

УДК: 616-001.1

*Ланичева А. Х., Семченко В. В.***ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК
В РАЗЛИЧНЫХ ЗОНАХ ПАХОВОГО ЛИМФАТИЧЕСКОГО УЗЛА
У КРЫС В ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ***¹Башкирский государственный медицинский университет, Уфа,
Российская Федерация**²Омский государственный аграрный университет имени П. А. Столыпина,
Омск, Российская Федерация*

Аннотация. Целью работы является изучение пролиферативной активности с помощью маркера Ki-67 в разных зонах лимфатического узла.

Методика работы заключается в моделировании с помощью специальной установки механической травмы бедра у крыс, анализе гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином и иммуногистохимическим методом.

Основные результаты работы показали, что после механической травмы бедра у крыс в разной степени возросла пролиферативная активность прогениторных стволовых клеток в различных зонах пахового лимфатического узла. Максимально высокий уровень пролиферативной активности отмечался через 3 суток после травмы.

Ключевые слова: лимфатический узел, Ki-67, прогениторные клетки, Т- и В-лимфоциты, механическая травма мягких тканей бедра.

*Lanicheva A. Kh., Semchenko V. V.***PROLIFERATIVE ACTIVITY OF PROGENITOR STEM CELLS
IN VARIOUS ZONES OF THE INGUINAL LYMPH NODE IN RATS
IN THE POST-TRAUMATIC PERIOD***¹Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation**²Omsk State Agricultural University named after P. A. Stolypin, Omsk, Russian Federation*

Abstract. The aim of the work is to study proliferative activity using the Ki-67 marker in different zones of the lymph node. The methodology of the work consists in modeling with a special installation mechanical hip injury in rats, analysis of histological preparations stained with hematoxylin and eosin and immunohistochemical method.

The main results of the work showed that after mechanical hip injury in rats proliferative activity of progenitor stem cells in various zones of lymph node increased. The highest level of proliferative activity (Ki-67) was noted three days after the injury.

Keywords: lymph node, Ki-67, stem cells, T- and B-lymphocytes, mechanical trauma of the soft tissues of the thigh.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время травма является третьей по значимости причиной смертности во всем мире и является первой причиной летальности и инвалидности. Особый интерес представляет реакция и роль иммунокомпетентных органов в посттравматическом периоде, механизмы иммуносупрессии на фоне травмы мягких тканей и геморрагического шока [1]. Изменения иммунного статуса зависят от типа оцениваемого ответа и от вклада различных структурных компонентов иммунной системы, в том числе и таких, как первичные и вторичные лимфоидные органы [2]. Особый интерес представляют регенераторные возможности, пролиферативная активность и резервные функции иммунных органов после различных травм. Прогениторные клетки (тканеспецифические клетки-предшественники, бластные клетки) — стволовые клетки, детерминированные на дифференцировку в определенный тип клеток. Это клетки, которые, в отличие от плюрипотентных стволовых клеток, уже имеют стойкие биомаркеры, которые позволяют отличить их и их потомство от клеток других типов; выполняют роль стволовых клеток взрослого организма, занятых пополнением пула специализированных клеток организма [3]. Следовательно, существенный научный интерес представляет изучение регенераторных процессов лимфатических узлов в восстановительном периоде после механической травмы. Целью исследования было изучение пролиферативной активности с помощью маркера Ki-67 в разных зонах лимфатического узла.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на белых беспородных крысах массой 180–200 г ($n = 18$), которым с помощью специальной установки (падающий груз в нашей модификации) вызывали механическую травму бедра, моделирующую высококинетическое повреждение мягких тканей (Х. Х. Мурзабаев, И. Г. Кашапов (2001)) [4]. Объектом воздействия служила правая задняя конечность. Животных контрольной ($n = 6$) и опытных групп ($n = 12$) содержали в одинаковых условиях вивария на стандартном сбалансированном рационе, при свободном доступе к воде и пище.

Все манипуляции с животными выполнялись под эфирным наркозом согласно приказу МЗ СССР «О гуманном обращении с экспериментальными животными» № 755 от 12 августа 1977 г., в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986). Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» МЗ РФ (протокол № 3 от 18.03.2021). Группы формировались из общего потока травмированных животных путем рандомизации с помощью случайных чисел. Гибели животных не наблюдалось. Животных умерщвляли под эфирным наркозом путем декапитации.

Для морфологического исследования брали кусочки лимфатического узла размером $0,5 \times 0,5 \times 1,5$ см через 1, 3 и 14 суток после травмы. Образцы фиксировали в 10%-ном нейтральном растворе формалина на фосфатном буфере фирмы ООО «Биовитрум» (Санкт-Петербург). Материал заливали в парафин и готовили срезы толщиной 4–5 мкм по общепринятой методике, окрашивали гематоксилином и эозином. Для изучения клеточной пролиферации и дифференцировки использовали иммуногистохимический метод. С помощью меченых моноклональ-

ных антител выявляли Ki-67 (маркер ядер активно пролиферирующих клеток). Постановку иммуногистохимического окрашивания осуществляли согласно рекомендациям фирмы-производителя. Визуализацию результатов проводили с использованием системы детекции Ultra Vision ONE Detection System HRP Polymer. Инкубировали с хромогеном — DAV Plus Substrate System. Срезы докрашивали гематоксилином Майера и заключали в БиоМаунт-среду. Для оценки качества реакции использовали стекла с позитивным контролем (фирма Labvision, США). При оценке экспрессии Ki-67 оценивали количество иммунопозитивных клеток на площади среза ($0,1 \text{ мм}^2$). Статистическую обработку данных производили в пакете прикладных программ STATISTICA V.7.0 («StatSoftInc», США). Вид распределения признаков в группах оценивали с помощью критерия Шапиро — Уилка. Проверку статистических гипотез проводили с помощью непараметрических критериев (Краскела — Уоллиса и Манна — Уитни). Нулевую гипотезу отвергали при $p < 0,05$. Количественные данные представлены в виде $Me (Q1-Q3)$, где Me — медиана, $Q1-Q3$ — интерквартильный размах, $Min-Max$ — минимальное—максимальное значение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При иммуногистохимическом исследовании (маркер Ki-67) повышение пролиферативной активности клеточных элементов отмечалось через трое суток после травмы в корковом веществе (в первичных фолликулах — в 3 раза, во вторичных — в 1,3 раза по сравнению с данными через одни сутки). В паракортикальной зоне содержание пролиферирующих клеток возросло в 7 раз. В мозговых тяжах число пролиферирующих клеток увеличилось в 1,5 раза по сравнению с данными через одни сутки. Наибольшая пролиферативная активность наблюдалась в краевом синусе лимфатического узла (в 61 раз выше по сравнению с первыми сутками). В промежуточном и мозговых синусах она была в 3 раза выше по сравнению с первыми сутками (*рис. 1*).

Таким образом выявлено повышение пролиферативной активности через 3 суток после травмы в первичных фолликулах коркового вещества, в паракортикальной зоне и в мозговых тяжах по сравнению с данными через 1 сутки. Пик пролиферативной активности наблюдался в краевом синусе через 3 суток после механической травмы. Через 14 суток после травмы отмечена тенденция к восстановлению значений переменных (близко к уровню показателей через 1 сутки, *рис. 1*).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно результатам иммуногистохимического и морфометрического исследования во всех зонах пахового лимфатического узла после травмы мягких тканей бедра происходит активация пролиферации клеток, более выраженная в корковом веществе, где происходит пролиферация В-лимфоцитов, и в корковом синусе, в котором наряду с резидентными клетками могут находиться мигрирующие прогениторные клетки, а также в паракортикальной зоне, где осуществляется бласттрансформация и пролиферация Т-лимфоцитов [5–7]. Полученные данные свидетельствуют о максимальной активации резерва стволовых прогениторных клеток через трое суток посттравматического периода, усиление их пролиферации во всех зонах лимфатического узла, максимально выраженное в корковом веществе, подкапсульном синусе и паракортикальной зоне.

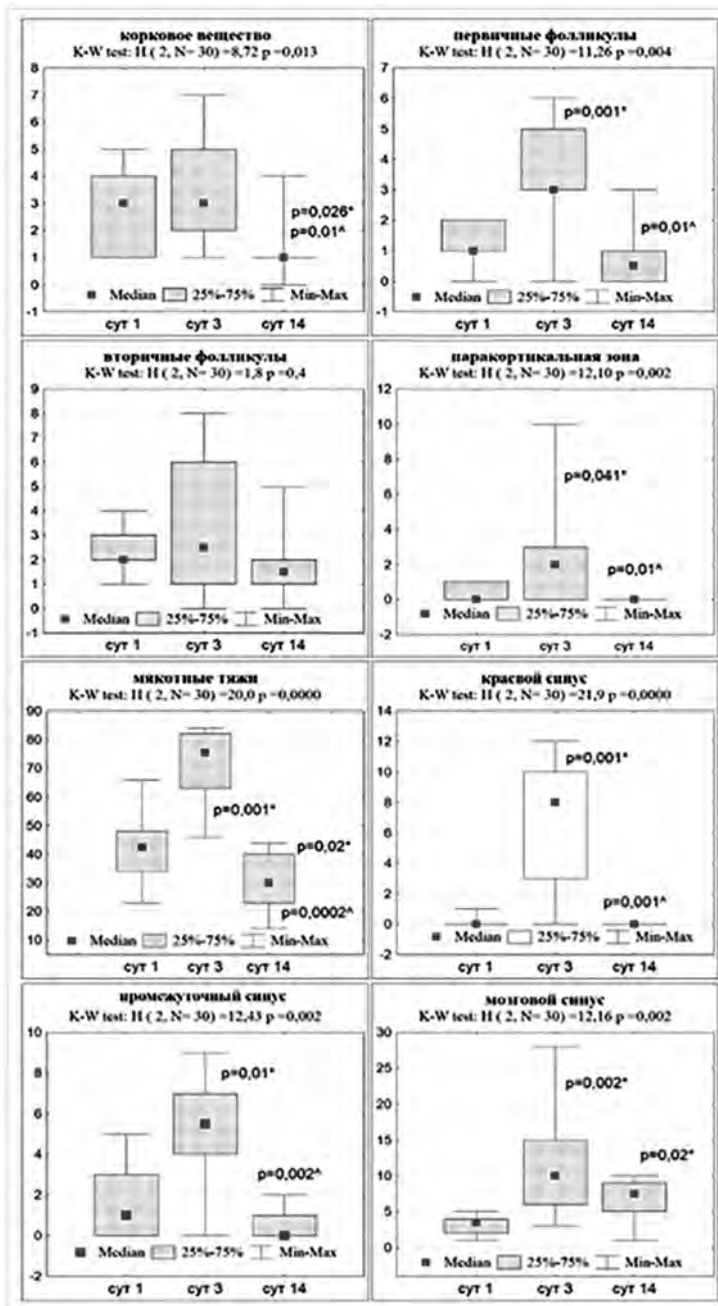


Рис. 1. Численная плотность Ki-позитивных лимфоцитов (на 0,1 мм² площади среза) в различных зонах коркового и мозгового вещества в паховых лимфатических узлах у белых крыс после механической травмы бедра. * — различия в сравнении с показателями через 1 сутки, ^ — через 3 суток статистически значимы (критерий Манна — Уитни, при $p < 0,05$). K-W test — ANOVA Краскела — Уоллиса для сравнения трех сроков, различия значимы при $p < 0,05$

ЛИТЕРАТУРА

1. *Масляков В. В., Шихмагомедов А. З.* Факторы, определяющие летальность при закрытых повреждениях селезенки // *Фундаментальные исследования.* — 2011. — № 6. — С. 116–118. — URL: <https://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=21343>
2. *Гуцин В. А., Мануйлов В. А., Мазунина Е. П., Клейменов Д. А., Семенов Т. А., Гинцбург А. Л., Ткачук А. П.* Иммунологическая память как основа рациональной вакцинопрофилактики населения. Обоснование создания системы сероэпидемиологического мониторинга в России // *Вестник РГМУ.* — 2017. — № 5. — С. 5–29.
3. *Семченко В. В., Ерениев С. И., Лебедев И. Н., Сосновская Е. В., Ланичева А. Х.* Понятийный аппарат в учении о стволовых клетках // *Журнал функциональной морфологии и интегративной антропологии им. Б. А. Никитюка.* — 2023. — № 1. — С. 63–70.
4. *Мурзабаев Х. Х., Кашанов И. Г.* Способ дозированной кинетической энергии снаряда повреждаемым тканям // *Морфология.* — 2001. — Т. 120. — № 6. — С. 83–84.
5. *Purcell E. M., Dolan S. M., Kriynovich S., Mannick J. A., Lederer J. A.* Burn injury induces an early activation response by lymph node CD4+ T-cells. *Shock.* 2006; 25(2):135–140. DOI: 10.1097/01.shk.0000190824.51653.32. PMID: 16525351
6. *Rani M., Schwacha M. G.* The composition of T-cell subsets are altered in the burn wound early after injury. *PLoS One.* 2017; 12(6):e0179015. DOI: 10.1371/journal.pone.0179015
7. <https://meduniver.com/Medical/gistologia/118.html> MedUniver

УДК 591.82:577.175.823

Лузикова Е. М., Сергеева В. Е., Ефремова О. А., Гималдинова Н. Е.

ВЛИЯНИЕ СВЕТОВОГО РЕЖИМА И МЕЛАТОНИНА НА МАКРОФАГАЛЬНУЮ СИСТЕМУ ТИМУСА

*Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова
Чебоксары, Российская Федерация*

Аннотация. Целью исследования явилось изучение влияния фотопериода и мелатонина на макрофаги тимуса.

Материал и методы исследования. В эксперименте использованы крысы-самцы линии Wistar ($n = 60$) в возрасте 3 недель (к концу эксперимента — 7 недель) с массой тела 150–160 г. Животные были разделены на шесть групп по 10 крыс: первую и вторую группы содержали в условиях естественного фотопериода, третью и четвертую — в условиях постоянного затемнения, пятую и шестую группы — в условиях постоянного освещения в течение 4 недель. Мелатонин получали животные второй, четвертой и шестой групп в форме препарата «Мелаксен»