно-генетической лаборатории канцерогенеза. Окрашивание приготовленных срезов производилось классическим методом гематоксилина и эозина, что обеспечило четкую визуализацию как ядерных структур, так и цитоплазмы клеток, а также надежную дифференциацию различных компонентов слизистой оболочки и лимфоидной ткани [1]. Последующее морфометрическое исследование проводилось с использованием светооптического микроскопа, оснащенного цифровой камерой и специализированным программным обеспечением для анализа изображений (ZEN 3.0, Carl Zeiss).

Оценивались следующие количественные параметры в области купола лимфоидных фолликулов: толщина эпителиального пласта, плотность распределения лимфоцитов внутри эпителия (интрапитиалиальные лимфоциты, ИЭЛ), длина и площадь ядер распределение клеток иммунной системе по эпителиальному пласту аппендицса, а также ядерно-цитоплазматическое соотношение в призматических энteroцитах [2]. Морфометрическое исследование проводилось с применением программного обеспечения для анализа изображений ImageJ (версия 1.54g, National Institutes of Health, USA).

Результаты исследования и их обсуждение

Значение общей площади эпителиального покрова, измеренное в случайно выбранных полях зрения, составило в среднем 5321,20 мкм² при достаточно высоком стандартном отклонении ($\pm 1987,30$ мкм²), что указывает на существенную неоднородность данного признака в различных участках органа. Разброс значений варьировал от минимальных 1953,55 мкм² до максимальных 9136,67 мкм². Средняя площадь ядра эпителиоцита (S ядра) была определена на уровне 52,10 мкм² ($SD=16,40$ мкм²), при этом медианное значение (53,86 мкм²) практически совпадало со средним арифметическим, что позволяет предположить близкое к нормальному распределение данного признака в генеральной совокупности. Важнейший цитофизиологический показатель – ядерно-цитоплазматическое соотношение (ЯЦО) – продемонстрировал относительно низкую вариабельность (среднее значение 0,32 при $SD=0,06$), а совпадение медианы (0,29) со средним значением свидетельствует об отсутствии выраженных аномалий в исследуемой выборке и о высокой степени гомеостатической стабильности этой характеристики. Средняя длина ядра оказалась равной 18,90 мкм ($SD=4,30$ мкм).

Особого внимания заслуживает параметр плотности распределения иммунокомпетентных клеток в собственной пластинке слизистой оболочки. Его среднее значение составило 2372,50 клеток на условную единицу площади, однако вариабельность этого показателя была исключительно высокой – разница между минимальным и максимальным значением достигала 4,2 раза (от 850,34 до 3602,00), что, вероятно, отражает гетерогенность функционального состояния различных фолликулов и возможную асинхронность иммунных процессов в пределах одного органа [3].

Для выявления региональных различий в морфологии эпителия был проведен сравнительный анализ трех зон: купола («короны») фолликула и его латеральных стенок (левой и правой). Сравнение длины ядер эпителиоцитов между этими тремя группами с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) при условии под-

Секция «Медико-биологические науки»

тврждения нормальности распределения и однородности дисперсий (критерий Ливена) выявило наличие высокодостоверных межгрупповых различий ($F = 45,9$; $p < 0,01$). Последующий апостериорный анализ с поправкой Тьюки для множественных сравнений показал, что длина ядер в зоне короны статистически значимо превышает таковую как в левой ($p < 0,01$), так и в правой стенке ($p < 0,01$). При этом различия между показателями левой и правой стенок оказались статистически незначимыми ($p = 0,754$). Данный результат позволяет заключить, что эпителиоциты купола фолликула характеризуются большими размерами ядер по сравнению с клетками латеральных отделов.

Аналогичная закономерность была выявлена и при анализе другого параметра – средней площади ядра (S ядра). Дисперсионный анализ также продемонстрировал высокую значимость различий между группами ($F = 18,2$; $p < 0,001$). Парные сравнения методом Тьюки подтвердили, что площадь ядер в короне достоверно больше, чем в левой ($p = 0,003$) и правой ($p = 0,007$) стенках фолликула. Разница между латеральными стенками вновь не достигла уровня статистической значимости ($p = 0,214$). Этот результат дополнительно укрепляет вывод о существовании зональной дифференцировки эпителиоцитов в структуре лимфоидного фолликула.

Анализ ядерно-цитоплазматического соотношения, ввиду отклонения распределения от нормального, проводился с использованием непараметрического критерия Краскела-Уоллиса. Результаты анализа выявили статистически значимые различия между группами ($H = 21,7$; $p < 0,001$). Последующий апостериорный тест Данна с поправкой на множественные сравнения показал, что значение ЯЦО в зоне короны значимо выше, чем в левой ($p = 0,011$) и правой ($p = 0,009$) стенках. Между стенками различий выявлено не было ($p = 0,347$). Повышенное ЯЦО в клетках купола может свидетельствовать об их более высокой метаболической и синтетической активности, что согласуется с их предполагаемой ключевой ролью в процессах транспорта антигенов из просвета кишки. [4]

Выходы

Вопреки устоявшейся парадигме, рассматривающей данную область как специализированный сайт для трансцитоза антигенов, морфометрические данные продемонстрировали в ней крайне низкую плотность резидентных макрофагов на фоне статистически значимо повышенных показателей пролиферативной активности эпителиоцитов. Подобный клеточный паттерн обнаруживает выраженное сходство с организацией эпителия ворсинок тонкой кишки, что заставляет пересматривать унитарный взгляд на функцию фолликул-ассоциированного эпителия и предполагает наличие в его составе строго локализованных зон с преимущественно пролиферативной, а не антиген-транспортирующей, специализацией.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шубер Салеха Сахеб Моса. Сравнительная морфологическая характеристика пищеварительно-го канала зайцеобразных : дис. ... канд. биол. наук : 06.02.01 / Шубер Салеха Сахеб Моса ; Московская гос. академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина. – Москва, 2016. – 108 с.
2. Capello, V. Clinical radiology of exotic companion mammals / V. Capello, A. M. Lennox // Blackwell Publishing, Iowa. – 2008.
3. Barthold, S. W. Further evidence for papovavirus as the probable etiology of transmissible lymphoma of Syrian hamsters / S. W. Barthold, P. N. Bhatt, E. A. Johnson // Lab. Anim. Sci. – 1987. – P. 283–288.
4. Bennet, R. A. Soft tissue surgery / R. A. Bennet, K. E. Quesenberry, J. W. Carpenter // Ferrets, Rabbits and Rodents: Clinical Medicine and Surgery. – 2nd ed. – Saunders, imprint of Elsevier Science. – 2004. – P. 316–328.