

УДК 611.41:57.044

© В. Г. Ковешніков, В. М. Волошин, 2013

## ВПЛИВ НАСТОЯНКИ ЕХІНАЦЕЇ НА ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ СЕЛЕЗІНКИ БІЛИХ ЩУРІВ

**В. Г. Ковешніков, В. М. Волошин***Кафедра анатомії людини (зав. – проф. В. І. Лузін), Державний заклад «Луганський державний медичний університет», 91006 Україна, м. Луганськ, кв. 50 років оборони Луганська, 1 в. E-mail: vnvoloshin@mail.ru*

### THE EFFECTS OF TINCTURE OF ECHINACEA PURPUREA ON THE HISTOMORPHOMETRIC DATA OF WHITE RATS' SPLEEN

**V. G. Koveshnikov, V. N. Voloshin**

#### SUMMARY

The aim of the study was to evaluate the histological features of the structure of the spleen of old white laboratory rats exposed to inhalation of toluene and influence of Echinacea purpurea tincture. Toluene exposures lasted 5 hours a day, 5 times a week. The total number of exposures was 60. The toluene concentration was 500 mg/m<sup>3</sup>. We have revealed that the tincture of Echinacea purpurea reduces the white pulp area as compared to that obtained in rats exposed to toluene only. The most pronounced changes in the histomorphometric data of the white pulp under the effect of the Echinacea purpurea tincture concern primarily a reduction of the area of germinal centers of the lymph nodules and the marginal zone.

### ВЛИЯНИЕ НАСТОЙКИ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ НА ГИСТОМОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕЛЕЗЕНКИ БЕЛЫХ КРЫС

**В. Г. Ковешников, В. Н. Волошин**

#### РЕЗЮМЕ

Целью исследования стало изучение особенностей гистологического строения селезенки белых лабораторных крыс периода выраженных старческих изменений, которые на фоне ингаляционного влияния толуола получали настойку эхинацеи пурпурной. Экспозиции толуола проводились 5 часов в сутки, 5 раз в неделю. Общее количество экспозиций – 60. Изучали действие толуола в концентрации 500 мг/м<sup>3</sup>. Установлено, что настойка эхинацеи пурпурной приводит к уменьшению площади белой пульпы в сравнении с показателями, полученными у крыс, которым на фоне действия толуола корректор не вводился. Наиболее выраженные изменения гистоморфометрических показателей белой пульпы, которые возникали в условиях действия настойки эхинацеи пурпурной, касались преимущественно уменьшения площади герминативных центров лимфатических узелков и их краевой зоны.

**Ключові слова: селезінка, гістологія, біла пульпа, толуол, ехінацея пурпура.**

Селезінка – це найбільший вторинний лімфоїдний орган, вивчення особливостей будови якого викликає зацікавленість багатьох вітчизняних [1, 3, 4, 5, 7] та закордонних дослідників [8]. Досить велика кількість морфологічних робіт, що були опубліковані останніми роками, присвячена вивченню особливостей будови органів за умов впливу різних екзогенних факторів [6]. Такий інтерес науковців пояснюється несприятливою екологічною ситуацією, яка склалася у багатьох країнах світу. Відомо, що близько 100 тис. хімічних сполук перебувають у постійному обігу в сфері виробництва та побуті, а близько 20 тис. з них відносяться до категорії високотоксичних. Досить велика кількість сполук володіє імунотоксичною дією. Відомо, що стан імунної системи – це найбільш значущий показник впливу ксенобіотиків на організм людини [2]. Серед таких сполук можна виділити толуол, який широко розповсюджений у навколишньому середовищі. Тому метою дослідження стало вивчення особливостей будови селезінки старих білих щурів, які на тлі дії толуолу отримували настоянку ехінацеї пурпурної.

#### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Самці білих лабораторних щурів (*Rattus norvegicus albinus*) 20-місячного віку з початковою масою тіла 300–330 г були отримані з віварію ДЗ «Луганський державний медичний університет». Після отримання з віварію щури протягом 1 тижня проходили акліматизацію. Тварини були розділені на 3 серії (по 90 тварин в кожній) – контрольну (К), перша експериментальна (І) та друга експериментальна (І-ЕХ). Щури І (зазнавали впливу толуолу) та І-ЕХ (на тлі впливу толуолу отримували настоянку ехінацеї пурпурної) серій зазнавали інгаляційного впливу толуолу у концентрації 500 мг/м<sup>3</sup>. Експозиції цієї речовини здійснювалися 5 годин/добу 5 днів/тиждень. Загальна кількість експозицій становила 60 разів. Контрольні тварини знаходилися в умовах, відповідних до таких, що були створені для щурів І серії (за виключенням контакту з толуолом). Згадана концентрація діючої речовини створювалася за допомогою спеціальної установки, яка складається з (1) затравочної камери, де містилися тварини, (2) камери, у якій створювалася необхідна концентрація діючої речовини, (3) датчика толуолу та (4) допоміж-

ного оснащення. В експерименті було використано толуол, що вироблено на ЗАТ «Макрохім» (Київ, Україна). Настоянку ехінацеї пурпурової шурам серії I-EX вводилася в порожнину шлунку за допомогою зонда у дозі 0,2 мл/кг за 30 хвилин перед кожною експозицією. В експерименті було використано настоянку ехінацеї пурпурової (виробництво ЗАТ Фармацевтична фабрика «Віола», м. Запоріжжя).

Протягом експерименту шури знаходилися в клітках, в кожній з яких містилася група з 6 тварин. В кімнатах, де знаходилися тварини, температура повітря підтримувалася на рівні  $220 \pm 30 \text{ C}$  за відносної його вологості від 40% до 60%. Дослідження проводилося у відповідності до етичних норм та рекомендацій щодо гуманізації роботи з лабораторними тваринами, які відображені у «Європейській конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших цілей» (Страсбург, 1986), яка вступила в силу 1 січня 1991 року, та при дотриманні «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», що затверджені І Національним Конгресом з біоетики (Київ, 2001), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006). Після закінчення останньої експозиції тварин виводили з експерименту шляхом дислокації шийних хребців під ефірним наркозом через 1, 7, 15, 30 та 60 днів (1, 2, 3, 4 та 5 групи відповідно), дотримуючись «Методичних рекомендацій з виведення лабораторних тварин з експерименту».

Після органомеричного дослідження органи фіксувалися у 10% розчині формаліну. Перед проведенням гістологічного дослідження органи зневоднювали в етиловому спирті з концентрацією, яка збільшувалася, проводилися через хлороформ та хлорофома-парафінову суміш і парафін з додаванням воску та заливалися у парафіново-воскові блоки. Після виготовлення на санному мікроскопі зрізів завтовшки близько 4 мкм забарвлювали зрізи гематоксиліном та еозином і розміщували їх у канадському бальзамі під покривним склом. Кожне предметне скло відповідним чином маркували. Крім зазначеного вище метода забарвлення використовували забарвлення гістологічних препаратів селезінки за Перлсом для візуалізації сидерофагів. Після цього вивчали будову органів за допомогою мікроскопа Olympus BX-41, використовуючи різне збільшення.

Гістоморфометричні показники селезінки (площа білої (БП) та червоної пульпи (ЧП), сполучнотканинний компонент, площа субкомпаратментів селезінки – гермінативний центр (ГЦ), мантійна (МнЗ) та крайова зона (КЗ) лімфатичних вузликів (ЛВ), площа періартеріальної лімфатичної піхви (ПАЛП) та її КЗ) вимірялися за допомогою програми ImageJ 1.46g, після чого отримувалися відносні величини згаданих показників. Отримані цифрові дані були занесені до протоколів, після чого було проведено їх статистичну обробку за допомогою програми STATISTICA

6.0. У процесі статистичної обробки даних отримували середнє, мінімальне, та максимальне значення відповідного показника для групи тварин. Крім того, отримували значення стандартного відхилення. Різницю між середніми показниками вибірок оцінювали за критерієм Ст'юдента (t). Критичним його значення вважали на рівні 2,23. Показник вірогідності різниці між середніми показниками р визначали для кожного випадку порівняння. Достовірною різницю вважали при  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Середній показник площі, що займала БП селезінки тварин серії I-EX, через 1 та 7 днів після припинення дії толуолу склав відповідно 44,19% та 43,92%. Ці дані перевищували контрольні значення на 9,00% ( $p=0,277$ ) та 6,42% ( $p=0,148$ ), проте були нижче даних, одержаних у тварин, які на тлі дії толуолу коректор не отримували, на 8,60% ( $p=0,178$ ) та 8,58% ( $p=0,083$ ). Частка БП у шурів 4 та 5 груп виявилася на рівні 43,24% та 39,92%, що менше значень відповідних груп серії I на 9,08% ( $p=0,088$ ) та 10,21% ( $p=0,031$ ). В останньому випадку зазначена різниця виявилася статистично вірогідною.

Частка ЧП селезінки шурів, які на тлі дії толуолу отримували настоянку ехінацеї, становила 46,28%, 47,75% та 45,31% через 1, 7 та 15 днів після припинення дії толуолу відповідно. Ці дані були нижче контролю на 8,54% ( $p=0,290$ ), 6,43% ( $p=0,132$ ) та 4,85% ( $p=0,363$ ). При цьому вони були більшими за дані, які ми отримали у тварин, які коректор під час впливу толуолу не одержували, на 9,10% ( $p=0,290$ ), 9,07% ( $p=0,145$ ) та 10,84% ( $p=0,205$ ) відповідно. Через 30 та 60 днів після припинення дії толуолу площа, яку займала червона пульпа нами була зафіксована на рівні 45,82% та 50,66%, що менше контрольних показників у відповідних групах на 6,13% ( $p=0,449$ ) та 2,91% ( $p=0,282$ ).

Відносна частка сполучної тканини на гістологічних препаратах селезінки шурів серії I-EX через 1 та 7 днів після припинення дії толуолу склала відповідно 9,53% та 8,33%, що більше контрольних значень на 7,56% ( $p=0,356$ ) і 8,18% ( $p=0,072$ ) та більше даних, одержаних у тварин, які під час дії толуолу коректор не отримували, на 3,25% ( $p=0,627$ ) та 1,83% ( $p=0,687$ ). В інших групах тварин статистично вірогідної різниці між середніми значеннями зазначеного показника не спостерігали.

Відносна площа періартеріальної області ПАЛП у шурів 1 та 2 групи, які на тлі дії толуолу отримували настоянку ехінацеї, склала відповідно 35,20% та 35,01%. Ці дані виявилися вище контрольних значень на 0,17% ( $p=0,981$ ) та 4,48% ( $p=0,298$ ). При цьому вони були нижче значень відповідних груп I серії тварин на 3,90% ( $p=0,538$ ) та 2,64% ( $p=0,569$ ). Через 30 та 60 днів після припинення дії толуолу зазначений показник виявився на рівні 39,23%

та 35,71 %, що було вище контрольних значень на 11,89 % ( $p=0,150$ ) та 7,40 % ( $p=0,027$ ) і вище значень, отриманих у щурів, які зазнавали тільки впливу толуолу, на 7,92 % ( $p=0,187$ ) та 4,54 % ( $p=0,308$ ). При вивченні відносної площі КЗ у структурі ПАЛП статистично вірогідну різницю між середніми показниками спостерігали лише в 5 групі тварин контрольної та І серій.

Під дією настоянки ехінацеї, яка вводилася щурам на тлі впливу толуолу, відносна частка ГЦ у структурі лімфатичного вузлика зменшувалася. Так через 1 та 7 днів після припинення дії толуолу у щурів І-ЕХ серії зазначений показник був нижче даних відповідних груп І серії на 11,10 % ( $p=0,087$ ) та 10,72 % ( $p=0,037$ ). Різниця з даними контрольної серії при цьому була статистично невірогідною. Відносна площа МнЗ лімфатичного вузлика селезінки щурів І-ЕХ серії у порівнянні з даними серії І збільшувалася на 16,41 % ( $p=0,006$ ) та 22,36 % ( $p=0,003$ ) в 1 та 4 групах відповідно, що виявилось статистично вірогідним. Частка КЗ лімфатичного вузлика дещо зменшувалася у порівнянні з відповідними показниками тварин І серії. Статистично вірогідну розбіжність між ними зафіксували через 1, 7 та 30 днів після припинення дії толуолу – 6,05 % ( $p=0,006$ ), 5,81 % ( $p=0,023$ ) та 9,37 % ( $p=0,026$ ) відповідно.

#### ВИСНОВКИ

Введення білим щурам періоду виражених старечих змін настоянки ехінацеї пурпурової на тлі інгаляційного впливу толуолу у концентрації 500 мг/м<sup>3</sup> приведе до зменшення площі білої пульпи у порівнянні з показниками, одержаними у щурів, які коректор не отримували.

Більш виразні зміни гістоморфометричних показників білої пульпи, що виникали за умови дії настоянки ехінацеї пурпурової, торкалися переважно площі гермінативних центрів лімфатичних вузликів та їх крайової зони.

*Робота виконана відповідно до плану наукових досліджень ДЗ «ЛДМУ» «Морфогенез органів ендокринної, імунної та кісткової систем під хронічним впливом летучих компонентів епоксидних смол» (№ держреєстрації – 0109U004615).*

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Волошин Н. А. Тимус новорожденных/Н. А. Волошин, Е. А. Григорьева. – Запорожье, 2011. – 154 с.
2. Давтян С. А. Влияние антропогенных факторов на окружающую среду и экологию человека/С. А. Давтян, К. Т. Казарян//Экологический вестник. – 2011. – № 4. – С. 18–24.
3. Кащенко С. А. Органометрические особенности строения тимуса белых крыс после иммуностимуляции и иммуносупрессии/С. А. Кащенко, А. А. Захаров//Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2009. – Т. 4, № 3. – С. 50–52.
4. Ковешников В. Г. Функциональная морфология органов иммунной системы/В. Г. Ковешников, Е. Ю. Бирик. – Луганск: Виртуальная реальность, 2008. – 187 с.
5. Сікора В. З. Уразливість органів імунної системи гризунів до експозиції токсикантів протягом онтогенезу/В. З. Сікора//Український морфологічний альманах. – 2012. – Т. 10, № 2. – С. 133–136.
6. Фомина К. А. Протекторное действие эхинаеи пурпурной при нарушениях гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной системы, индуцированных эпихлоргидрином/К. А. Фомина, А. А. Захаров//Материалы VIII Международной научной конференции «Дни науки – 2012». – Прага, 27 марта – 5 апреля 2012. – Praha. – 2012. – № 69. – С. 28–29.
7. Шепітько В. І. Характеристика структурних елементів селезінки при трансплантації кріоконсервованої плаценти/В. І. Шепітько, В. В. Кацай, К. В. Шепітько//Світ медицини та біології. – 2011. – № 2. – С. 76–78.
8. Spoor M. S. Characterization of age- and gender-related changes in the spleen and thymus from control cynomolgus macaques used in toxicity studies/M. S. Spoor, Z. A. Radi, R. W. Dunstan//Toxicologic Pathology. – 2008. – Vol. 36. – P. 695–704.