

Пайдаркіна Анастасія Петрівна,
аспірант 2 року навчання,
Запорізький національний університет
ORCID ID: 0009-0001-4436-1532
м. Запоріжжя, Україна

Куц Оксана Георгіївна,
доктор біологічних наук, професор,
завідувач кафедри фізіології, імунології і біохімії
з курсом цивільного захисту та медицини,
Запорізький національний університет
ORCID ID: 0000-0003-3827-3752
м. Запоріжжя, Україна

Особливості будови лімфоїдної тканини серозних оболонок щурів у нормі і при спайковій хворобі

Вступ: 3 числа абдомінальних порушень внаслідок воєнних дій через післяопераційні ускладнення близько 20% пацієнтів страждають від прогресуючого спайкового процесу. А 30% пацієнтів вимушені вдаватися до повторних операційних заходів через спайкову непрохідність кишківника. Досі до кінця не з'ясовано патогенез спайкової хвороби. Необхідним залишається дослідження механізму формування спайок в черевній порожнині при спайковій непрохідності для розробки тактики та комплексного підходу до їх лікування. SALC та FALC були описані як важливі центри забезпечення першої лінії захисту в структурі слизових оболонок за рахунок вродженого і набутого імунітету. Фізіологічне значення тісного зв'язку лімфоїдних кластерів з вісцеральною і парістальною очервиною потребує подальшого вивчення. **Мета:** дослідити особливості топографії і кількості лімфоїдних кластерів, асоційованих з жировою тканиною FALC і асоційованих з серозною оболонкою SALC в нормі і при спайковій хворобі у щурів. **Методологія та методи дослідження:** препарування, макроскопічний, мікроскопічний, гістологічний (виготовлення плівкових препаратів), забарвлення гематоксиліном і еозином, математичний. Виклад основного матеріалу дослідження: Результати показали, що існують суттєві особливості та відмінності в структурі спайок в залежності від терміну і стадії захворювання. Площа серозоасоційованих SALC і FALC варіювала на кожному терміні розвитку спайкової хвороби. У піддослідних тварин на 14 та 21 добу виявлено, що лімфоїдні кластери мали переважно неправильну витягнуту форму та локалізувалися переважно біля кровоносних судин. Загальний топографічний малюнок молочних плям в експериментальних групах був подібним до такого у тварин інтактною групи, але впродовж експерименту спостерігалось збільшення їх діаметра та кількості скупчень.

Висновки з дослідження. Дослідження показали, що спайкова хвороба характеризується збільшенням розмірів лімфоїдних кластерів SALC і FALC і їх кількості на досліджувану одиницю площі брижі кишківника з 7 по 21 день експериментального моделювання: на 7 добу спостерігали поодинокі дрібні грануляції розміром 0,6-0,8 мм; на 14 добу виявлено 4,5 SALC і 3,1 FALC на досліджувану площу, білі зернисті скупчення розміром 0,5-1,3 мм; на 21 добу – рясне скупчення овальних білуватих структур діаметром 1,2-1,8 мм у кількості 7,2 і 9,1 на досліджувану площу відповідно.

Ключові слова: очервина, шлунково-кишковий тракт, імунітет, щури, мікроскопія, спайкова хвороба, гістологічні зміни, морфометрія.

Paidarkina Anastasia Petrivna, Postgraduate Student of the 2nd year of study, Zaporizhsky National University, ORCID ID: 0009-0001-4436-1532, Zaporizhzhia, Ukraine

Kushch Oksana Georgiivna, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Physiology, Immunology and Biochemistry with a Course in Civil Defense and Medicine, Zaporizhsky National University, ORCID ID: 0000-0003-3827-3752, Zaporizhzhia, Ukraine

Features of the structure of lymphoid tissue of serous membranes of rats in normal and with adhesion disease

Introduction. From the number of abdominal disorders due to military actions due to postoperative complications, about 20% of patients suffer from a progressive adhesion process. And 30% of patients are forced to resort to repeated surgical procedures due to adhesive intestinal obstruction. The pathogenesis of adhesion disease has not yet been fully elucidated. It is still necessary to study the mechanism of formation of adhesions in the abdominal cavity with adhesion obstruction in order to develop tactics and a comprehensive approach to their treatment. SALC and FALC have been described as important centers for providing the first line of defense in the structure of mucous membranes due to innate and acquired immunity. The physiological significance of the close connection of lymphoid clusters with the visceral and parietal peritoneum requires further study. **Purpose:** to investigate the peculiarities of the topography and number of lymphoid clusters associated with adipose tissue of FALC and associated with the serous membrane of SALC in normal and in adhesion disease in rats. **Research methodology and methods:** preparation, macroscopic, microscopic, histological (production of film preparations), staining with hematoxylin and eosin, mathematical. Summary of the main material of the study: The results showed that there are significant features and differences in the structure of adhesions depending on the term and stage of the disease. The area of sero-associated SALC and FALC varied at each term of adhesion disease development. In experimental animals on the 14th and 21st days, it was found that the lymphoid clusters had mostly an irregular elongated shape and were localized mainly near blood vessels. The general topographical pattern of milk spots in the experimental groups was

similar to that in animals of the intact group, but during the experiment, an increase in their diameter and number of clusters was observed. **Conclusions from the study.** Studies have shown that adhesion disease is characterized by an increase in the size of SALC and FALC lymphoid clusters and their number per studied unit of intestinal mesentery area from the 7th to the 21st day of the experimental simulation: on the 7th day, single small granulations with a size of 0.6-0.8 mm were observed; on the 14th day, 4.5 SALC and 3.1 FALC were found on the studied area, white granular clusters of 0.5-1.3 mm in size; on the 21st day – abundant accumulation of oval whitish structures with a diameter of 1.2-1.8 mm in the number of 7.2 and 9.1 per studied area, respectively.

Key words: peritoneum, gastrointestinal tract, immunity, rats, microscopy, adhesion disease, histological changes, morphometry.

Вступ. Спайкова хвороба очеревини є поширеним явищем, частота якого в останні роки набирає обертів, і є однією з найскладніших і невирішених проблем сучасної абдомінальної хірургії. З числа абдомінальних порушень внаслідок воєнних дій через післяопераційні ускладнення близько 20% пацієнтів страждають від прогресуючого спайкового процесу. А 30% пацієнтів вимушені вдаватися до повторних операційних заходів через спайкову непрохідність кишківника [1, 2]. У зв'язку з цим особливо важливим є вивчення консервативного лікування, а також причин виникнення спайкова хвороба очеревини з метою запобігання виникненню гострої кишкової непрохідності. З цією метою необхідним залишається дослідження механізму формування спайок в черевній порожнині при спайковій непрохідності та за відсутності, для розробки тактики та комплексного підходу до їх лікування.

Досі до кінця не з'ясовано патогенез спайкової хвороби. При травмуванні очеревини мезотелій злучується та розвивається асептичне, а при наявності інфекції, септичне запалення з просоченням фібрину. Фібрин, який просочується, склеює брижу і листки вісцеральної та парієтальної очеревини [3].

У порожнинах, крім лімфатичних вузлів, локалізовані спеціальні лімфоїдні скупчення і дифузна лімфатична тканина, якій притаманний як вроджений, так і адаптивний імунітет [4]. Плевральна, перикардальна та перитонеальна порожнини вистелені серозними мембранами з імуноактивним мезотелієм і містять жирові клітини, які відіграють специфічну роль у вродженому та адаптивному імунітеті. Разом вони утворюють імунну систему серозних оболонок [5].

Серозно-асоційовані лімфоїдні скупчення SALC (serosa-associated lymphoid clusters) виявляються в безжировій частині серозної оболонки очеревини; SALC переважно локалізуються в очеревині, осерді, середостінні та перикарді і вважаються периферичними лімфоїдними органами; примітною особливістю SALC є наявність багатьох спонтанних лімфоцитів на додаток до звичайної субпопуляції лімфоцитів [6].

Жироасоційовані скупчення лімфоцитів (FALC), також відомі як молочні плямоподібні структури, присутні в жирових резервуарах очеревини, перикарда, середостіння та плеври, характеризуються структурною подібністю, містять різні субпопуляції лімфоцитів і виконують функції, подібні до SALC. В мікрооточенні даних лімфоїдних кластерів важливу роль відіграє склад цих скупчень, що потребує подальшого детального вивчення [7].

SALC та FALC були описані як важливі центри забезпечення першої лінії захисту в структурі слизових оболонок за рахунок вродженого і набутого імунітету [8].

На даний момент роль B_1 - і $\gamma\delta$ T- лімфоцитів у неспецифічній імунній відповіді серозних оболонок кишківника досліджено недостатньо.

Взаємодія між різними типами імунних клітин має важливе значення як для вроджених, так і для адаптивних імунних реакцій на патогени. Такі взаємодії вимагають стратегічно розташованого мікросередовища, щоб збільшити шанси на активацію рідкісних Toll-подібних рецепторів лімфоцитів. До цих мікросередовищ належать адипоцити, клітини сполучної тканини та клітини фібрилярного походження [9].

Фізіологічне значення тісного зв'язку лімфоїдних кластерів з вісцеральною і парієтальною очеревиною потребує подальшого вивчення. Можливе припущення, що у жироасоційованих кластерів FALC є своя специфічна роль в підтримці імунної відповіді, що є прагненням подальшого вивчення ролі FALC [10].

Після впливу антигену відмічається зміст кількості клітин, збільшення площі клітин на умовну одиницю площі, на що вказує наша попередня робота [11].

Метою нашого дослідження було дослідити особливості топографії і кількості лімфоїдних кластерів, асоційованих з жировою тканиною FALC і асоційованих з серозною оболонкою SALC в нормі і при спайковій хворобі у щурів.

Методологія та методи дослідження. Для дослідження були відібрані самці білих щурів ($n=20$) масою 150-220 г. Тварин утримували в стандартних умовах виварію за температури $(25\pm 2)^\circ\text{C}$, відносної вологості $(53\pm 5)\%$ та цілодобової освітленості при стандартному раціоні харчування з вільним доступом до корму та питної води.

Використання суспензії тальку в процесі формування перитонеальної адгезії у лабораторних тварин є найбільш доступним, простим, оптимальним і малоінвазивним способом ініціювання експериментального спайкоутворення [12].

Тварин було розподілено на дві групи: I група ($n=10$) – інтактні тварини; щурам II групи однократно вводили по 0,5 мл 20% суспензії тальку. Речовину готували на воді для ін'єкцій і вводили внутрішньоочеревинно за допомогою шприца.

Для вивчення динаміки формування спайкової хвороби піддослідних виводили з експерименту на 7, 14 та 21 добу експерименту, знеболюючи хлороформом. Розтин і забір матеріалу для подальших досліджень виконувався в умовах анестезії хлороформом з дотриманням нормативів Конвенції з біоетики Ради Європи 1997 року, Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001 р.).

Плівкові зразки брижі кишківника відбирали у всіх груп щурів і переносили на продезінфіковану поверхню тонкого пінопласту (розміром 1x1 см), щоб запобігти деформації структури, притаманної плівковому матеріалу [13]. Брижа кишківника представляє собою дуплікатуру листків очеревини перетинчастої і прозорої структури, тому існує можливість вивчення її з обох сторін.

Після забору біологічного матеріалу, плівкові зразки брижі кишківника фіксували в 10% нейтральному формаліні протягом 24 годин і промивали в проточній воді протягом 2 годин. Забарвлення гематоксилін-еозином проводили за загальноприйнятою методикою (2-5 хв у гематоксиліні Ерліха, 0,5-1 хв в 1% розчині еозину та оптично контролювали диференціацію в 1% HCl). Підготовлені шматочки брижі заключали в желатин-гліцеринове середовище і вивчали на різних мікроскопічних збільшеннях.

Виклад основного матеріалу дослідження. З метою вивчення структурних особливостей спайкоутворення черевини, нами було проведено дослідження спайкових утворень (точкоподібних, локусів, тяжів) на різних термінах його перебігу, що дозволило об'єктивно оцінити динаміку спайкового процесу. Результати показали, що існують суттєві особливості та відмінності в структурі спайок в залежності від терміну і стадії захворювання.

На 7 добу у тварин спостерігалися тонкі і гомогенні спайки, що легко видалялися. Були на вигляд плівкоподібними і прозорими, схожими на білуваті лусочки, які спаювали оточуючі тканини.

На 14-ту добу у тварин спостерігався проміжний тип спайкового процесу. Черев інтенсивні процеси вироблення і стиснення колагену, перебудови судин виникає явище запалення з набряком і огрубінням утворених спайкових тяжів, які стають жорсткими і невіддатливими, зменшували рухливість органів в абдомінальній порожнині.

На 21 добу дослідження формування спайкового процесу завершується утворенням щільних спайок з помітними твердими агрегатами неоднорідної структури. В результаті утворилися сполучнотканинні утворення високої щільності і викликають затиснення рухомих сегментів кишечника, що призводить до гострої спайкової кишкової непрохідності. Рідини, гази в просвіті кишківника свідчили про порушення кишкової прохідності і перистальтики. Макроскопічно це було виражено масштабними поширеними набряковими явищами і кровонаповненням кровоносних судин.

У нормі лімфоїдні кластери (FALC і SALC) кишківника інтактних щурів характеризуються округлою

формою, діаметром 1-2 мкм, і дифузно розподілені по серозній оболонці брижі. При макроскопічному огляді нагадують поодинокі білуваті гранули поблизу лімфатичних вузлів і навколо кровоносних капілярів.

Дослідження показало, що площа серозасоційованих SALC і жирасоційованих лімфоїдних кластерів FALC варіювала на кожному терміні розвитку спайкової хвороби.

На 7 добу у тварин дослідної групи спостерігали поодинокі дрібні грануляції розміром 0,6-0,8 мм біло-сірого кольору на серозній оболонці очеревини, біля жирових скупчень кількість FALC залишилася незмінною.

На 14 добу було досліджено 4,5 SALC і 3,1 FALC на досліджувану площу 10 000 мкм² і виглядали як білі зернисті скупчення розміром 0,5-1,3 мм; на 21 добу у тварин IV групи спостерігали рясне скупчення овальних білуватих структур діаметром 1,2-1,8 мм поблизу кровоносних судин на серозній оболонці і жировій тканині брижі кишківника у кількості 7,2 і 9,1 на досліджувану площу 10 000 мкм² відповідно (Табл. 1).

У піддослідних тварин на 14 і 21 добу спайкоутворення виявлено, що лімфоїдні кластери мали переважно неправильну витягнуту форму та локалізувалися переважно біля кровоносних судин. Загальний топографічний малюнок молочних плям в експериментальних групах був подібним до такого у тварин інтактної групи, але впродовж експерименту спостерігалось збільшення їх діаметра та кількості скупчень.

На рисунку 1 представлено скупчення лімфоцитів в брижі тонкого кишківника на 21-у добу дослідження, які відіграють роль основної складової лімфоїдного кластера, асоційованого з жировою тканиною (FALC). Мікрооточення подібних скупчень потребує подальшого детального дослідження.

На 30 день експерименту не спостерігалось змін, результати досліджень достовірно не відрізнялися від картини спайкоутворення на 21 добу моделювання, що свідчить про завершення процесу формування спайок.

Висновки з дослідження. Дослідження показали, що спайкова хвороба характеризується збільшенням розмірів лімфоїдних кластерів SALC і FALC і їх кількості на досліджувану одиницю площі брижі кишківника з 7 по 21 день експериментального моделювання: на 7 добу спостерігали поодинокі дрібні грануляції розміром 0,6-0,8 мм; на 14 добу виявлено 4,5 SALC і 3,1 FALC на досліджувану площу, білі зернисті скупчення розміром 0,5-1,3 мм; на 21 добу – рясне скупчення овальних білуватих структур діаметром 1,2-1,8 мм у кількості 7,2 і 9,1 на досліджувану площу відповідно.

Таблиця 1

Кількісна характеристика лімфоїдних кластерів на досліджувану площу 10 000 мкм² в брижі кишківника у щурів в нормі і при спайкоутворенні (M±m)

Кількісний показник лімфоїдних кластерів	I-а група	II-а група (експериментальна)		
	(інтактні тварини)	7-а доба	14-а доба	21-а доба
FALC, кількість	2,75±0,12	2,8±0,15	3,1±0,31*	9,1±0,11*
SALC, кількість	1,9±0,04	2,3±0,08	4,5±0,07*	7,2±0,02*
загальна кількість, кількість	4,65±0,16	5,1±0,23	7,6±0,38*	16,3±0,13*

Примітка: * – $p < 0,001$ порівняно з 1-ю інтактною групою

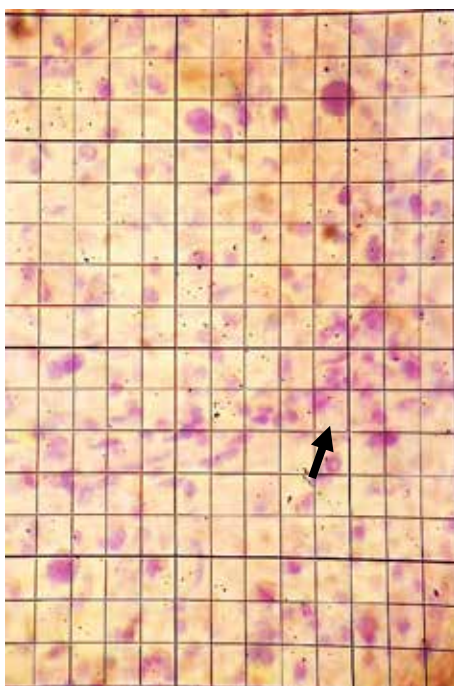


Рис. 1. Брижа тонкої кишки. FALC: локалізація лімфоцитів скупченнями у жировій тканині на 21 добу моделювання експериментального спайкового процесу. Плівчастий препарат. Гематоксилін і еозин. Заключення в бальзам. Збільшення: 10x40

ЛІТЕРАТУРА

1. Бойко В.В., Тарабан І.А., Брома В.Г., Криворотько І.В. Вибір доступу для відновлення цілісності товстої кишки на тлі спайкової резекції товстої кишки. *Харківська хірургічна школа*, 2013. № 1. С. 23–25.
2. Бондарьов Р.В. Оптимізація комплексного лікування спайкової хвороби черевної порожнини. Харківська хірургічна школа, 2013. № 1(58). С. 112–114.
3. Хашук В.С. Механізми розвитку спайкового процесу очеревинної порожнини (огляд літератури). *Клінічна та експериментальна патологія*, 2021. № 4(78). С. 137–145.
4. Cruz-Migoni, S., Caamaño, J. Fat-associated lymphoid clusters in inflammation and immunity. *Front. Immunol*, 2016, № 7. С. 7-10.
5. Kooter, I., Ilves, M., Gröllers-Mulderij, M., Duistermaat, E., Tromp, P.C., Kuper, F., Kinaret, P., Savolainen, K., Greco, D., Karisola, P. et al. Molecular Signature of Asthma-Enhanced Sensitivity to CuO Nanoparticle Aerosols from 3D Cell Model. *ACS Nano*, 2019. № 13. P. 6932–6946.
6. Kuper, C.F., Pieters, R.H.H., van Bilsen, J.H.M. Nanomaterials and the Serosal Immune System in the Thoracic and Peritoneal Cavities. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, № 22, P. 2610–2617.
7. Jackson-Jones L.H., Bénézech C. FALC stromal cells define a unique immunological niche for the surveillance of serous cavities. *Curr. Opin. Immunol.*, 2020. № 64, P. 42–49.
8. Bénézech, C., Jackson-Jones, L.H. ILC2 Orchestration of Local Immune Function in Adipose Tissue. *Front. Immunol*, 2019. № 10, P. 171–176.
9. Cruz-Migoni S, Caamaño J. Fat-Associated Lymphoid Clusters in Inflammation and Immunity. *Front Immunol*. 2016. № 7. P. 612–618.
10. Ma Q. Polarization of Immune Cells in the Pathologic Response to Inhaled Particulates. *Front. Immunol*, 2020. № 11. P. 1060–1064.
11. Пайдаркіна А. П., Куш О. Г. Морфофункціональні зміни очеревини і її структур при спайковій хворобі. *Вісник проблем біології і медицини*, 2024, № 1(172). С. 97–106.
12. Волянська А.Г., Сивоконюк О.В. Порівняльний аналіз впливу сульфату барію і тальку на інтенсивність спайкового процесу у самок білих щурів. *Інтегр. Антроп*, 2012; № 1(19). С. 58–61.
13. Пайдаркіна А. П., Куш О. Дослідження морфологічних особливостей очеревини білих щурів й методика її забору. *Морфологія*, 2023. № 3(17). С. 162–167.

REFERENCES

1. Boyko, V.V., Taraban, I.A., Broma, V.H. & Kryvorot'ko, I.V. (2013) Vybir dostupu dlya vidnovlennya klityny tovstoyi kyshky na tli spaykovoyi rezektsiyi tovstoyi kyshky [Choice of access for restoration of colonic integrity in the setting of colonic adhesion resection]. *Kharkivs'ka khirurhichna shkola*, 2013. №. 1, 23–25. [in Ukrainian]

-
2. Bondar'ov, R.V. (2013) Optyimizatsiya kompleksnoho likuvannya spaykovoyi khvoroby cherevnoyi khvoroby [Optimization of the complex treatment of adhesion disease of the abdominal cavity]. *Kharkivs'ka khirurgichna shkola*, 2013. № 1(58), 112–114. [in Ukrainian]
 3. Khashchuk, V.S. (2021) Mekhanizmy rozvytku spaykovoho protsesu ocherevynnoyi porozhnyny (ohlyad literatury) [Mechanisms of the development of the adhesion process of the peritoneal cavity (literature review)]. *Klinichna ta eksperymental'na patolohiya*, 2021. № 4(78), 137–145. [in Ukrainian]
 4. Cruz-Migoni, S. & Caamaño, J. (2016) Fat-associated lymphoid clusters in inflammation and immunity. *Front. Immunol.*, № 7. pp. 7–10. [in English]
 5. Kooter, I., Ilves, M., Gröllers-Mulderij, M., Duistermaat, E., Tromp, P.C., Kuper, F., Kinaret, P., Savolainen, K., Greco, D., Karisola, P. et al. (2019) Molecular Signature of Asthma-Enhanced Sensitivity to CuO Nanoparticle Aerosols from 3D Cell Model. *ACS Nano*, № 13. pp. 6932–6946. [in English]
 6. Kuper, C.F., Pieters, R.H.H. & van Bilsen, J.H.M. (2021) Nanomaterials and the Serosal Immune System in the Thoracic and Peritoneal Cavities. *Int. J. Mol. Sci.*, № 22, pp. 2610–2617. [in English]
 7. Jackson-Jones, L.H. & Bénézéch, C. (2020) FALC stromal cells define a unique immunological niche for the surveillance of serous cavities. *Curr. Opin. Immunol.*, № 64, pp. 42–49. [in English]
 8. Bénézéch, C. & Jackson-Jones, L.H. (2019) ILC2 Orchestration of Local Immune Function in Adipose Tissue. *Front. Immunol.*, № 10, pp. 171–176. [in English]
 9. Cruz-Migoni S. & Caamaño, J. (2016) Fat-Associated Lymphoid Clusters in Inflammation and Immunity. *Front Immunol.* № 7. pp. 612–618. [in English]
 10. Ma, Q. (2020) Polarization of Immune Cells in the Pathologic Response to Inhaled Particulates. *Front. Immunol.*, № 11. pp. 1060–1064. [in English]
 11. Paidarkina, A. P. & Kushch, O. G. (2024) Morfofunktsional'ni zminy ochirevyny i yiyi struktury pry spaykoviy khvorobi [Morphofunctional changes of the peritoneum and its structures in adhesion disease] *Visnyk problem biolohiyi i medytsyny*, 2024, № 1(172), 97–106. [in Ukrainian]
 12. Volyans'ka, A.G. & Syvokonyuk, O.V. (2012) Porivnyal'nyy analiz vplyvu sul'fatnoho bariyu i tal'ku na intensyvnist' spaykovoho protsesu u samok bilykh shchuriv [Comparative analysis of the influence of barium sulfate and talc on the intensity of the adhesion process in female white rats]. *Intehr. Antrop.*, № 1 (19), 58–61. [in Ukrainian]
 13. Paydarkina, A.P. & Kushch, O. (2023) Doslidzhennya morfolohichnykh osoblyvostey ocherevyny bilykh shchuriv y metodyka yiyi zaboru [Study of the morphological features of the peritoneum of white rats and the method of its collection]. *Morfolohiya*, 2023. № 3(17), 162–167. [in Ukrainian]