

**Abstract. Aim.** To study effect of gastric plication on the structure of the pancreas in rats with streptozotocin induced diabetes mellitus.

**The object and methods of research.** Experimental part of scientific work was carried out on adult white rats. For the experiment 42 rats were involved. All animals were divided into 4 groups: Group I – control group (n-8) – rats without streptozotocin administration and did not undergo a gastric plication surgery; Group II (n-8) – rats that did not receive streptozotocin, but underwent gastric plication surgery; Group III (n-8) – rats with streptozotocin induced diabetes mellitus, without gastric plication; Group IV (n-18) – rats with streptozotocin induced diabetes mellitus, which has undergone gastric plication. Diabetes mellitus was induced by streptozotocin from Appli Chem (USA). Intraperitoneal administration of streptozotocin was performed for four consecutive days in a single dose of 40 mg/kg body weight. The experiment lasted for 6 months.

**Research results and their discussion.** Only 30 laboratory rats (71.5%) survived to the end of experiment. The mortality rate: 0 animals died in the first control group; 1 died (12.5%) in the second group (only surgery); 4 (50%) died among the animals of the third group, (rats with DM and without surgery) and 7 animals (38.9%) died from of the fourth group (DM+surgery).

At the end of experiment, we did not make a significant difference in blood glucose values in animals of groups I and II. In group III, blood glucose levels were 454% higher compared with control group and 211% higher compared to group IV of animals undergoing gastroplasty. In animals of group IV, the mean GL score was  $11.86 \pm 2.47$  mmol/l, which was 215% higher compared with control group I.

At the end of experiment, we took the pancreatic tissue for histological examination. In each animal, we performed several sections of the pancreas and determined the mean perimeter of the Langerhans islands and their area.

**Conclusions.** We noted significantly lower blood glucose levels (50%,  $p < 0.05$ ) at the end of experiment in rats that underwent gastric plication compared to animals only with streptozotocin induced diabetes mellitus. The average perimeter and area of Langerhans islands was significantly bigger in rats that underwent gastric plication compared to animals only with streptozotocin induced diabetes mellitus. Our data give big insight for deeply study of gastric plication effects on the course of diabetes mellitus.

**Key words:** gastric plication, bariatric surgery, type 2 diabetes, streptozotocin induced diabetes mellitus, rat.

*Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.*

*Стаття надійшла 21.08.2018 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2018-3-145-275-278

УДК 611.41.42:616-097

*Головацький А. С., Гербут А. О., Кочмарь М. Ю., Гецько О. І., Палапа В. Й.*

## **ЩІЛЬНІСТЬ ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИН МАНТІЙНОЇ ЗОНИ ЛІМФОЇДНИХ ВУЗЛИКІВ БІЛОЇ ПУЛЬПИ СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ-САМЦІВ РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ В НОРМІ ТА ПІСЛЯ АНТИГЕННОЇ СТИМУЛЯЦІЇ ОРГАНІЗМУ ДВНЗ «Ужгородський національний університет» (м. Ужгород)**

sasha\_hetsko@i.ua

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Дане дослідження є фрагментом планової наукової роботи кафедри анатомії людини та гістології медичного факультету Ужгородського національного університету «Особливості структурної організації лімфоїдних органів і судинного русла в онтогенезі в нормі та закономірності їх перебудови при дії на організм антигенів, хімічних та фізичних факторів», № державної реєстрації 0115U003903.

**Вступ.** Селезінка, як вторинний орган імунної системи, виконує ряд важливих функцій, провідною з яких є формування імунної відповіді при потрапленні антигенів у кров, а також є головним джерелом антитіл при внутрішньосудинному введенні антигенів [1]. Під дією цих факторів активізуються детерміновані лімфоцити і утворюються імункомпетентні клітини [2].

Дослідження структурно-функціональних особливостей білої пульпи селезінки і надалі залишається надзвичайно актуальною проблемою, бо за останні роки катастрофічно зросла забрудненість навколишнього середовища, зокрема антигенами [3]. Не слід забувати про негативні наслідки, особливо на імунну систему, Чорнобильської трагедії.

За останні роки у науковій літературі багато уваги приділяється динаміці розвитку та формуванню структурних зон лімфоїдних вузликів та періартеріальних лімфоїдних півх селезінки у щурів протягом 1-го місяця життя та при внутрішньоутробній стимуляції організму [4]. Проте, ми не знайшли робіт, де б висвітлювались морфофункціональні та морфометричні особливості структур білої пульпи селезінки щурів-самців репродуктивного віку, як в умовах відносної норми, так і при антигенній стимуляції організму.

У науковій літературі ми не знайшли робіт, в яких би вивчали морфологічні особливості лімфоїдних структур селезінки в постнатальному онтогенезі в нормі та закономірності змін щільності імункомпетентних клітин після антигенної стимуляції. Ось чому наша робота є актуальною.

**Мета дослідження.** Вивчити щільність малих, середніх та великих лімфоцитів, плазмочитів і макрофагів мантийної зони лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки безпородних білих щурів-самців репродуктивного віку в нормі та зміни їх щільності протягом місяця після антигенної стимуляції.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження проведено в експерименті на 31 здорових безпородних

білих щурах-самцях репродуктивного віку (6 місяців), які були поділені на три групи. Перша група – інтактні тварини (11 щурів), друга група – експериментальні тварини, яким вводили антиген "Імуноглобулін людини нормальний" в дозі 0,02 мг імуноглобуліна із розрахунку на 100 г маси тварин у 0,2 мл ізотонічного розчину хлориду натрія в асептичних умовах підшкірно в тил стопи правої задньої кінцівки щурів. Це оптимальна доза антигена, яка здатна викликати імунну відповідь, вибрана шляхом підбору доз і враховуючи дані літератури [5]. Третя група – контрольні тварини, яким замість антигена в ту саму ділянку вводили ізотонічний розчин хлориду натрія в еквівалентних до імуноглобуліна об'ємах.

Селезінку забирали у всіх інтактних тварин, а також у щурів після одноразового введення антигену чи ізотонічного розчину хлориду натрія через 1, 3, 7, 14 і 30 діб. Такі терміни забору матеріалу обрано нами згідно рекомендацій літератури [6], і у які відзначаються найбільш помітні зміни морфологічних параметрів у лімфоїдних органах після введення антигена.

На гістологічних препаратах, забарвлених гематоксилін-еозином та азур-II еозином, при збільшенні світлового мікроскопа МБИ – 3x1050 (об'єктив х70 – водяна емерсія; біокулярна насатка АУ – 12x1,5; окуляри х10) за допомогою морфометричної сітки №3/16 методом Стефанова С.Б. ми вивчали щільність малих, середніх і великих лімфоцитів, плазмочитів і макрофагів у мантійній зоні лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки.

На електронограмах селезінки ми вивчали кількісні і якісні зміни імунокомпетентних клітин у нормі та через 7 діб після введення імуноглобуліну.

Догляд за тваринами та всі маніпуляції проводили у відповідності з положенням "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986 р.), а також у відповідності до положень "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.) та вимог Додатку до "Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин".

**Результати дослідження та їх обговорення.** Мантійна зона розміщена між світлим центром і крайовою зоною лімфоїдного вузлика білої пульпи селезінки і складається переважно з малих, середніх і великих лімфоцитів, плазмочитів та макрофагів, які оточені ретикулярними волокнами (рис. 1).

Встановлено, що після антигенної стимуляції організму "Імуноглобуліном людини нормальним" упродовж одного місяця відбуваються фазові зміни щільності клітинних елементів у всіх структурних компонентах білої пульпи селезінки безпородних білих щурів-самців репродуктивного віку і у мантійній зоні лімфоїдних вузликів зокрема [7] (табл.).



Рис. 1. Мантійна зона лімфоїдного вузлика білої пульпи селезінки білого щура-самця репродуктивного віку. 1 – центральна артерія; 2 – періартеріальна зона; 3 – світлий центр; 4 – мантійна зона; 5 – крайова зона. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб.: об.х20, ок.х7.

Таблиця.

**Зміни щільності клітинних елементів мантійної зони білої пульпи селезінки білих щурів-самців репродуктивного віку на площі 625 мкм<sup>2</sup> після стимуляції організму "Імуноглобуліном людини нормальним".**

Тип клітин	Контроль	Термін спостереження щільності клітин (M±L)				
		1 доба	3 доби	7 діб	14 діб	30 діб
Малі лімфоцити	17,97±0,49	17,78±0,30	18,89±0,28*	20,57±0,11*	18,12±0,53	17,69±0,58
Середні лімфоцити	0,86±0,17	0,82±0,09	0,89±0,09	0,91±0,12	0,82±0,08	0,83±0,06
Великі лімфоцити	0,04±0,02	0,16±0,04*	0,15±0,08*	0,31±0,08	0,28±0,04	0,12±0,03
Плазмочити	0,02±0,01*		0,01±0,01*	0,10±0,06*	0,04±0,01	0,02±0,01*
Макрофаги	0,01±0,01*		0,01±0,01	0,14±0,06*	0,08±0,03*	0,03±0,01

Примітка: \* – різниця між величинами достовірна (p<0,05).

Як видно з таблиці, малих лімфоцитів у мантійній зоні у нормі найбільше. Вже через добу після дії антигена щільність цих клітин зменшується на 8% у порівнянні з аналогічними показниками інтактних тварин. Потім кількість малих лімфоцитів зростає на 8,2%.

Через сім діб після введення антигена щільність малих лімфоцитів досягає максимальних величин (рис. 2) і складає 20,57±0,11, що на 12% більше, ніж у контрольної групи тварин.

Через чотирнадцять діб після введення "Імуноглобуліна людини нормального" щільність малих лімфоцитів дещо зменшується, а через тридцять діб ці показники коливаються в межах контрольних величин.

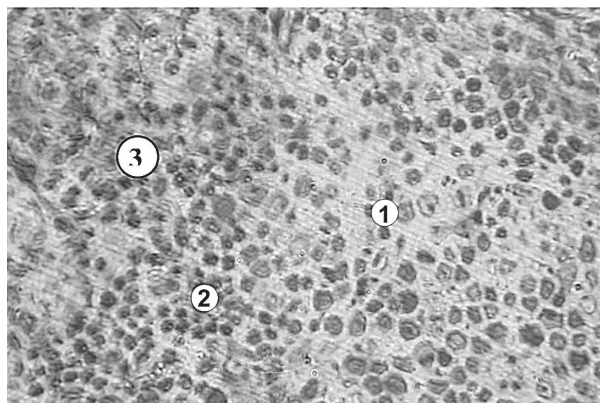


Рис. 2. Фрагмент мантійної зони лімфоїдного вузлика білої пульпи селезінки білого щура-самця репродуктивного віку у нормі. 1 – світлий центр; 2 – малі лімфоцити; 3 – мантійна зона. Півтонкий зріз. Забарвлення метиленовим синім. Зб.: об. х20, ок. х10.



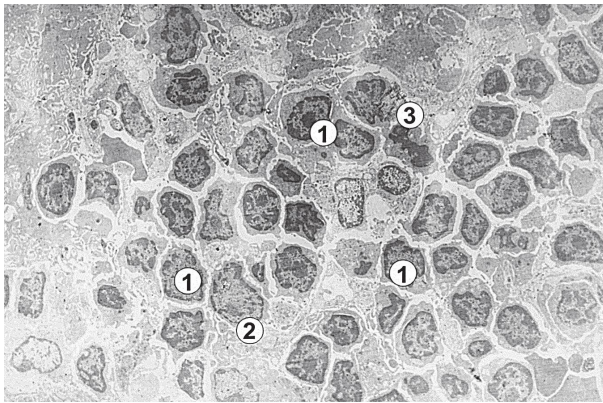


Рис. 3. Фрагмент білої пульпи селезінки білого щура-самця репродуктивного віку через 7 днів після антигенної стимуляції. Збільшується кількість малих лімфоцитів (1) і середніх лімфоцитів (2); дві клітини в стадії мітозу (3). Електронна мікрофотографія. Збільшення  $\times 2500$ .

Середні лімфоцити є у мантийній зоні лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки щурів-самців репродуктивного віку, але їх майже на 95% менше, ніж малих лімфоцитів (табл.).

Після антигенної стимуляції щільність цих клітин фазово змінюється. Через добу після дії антигена щільність середніх лімфоцитів достовірно зменшується до  $0,82 \pm 0,09$ . Найвищими ці показники є через сім днів після антигенної стимуляції організму. Зростання щільності цих клітин та їх морфологічна неоднорідність у цей період підтверджена електронно-мікроскопічним дослідженням (рис. 3).

Через чотирнадцять і тридцять днів після введення антигена щільність середніх лімфоцитів коливається в межах похибки контрольних величин.

Щільність великих лімфоцитів через одну добу після дії антигена у мантийній зоні достовірно збільшується у 4 рази – до  $0,16 \pm 0,04$ . Максимальне зростання щільності цих клітин відзначено через сім днів після стимуляції організму: цей показник у 7 разів перевищує контрольні величини і становить  $0,31 \pm 0,08$  і через місяць щільність великих лімфоцитів у мантийній зоні залишається в тричі більшою у порівнянні з контролем і дорівнює  $0,12 \pm 0,03$ .

Щільність плазматичних і макрофагів у мантийній зоні білої пульпи селезінки даної вікової групи тварин незначна. Найбільше зростання щільності цих клітин спостерігається через сім днів після дії "Імуноглобуліну людини нормального" і становить відповідно  $0,10 \pm 0,06$  та  $0,14 \pm 0,06$  на площі  $625 \text{ мкм}^2$ .

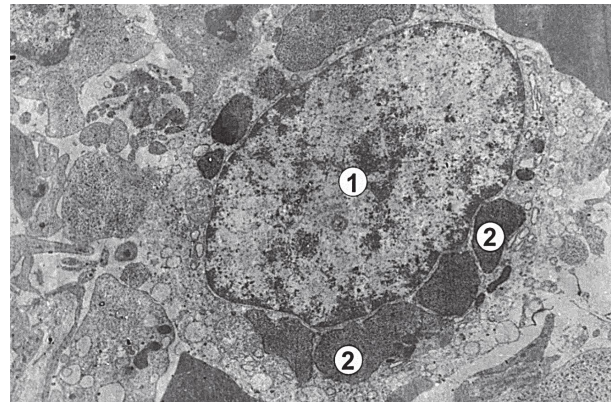


Рис. 4. Фрагмент білої пульпи селезінки (мантийна зона) білого щура-самця репродуктивного віку через 7 днів після антигенної стимуляції організму. Макрофаг (1) з цитоплазмою, насиченою гемосидеріновими тільцями (2). Електронна мікрофотографія. Збільшення  $\times 6500$ .

Динаміка змін щільності макрофагів у мантийній зоні лімфоїдних вузликів селезінки підтверджується електронно-мікроскопічним дослідженням (рис. 4).

У білих щурів-самців репродуктивного віку через сім днів після введення антигену збільшується кількість "активних" макрофагів, для яких характерна наявність довгих цитоплазматичних відростків та збільшенням у їх цитоплазмі гемосидерінових тілець.

**Висновки.** Підсумовуючи результати даного дослідження, можна зробити підсумки:

1. Одноразова антигенна стимуляція організму "Імуноглобуліном людини нормальним" викликає періодичні фазові зміни в мантийній зоні лімфоїдних вузликів селезінки білих щурів-самців репродуктивного віку, що вказує на функціональну активність селезінки як вторинного органа імунної системи.

2. Введення антигена викликає фазові зміни щільності імунокомпетентних клітин з максимумом через сім днів після дії антигена.

3. Через сім днів після антигенної стимуляції посилюється плазматизація лімфоцитів і зростає кількість функціонально активних макрофагів.

**Перспективи подальших досліджень.** У подальшому ми плануємо вивчити морфофункціональні особливості будови і клітинний склад структур білої пульпи селезінки щурів-самців дорепродуктивного і пострепродуктивного віку в нормі та після антигенної стимуляції організму, провести аналіз щільності та функціональної активності імунокомпетентних клітин у віковому аспекті.

## Література

- Herbut AO, Holovatskyi AS, Kochmar MYu, Hetsko OI. Morfofunktsionalna kharakterystyka periarterialnykh limfoidnykh pikhv selezinky bilykh shchuriv-samtsiv riznykh vikovykh hrup u normi. Naukovyi visnyk Uzhhorodskoho universytetu, seriya "Medytsyna". 2008;34:12-5. [in Ukrainian].
- Herbut AO, Kochmar Mlu, Holovatskyi AS, Palapa VI. Kharakterystyka shchilnosti klitynykh elementiv periarterialnykh limfoidnykh pikhv selezinky bilykh shchuriv-samtsiv reproduktyvnoho viku cherez sim dib pislia antyhennoi stymuliatcii orhanizmu. Prykladni aspekty morfolohii. 2009;160-1. [in Ukrainian].
- Herbut AO, Kochmar Mlu, Hetsko OI. Morfofunktsionalna kharakterystyka svitylykh tsestriv limfoidnykh vuzlykiv biloi pulpy selezinky shchuriv-samtsiv riznykh vikovykh hrup u normi. Visnyk morfolohii. 2010;16(2):297-0. [in Ukrainian].
- Klein E. The Anatomy of the Lymphatic System. Edward Klein. BiblioBazaar, LLC; 2008. 156 p.
- Bibik EYu. Ultrastruktura podmyishechnykh limfaticheskikh uzlov intaknykh polovozrelykh kryis. Ukrainskyi morfolohichnyi almanakh. 2007;3:18-1. [in Russian].
- Herbut AO, Hetsko OI, Kochmar Mlu. Dynamika zmin shchilnosti klitynykh elementiv periarterialnykh limfoidnykh pikhv selezinky bilykh shchuriv-samtsiv reproduktyvnoho viku protiahom misiatsia pislia antyhennoi stymuliatcii orhanizmu. Trudy Krymskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta im. S.I. Georgievskogo. 2010;146(5):59-2. [in Ukrainian].
- Cherkasov EV. Ultrastruktura dendrytnykh klityn tymusa pry eksperymentalnii opikovii khvorobi u shchuriv ta za umov yii likuvannia kombinovanymu hiperosmoliarnymu rozchynamy. Visnyk morfolohii. 2012;18(1):6-10. [in Ukrainian].

**ЩІЛЬНІСТЬ ІМУНОКОМПЕТЕНТНИХ КЛІТИН МАНТІЙНОЇ ЗОНИ ЛІМФОЇДНИХ ВУЗЛИКІВ БІЛОЇ ПУЛЬПИ СЕЛЕЗІНКИ ЩУРІВ-САМЦІВ РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ В НОРМІ ТА ПІСЛЯ АНТИГЕННОЇ СТИМУЛЯЦІЇ ОРГАНІЗМУ**  
**Головацький А. С., Гербут А. О., Кочмарь М. Ю., Гецко О. І., Палапа В. Й.**

**Резюме.** На гістологічних препаратах селезінки ми вивчали щільність малих, середніх і великих лімфоцитів, плазмочитів та макрофагів у мантийній зоні лімфоїдних вузликів селезінки в нормі та протягом місяця після введення антигена "Імуноглобуліна людини нормального". Перші зміни щільності цих клітин спостерігаються через три доби після дії антигена. При цьому найбільше зростає кількість великих лімфоцитів, майже у три рази, щільність малих лімфоцитів збільшується на 1,4%, показники щільності макрофагів і плазмочитів не змінюються. Максимальних величин щільність імунокомпетентних клітин досягає через сім діб після введення антигену. Так, кількість малих лімфоцитів становить  $20,57 \pm 0,11$ , що на 12% більше, ніж інтактної групи тварин, щільність середніх лімфоцитів зростає на 10%, а показники великих лімфоцитів –  $0,31 \pm 0,08$ , що у 7 разів за інтактну групу щурів. У цей період зростає щільність плазмочитів та макрофагів і становить відповідно  $0,10 \pm 0,06$ ,  $0,14 \pm 0,06$ . При електронно-мікроскопічному дослідженні спостерігається посилена плазматизація лімфоцитів. Ці клітини велике ядро без характерного для плазмочита малюнка, у цитоплазмі багато рибосом. У макрофагів збільшується кількість і довжина цитоплазматичних відростків, цитоплазма насичена гемосидеріновими тільцями.

**Ключові слова:** селезінка, білі щури, лімфоцити, антигенна стимуляція.

**ПЛОТНОСТЬ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК МАНТИЙНОЙ ЗОНЫ ЛИМФОИДНЫХ УЗЕЛКОВ БЕЛОЙ ПУЛЬПЫ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС-САМЦОВ РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА В НОРМЕ И ПОСЛЕ АНТИГЕННОЙ СТИМУЛЯЦИИ ОРГАНИЗМА**  
**Головацький А. С., Гербут А. А., Кочмарь М. Ю., Гецко А. И., Палапа В. И.**

**Резюме.** На гистологических препаратах селезенки изучено плотность малых, средних и больших лимфоцитов, плазмочитов, макрофагов мантийной зоны лимфоидных узелков селезенки в норме и изменения плотности этих клеток после введения антигена "Имуноглобулина человека нормального". Первые изменения плотности этих клеток наблюдаются через трое суток после воздействия антигена. При этом больше растет количество крупных лимфоцитов, почти в три раза, плотность малых лимфоцитов увеличивается на 1,4%, показатели плотности макрофагов и плазмочитов не изменяются. Максимальных величин плотность иммунокомпетентных клеток достигает через семь суток после введения антигена. Так, количество малых лимфоцитов составляет  $20,57 \pm 0,11$ , что на 12% больше, чем интактной группы животных, плотность средних лимфоцитов возрастает на 10%, а показатели крупных лимфоцитов –  $0,31 \pm 0,08$ , что в 7 раз за интактную группу крыс. В этот период возрастает плотность плазмочитов и макрофагов и составляет соответственно  $0,10 \pm 0,06$ ,  $0,14 \pm 0,06$ . При электронно-микроскопическом исследовании наблюдается усиленная плазматизация лимфоцитов. Эти клетки большое ядро без характерного для плазмочита рисунка, в цитоплазме много рибосом. У макрофагов увеличивается количество и длина цитоплазматических отростков, цитоплазма насыщена гемосидериновыми тельцами.

**Ключевые слова:** селезенка, белые крысы, лимфоциты, антигенная стимуляция.

**THE DENSITY OF IMMUNOCOMPETENT CELLS OF THE MANTLE ZONE OF THE LYMPHOID NODULES OF THE WHITE PULP OF THE SPLEEN OF THE RAT-MALES OF REPRODUCTIVE AGE IN NORM AND AFTER ANTIGENIC STIMULATION OF THE ORGANISM**  
**Holovatskyi A. S., Herbut A. O., Kochmar M. Y., Hetsko O. I., Palapa V. Y.**

**Abstract.** The density of small, medium and large lymphocytes, plasmocytes and macrophages in the mantle zone of the spleen lymphoid nodes in norm and within a month after the introduction of normal human immunoglobulin antigen stimulation were studied at the histological preparations of the spleen. The first changes in the density of these cells are observed three days after the action of the antigen. At the same time, the largest is the increasing of large lymphocytes number (almost three times), the density of small lymphocytes increases by 1.4%, macrophage density and plasmocytes do not change. The maximum values of the density of immunocompetent cells reaches seven days after the introduction of the antigen. Thus, the number of small lymphocytes is  $20.57 \pm 0.11$ , which is 12% more than at the intact group of animals, the density of middle lymphocytes increases by 10%, and the indicators of large lymphocytes are  $0.31 \pm 0.08$ , which is 7 times for an intact group of rats. During this period, the density of plasmids and macrophages increases and is, accordingly,  $0.10 \pm 0.06$ ,  $0.14 \pm 0.06$ . Enhance of lymphocyte plasmation is observed with electronical microscopic examination. These cells are a large nucleus without a plasmacy-specific pattern, there are also a lot of ribosomes in the cytoplasm. In macrophages, the number and length of cytoplasmic processes increases, and the cytoplasm is saturated with hemosiderinous corpuscles.

Summing up the results of this study, we can conclude:

1. One-time antigenic stimulation of the body with "Human Immunoglobulin Normal" causes periodic phase changes in the mantle zone of the lymphoid nodules of the white rats-males spleen in reproductive age, indicating the functional activity of the spleen as a secondary organ of the immune system.
2. Introduction of the antigen causes phase changes in the density of immunocompetent cells with a maximum of seven days after the action of the antigen.
3. Seven days after antigenic stimulation, plasmation of lymphocytes increases and a number of functionally active macrophages grows.

**Key words:** spleen, white rats, lymphocytes, antigenic stimulation.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.  
Стаття надійшла 20.08.2018 року*