

УДК 599.323.4-014.44:612.017.1
ББК Е623.362.423.2*74*726

О.М. АРЛАШКИНА, Л.М. МЕРКУЛОВА,
Г.Ю. СТРУЧКО, М.Н. МИХАЙЛОВА

МОРФОЛОГИЯ СЕЛЕЗЕНКИ ПОТОМСТВА КРЫС СО ВТОРИЧНЫМ ИММУНОДЕФИЦИТОМ

Ключевые слова: селезенка, крысы, спленэктомия, иммунодефицит, люминесцирующие гранулярные клетки, белая пульпа, красная пульпа, биоамины.

Целью исследования явилось изучение морфофункциональной характеристики селезенки потомства крыс со вторичным иммунодефицитом, вызванным спленэктомией у самок до наступления беременности. С помощью общеморфологических и люминесцентно-гистохимических методов исследования выявлено, что у потомства спленэктомизированных крыс в белой пульпе селезенки наблюдаются уменьшение количества люминесцирующих гранулярных клеток и увеличение их количества в красной пульпе. Выявлены разнонаправленные изменения уровня биогенных аминов, уменьшение площади лимфоидных узелков и их герминативных центров, что свидетельствует о развитии гипоплазии органа и снижении его функциональной активности.

O. ARLASHKINA, L. MERKULOVA,
G. STRUCHKO, M. MIKHAYLOVA

LIEN MORPHOLOGY IN OFFSPRING OF RATS WITH SECONDARY IMMUNODEFICIENCY

Key words: lien, rats, splenectomy, immunodeficiency, luminescing granular cells, white pulp, red pulp, bioamines.

The purpose of the research was studying morpho-functional characteristics of lien in offspring of rats with the secondary immunodeficiency caused by splenectomy in females before pregnancy. By means of general morphological and luminescent-histochemical methods of study it is revealed that in splenectomized rats' offspring in the white pulp of the lien decrease in the number of luminescing granular cells and augmentation of their quantity in a red pulp are observed. Multidirectional changes in the level of biogenic amines, decrease of lymphoid nodules area and their germinal centers are detected that indicates development of organ hypoplasia and depression of its functional activity.

В настоящее время проблема снижения иммунологической реактивности населения детского возраста представляет большой интерес, поскольку у большинства больных детей обнаруживаются иммунодефицитные состояния различной степени тяжести. Известно, что недостаточность системы иммуногенеза проявляется нарушением функционирования клеточного и гуморального звеньев иммунитета и возникает в результате воздействия на организм различных факторов [3]. Основной причиной формирования антенатальных форм иммунодефицитов у детей является нарушение процессов иммунного регулирования во время беременности [4], к фактору развития которых можно отнести и удаление селезенки у будущей матери еще до наступления беременности. Известно, что спленэктомия у крыс приводит к развитию так называемого синдрома гипоспленизма, характеризующегося акцидентальной инволюцией тимуса [5]. Это проявляется снижением иммунологической реактивности не только у самих крыс, но и преждевременной инволюцией центрального органа иммунитета у их потомства [2].

Важнейшую роль в обеспечении адекватного иммунного ответа на различные антигены играет селезенка, так как именно в ней происходят окончательная антигензависимая дифференцировка В- и Т-лимфоцитов, превращение В-лимфоцитов в плазмocyты и накопление клеток-памяти.

Несмотря на имеющиеся данные о влиянии спленэктомии у матери на тимус потомства, в доступной литературе мы не встретили сведений об изменениях при этом в селезенке. Поэтому углубленное изучение селезенки потомства крыс со вторичным иммунодефицитом представляется нам весьма актуальным.

Цель исследования – изучение морфофункциональных изменений в структурах селезенки потомства крыс со вторичным иммунодефицитом через 3 и 6 месяцев после рождения.

Материалы и методы исследования. Эксперимент выполнен на 40 белых нелинейных крысах. Животные были получены посредством спаривания четырехмесячных здоровых крыс-самцов и самок со вторичным иммунодефицитом. В качестве модели вторичного иммунодефицита была выбрана спленэктомия, которую производили у самок за 1 месяц до спаривания. Все процедуры по содержанию крыс и выведению их из эксперимента производились согласно правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных и принципам Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным. Животные были разделены на две группы. Первая – потомство интактных крыс ($n = 20$). Вторая группа – потомство спленэктомизированных самок. Селезенку забирали через 3 и 6 месяцев после рождения и изготавливали криостатные срезы толщиной 10 мкм.

Методы исследования:

1) люминесцентно-гистохимический метод Фалька – Хилларпа в модификации Крохиной – для избирательного выявления серотонина и катехоламинов и метод Кросса, Эвена, Роста – для выявления гистаминсодержащих структур селезенки;

2) метод цитоспектрофлуориметрии – для количественной оценки уровней серотонина (СТ), катехоламинов (КА) и гистамина (ГСТ). Измерения производили с помощью насадки ФМЭЛ-1А, установленной на люминесцентный микроскоп ЛЮАМ-4 при выходном напряжении 600 В;

3) определение соотношения (СТ+ГСТ)/КА для оценки суммарно направленного действия биогенных аминов, увеличение которого косвенно свидетельствует о подавлении функциональной активности клеток, снижение – о стимуляции [5];

4) окраска гематоксилином и эозином с последующей морфометрией;

5) компьютерная морфометрия с использованием программы «Микро-Анализ» (Санкт-Петербург, 2010);

6) статистическая обработка с использованием лицензионного пакета программ MS Office 2003, достоверность определялась по t -критерию Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,01$.

Результаты исследования и их обсуждение. При наблюдении за самками было выявлено, что у спленэктомизированных крыс значительно снижается способность к зачатию: всего 63% из них смогли забеременеть и родить. Было замечено, что в отличие от здоровых самок, которые в помете приносят по 10-12 крысят, у крыс с удаленной селезенкой рождалось всего 5-7 крысят, к тому же жизнеспособность из них сохраняли всего лишь 57%.

При обработке препаратов селезенки люминесцентно-гистохимическими методами у крыс обеих групп визуализируются лимфоидные узелки темно-зеленого свечения и красная пульпа с желто-зеленой люминесценцией. В лимфоидных узелках отчетливо выявляются следующие зоны: периартериальная (вокруг центральной артериолы), мантийная, маргинальная зоны и герминативный центр. Свечение биоаминов выявляется как в структурах белой, красной пульпы, так и в люминесцирующих гранулярных клетках (ЛГК). Цитоспектрофлуориметрия показала, что у потомства интактных животных в белой пульпе селезенки преобладает СТ, а в красной пульпе – ГСТ и КА. Люминесцирующие гранулярные клетки у этих крыс обладают ярко-желтым свечением, имеют чаще округлую форму и располагаются в центрах размножения по 6-7 в поле зрения, единичные – в области мантийной и маргинальной зон.

У потомства крыс со вторичным иммунодефицитом количество ЛГК лимфоидных узелков уменьшается: в 3 месяца – на 45%, а в 6 месяцев – на 48%. Число ЛГК красной пульпы, напротив, увеличивается: в 3 месяца – на 20%, а в 6 месяцев – в 1,3 раза (таблица). При этом встречаются слабо люминесцирующие сератонинсодержащие клетки и, напротив, с ярким свечением гистаминсодержащие клетки. Размеры этих клеток более значимо уменьшаются у потомства спленэктомированных самок в 6 месяцев, они становятся более рыхлыми, что свидетельствует о дегрануляции и фазе выброса биологических активных веществ. Уровень биогенных аминов также изменяется: в 3 месяца – достоверное снижение СТ в 1,6 раз и повышение ГСТ в 2 раза ($p < 0,001$); в 6 месяцев – увеличение уровня СТ и КА в 2,5 раза, а ГСТ на 31% ($p < 0,001$).

Люминесцирующие гранулярные клетки селезенки, в поле зрения

Показатели	Потомство интактных крыс, 3 месяца	Потомство спленэктомированных крыс, 3 месяца	Потомство интактных крыс, 6 месяцев	Потомство спленэктомированных крыс, 6 месяцев
Количество ЛГК белой пульпы	7,8±0,66	4,0±0,48***	7,7±0,84	4,16±0,29***
Количество ЛГК красной пульпы	13,5±0,6	17,0±0,9*	15,7±0,9	20,5±1,3*

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ по сравнению с аналогичными показателями у интактных животных.

При изучении соотношения (СТ+ГСТ)/КА в люминесцирующих гранулярных клетках и их микроокружении было выявлено, что у 6-месячных крыс, родившихся от спленэктомированных самок, происходит более значимое увеличение этого показателя по сравнению с таковым в предыдущий срок, что свидетельствует о выраженном снижении их функциональной активности.

Красная пульпа селезенки опытной группы обоих сроков при окраске препаратов гематоксилином и эозином особых изменений не претерпевает и состоит из пульпарных тяжей и синусоидов. Проведенная морфометрия выявила, что белая пульпа селезенки потомства крыс со вторичным иммунодефицитом в возрасте 3 месяцев существенных отличий от потомства интактных животных не имеет. У опытной группы крыс в возрасте 6 месяцев отмечается сокращение площади лимфоидных узелков в 1,2 раза ($p < 0,05$) и их герминативных центров – в 1,3 раза ($p < 0,05$).

Таким образом, нами было выявлено, что удаление селезенки у матери даже до наступления беременности существенно влияет на морфофункциональную активность селезенки ее потомства. Это выражается сокращением площади лимфоидных узелков и их герминативных центров, уменьшением количества ЛГК белой пульпы и увеличением их в красной пульпе, изменениями биоаминного обеспечения клеток селезенки и снижением функциональной активности люминесцирующих гранулярных клеток. Данные изменения наблюдаются у 3-месячных крыс, а также сохраняются и даже еще более усугубляются у крыс через 6 месяцев после рождения. Согласно данным литературы, часть ЛГК селезенки относят к клеткам APUD-системы [1], а часть – к клеткам макрофагальной природы, поэтому мы можем косвенно предположить, что снижение функциональной активности этих клеток приведет к риску возникновения инфекционной и онкозаболеваемости не только у матери после удаления селезенки, но и у потомства.

Литература

1. Гордон Д.С., Сергеева В.Е., Зеленова Е.Г. Адренергическая иннервация лимфоидных органов. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 1980. С. 18–37.
2. Драндрова Е.Г., Стручко Г.Ю., Михайлова М.Н. Влияние иммунодефицитной беременности на противоопухолевый иммунитет потомства // Успехи современного естествознания. 2013. № 9. С. 84–86.
3. Захаров А.А. Морфологические изменения тимуса после иммуносупрессии в эксперименте // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2008. Т. 7, № 4. С. 15–19.
4. Михайлова М.Н., Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Кострова О.Ю., Рузавина О.М. Морфофункциональное состояние селезенки потомства спленэктомированных крыс-самок // Цитоморфометрия в медицине и биологии: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы V Всерос. науч.-практ. конф. М., 2012. С. 96–97.
5. Стручко Г. Ю., Меркулова Л.М., Сергеева В.Е., Стоменская И.С. Response of bioamine-containing rat thymic structures to extrimental removal of the spleen // Иммунология. 2000. Т. 21, № 2. С. 13–17.

References

1. Gordon D.S., Sergeeva V.E., Zelenova E.G. *Adrenergicheskaya innervatsiya limfoidnykh organov* [Adrenergic innervation of lymphoid organs]. Cheboksary, 1980, pp. 18–37.
2. Drandrova E.G., Struchko G.Yu., Mikhailova M.N. *Vliyanie immunodefitsitnoi bere-mennosti na protivopukholevyi immunitet potomstva* [Influence of immunodeficient pregnancy on antitumoral immunity of posterity] *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya* [Achievements of modern natural sciences], 2013, no. 9, pp. 84–86.
3. Zakharov A.A. *Morfologicheskie izmeneniya timusa posle immunosupressii v eksperimente* [Morphological changes of a thymus after immunosupression in an experiment] *Klinichna anatomiya ta operativna khirurgiya* [Clinical anatomy and operational surgery], 2008, vol. 7, no. 4, pp. 15–19.
4. Mikhailova M.N., Struchko G.Yu., Merkulova L.M., Kostrova O.Yu., Ruzavina O.M. *Morfofunktsional'noe sostoyanie selezenki potomstva splenektomirovannykh kry-s-samok* [Morfofunktsionalny condition of a lien of posterity splenektomirovannykh of rats females] *Materialy V Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Tsitomorfometriya v meditsine i biologii: fundamental'nye i prikladnye aspekty»* [Proc. of Rus. Sci. Conf. «Tsitomorfometriya in medicine and biology: fundamental and applied aspects»], Moscow, 2012, pp. 96–97.
5. Struchko G.YU., Merkulova L.M., Sergeeva V.E., Stomenskaya I.S. Response of bioamine-containing rat thymic structures to extrimental removal of the spleen. *Immunologiya* [The Immunology]. 2000, vol. 21, no. 2, pp. 13–17.

АРЛАШКИНА ОЛЬГА МИХАЙЛОВНА – аспирантка кафедры инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (olgaruz1202@mail.ru).

ARLASHKINA OLGA – Post-Graduate Student, Department of the Instrumental Diagnostics Department with a course of Phthisiology, Chuvash State University, Cheboksary, Russia.

МЕРКУЛОВА ЛАРИСА МИХАЙЛОВНА – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (merkulova192@mail.ru).

MERKULOVA LARISA – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Normal and Topographic Anatomy Department, Chuvash State University, Cheboksary, Russia.

СТРУЧКО ГЛЕБ ЮРЬЕВИЧ – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (glebstr@mail.ru).

STRUCHKO GLEB – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Department of the Instrumental Diagnostics Department with a course of Phthisiology, Chuvash State University, Cheboksary, Russia.

МИХАЙЛОВА МАРИНА НИКОЛАЕВНА – кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (mar3007@mail.ru).

MIKHAYLOVA MARINA – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Normal and Topographic Anatomy Department, Chuvash State University, Cheboksary, Russia.
