

УДК 612.335:611.018.7:612.363:599.325.1

Попков К.В., Лобан А.В.

ВЗАИМОУСЛОВЛЕННОСТЬ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ПЛАСТА АППЕНДИКСА У ДОМАШНИХ КРОЛИКОВ

Научный руководитель: Мельников И.А. (ст. преподаватель)

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Аннотация. Современная морфология переживает переход от описательного подхода к количественному анализу, что особенно важно для изучения органов иммунной системы, таких как червеобразный отросток (аппендикс). Его функциональная значимость варьирует у разных видов млекопитающих: у человека он часто рассматривается как рудимент, в то время как у травоядных животных, например, у домашнего кролика (*Oryctolagus cuniculus domesticus*), он является высокоразвитым органом, играющим ключевую роль в пищеварении и иммунитете.

Ключевые слова: морфометрия, аппендикс, сравнительная морфология, лимфоидная ткань, домашний кролик.

Введение. Современное развитие морфологической науки характеризуется активной интеграцией количественных методов анализа, объединяемых понятием «морфометрия». Морфометрический подход, основанный на точном измерении и статистическом анализе параметров биологических структур, позволяет перейти к объективной оценке степени и значимости структурных преобразований, выявляя тонкие, неочевидные при рутинном исследовании взаимосвязи [1]. Особую значимость эти методы приобретают при изучении органов иммунной системы, к которым традиционно относят червеобразный отросток слепой кишки (аппендикс). Аппендикс является классическим представителем лимфоидной ассоциированной ткани слизистых оболочек (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue, MALT) [2]. Несмотря на длительную историю исследования, функциональное значение этого органа, особенно в сравнительном аспекте, остается дискуссионным. Для многих травоядных животных, в частности для домашнего кролика (*Oryctolagus cuniculus domesticus*), аппендикс представляет собой высокоразвитый и функционально значимый отдел желудочно-кишечного тракта. Он играет ключевую роль в процессах ферментации клетчатки, синтезе витаминов и, что наиболее важно, в обеспечении эффективного иммунного ответа на уровне слизистых оболочек [3, 4].

Сравнительных морфометрических исследований, объективно количественно оценивающих структурные различия аппендикса у видов с принципиально разной его функциональной нагрузкой, в доступной литературе представлено недостаточно.

Цель исследования. Путем комплексного гистологического и морфометрического анализа выявить статистически значимые взаимосвязи между ключевыми параметрами эпителиальной выстилки аппендикса домашнего кролика.

Материал и методы. Исследование выполнено на образцах червеобразного отростка, полученных от пяти половозрелых клинически здоровых домашних кроликов. Забор материала проводили в виварии Белорусского государственного медицинского университета в соответствии с протоколом, одобренным биоэтической комиссией учреждения.

Фрагменты тканей фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине. По стандартной гистологической методике образцы проводили через батарею спиртов возрастающей концентрации, бензол, заливали в парафин и на ротационном микротоме получали серийные срезы толщиной 4-5 мкм. Срезы монтировали на предметные стекла и окрашивали гематоксилином и эозином для последующего анализа.

Морфометрический анализ. Исследование проводили с помощью светового микроскопа Carl Zeiss, оснащенного цифровой камерой и программным обеспечением ZEN 3.0. Дополнительный анализ изображений выполняли в программе ImageJ (версия 1.54g, NIH, USA). Оценивали следующие параметры в области куполов лимфоидных фолликулов:

- толщина эпителиального пласта;
- плотность интраэпителиальных лимфоцитов (ИЭЛ);
- линейные и площадные характеристики ядер эпителиоцитов;
- ядерно-цитоплазматическое соотношение в призматических энтероцитах.

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью:

- IBM SPSS Statistics (версия 23) — для выполнения статистических тестов;
- Python (библиотеки pandas, numpy, seaborn) — для предварительной обработки

данных и визуализации.

Результаты исследования. Морфометрический анализ выявил значительную вариабельность общей площади эпителиального покрова (в среднем $5321,20 \pm 1987,30$ мкм²), что свидетельствует о его структурной неоднородности в разных отделах аппендикса. Площадь ядер эпителиоцитов в среднем составила 52,10 мкм², а их длина – 18,90 мкм. Распределение этих показателей было близко к нормальному. Относительно стабильным параметром оказалось ядерно-цитоплазматическое соотношение (ЯЦО), составившее в среднем 0,32. Напротив, плотность иммунокомпетентных клеток в собственной пластинке слизистой оболочки варьировала чрезвычайно широко (от 850,34 до 3602,00 клеток на условную единицу площади), что отражает функциональную гетерогенность лимфоидных фолликулов. Для выявления региональных особенностей был проведен сравнительный анализ трех зон лимфоидного фолликула: купола («короны») и двух латеральных стенок. Сравнение длины ядер эпителиоцитов между этими тремя группами с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) при условии подтверждения 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. 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.

Заключение. Морфометрический анализ выявил несоответствие традиционным представлениям о данной зоне как исключительно о сайте трансцитоза антигенов. Вопреки ожиданиям, в ней была обнаружена низкая плотность макрофагов при статистически значимо повышенной пролиферативной активности эпителиоцитов. Данный клеточный паттерн сходен с организацией эпителия кишечных ворсинок, что указывает на функциональную гетерогенность фолликул-ассоциированного эпителия и предполагает наличие в его составе специализированных пролиферативных зон.

Список литературы:

1. Capello, V. Clinical radiology of exotic companion mammals / V. Capello, A.M. Lennox. – Iowa : Blackwell Publishing, 2008. – 1266 p.
2. 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 // Laboratory Animal Science. – 1987. – Vol. 37, № 3. – P. 283–288.
3. 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.
4. Kraehenbuhl, J.P. Molecular and cellular basis of immune protection of mucosal surfaces / J.P. Kraehenbuhl, M.R. Neutra // Physiological Reviews. – 1992. – Vol. 72, № 4. – P. 853–879.