

УДК 591.86

Слуцкая Д. Р.

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИМФОИДНОГО ГИСТИОНА СЕЛЕЗЕНКИ МЫШЕЙ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ

*Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова, Санкт-Петербург,
Российская Федерация*

Аннотация. Целью работы является изучение структурных изменений лимфоидного гистиона селезенки после облучения.

Методика работы заключается в анализе гистологических препаратов селезенки лабораторных мышей на 9-е сутки после рентгеновского воздействия.

Основные результаты работы показали, что на 9-е сутки после облучения сублетальной дозой 7 Гр наблюдается восстановление тканевых элементов лимфоидного гистиона, проявляющееся в наличии многочисленных митозов клеток. Облучение дозой 7,8 Гр приводит к значительным изменениям в структуре лимфоидного гистиона селезенки, восстановление которого к изученному сроку идет медленнее.

Ключевые слова: селезенка, лимфоидный гистион, облучение, лабораторная мышь, реактивность.

Slutskaya D. R.

STRUCTURAL FEATURES OF THE LYMPHOID HISTION OF THE SPLEEN OF MICE AFTER IRRADIATION

S. M. Kirov Military medical academy, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The aim of the work is to study the structural changes in the lymphoid histion of the spleen after irradiation.

The method of work consists in the analysis of histological preparations of spleen of laboratory mice on the 9th day after X-ray exposure.

The main results of the work showed, that on 9th day after irradiation with a sublethal dose of 7 Gy, the restoration of tissue elements of the lymphoid histion is observed, manifested in the presence of numerous cell mitoses. Irradiation with a dose of 7,8 Gy leads to significant changes in the structure of the lymphoid histion of the spleen, the recovery of which by the studied period is slower.

Keywords: spleen, lymphoid histion, irradiation, laboratory mouse, reactivity.

ВВЕДЕНИЕ

Органы кроветворения и иммунной защиты, к которым относится селезенка, обеспечивают функцию реактивности организма, в них развиваются клетки крови, происходит пролиферация и дифференцировка иммунокомпетентных клеток. Также эти органы являются радиочувствительными, и ионизирующее излу-

чение в сублетальной и летальной дозе приводит к развитию лучевой болезни [1]. Поэтому существует необходимость разработки способов защиты организма от повреждения, восстановления гемоцитопоэза и функции иммунной защиты после облучения.

Экспериментальные данные, полученные при исследованиях структурных особенностей кроветворных органов после облучения, имеют важное значение для изучения противолучевого действия биологически активных соединений. В радиационной медицине разработка высокоэффективных средств химической защиты от лучевого поражения является одной из приоритетных задач, поскольку риск радиационного поражения существует как в мирное время, так и во время вооруженных конфликтов. Активно изучаются лиганды Toll-подобных рецепторов, синтезируются рекомбинантные препараты с использованием плазмидных векторов и штаммов микроорганизмов в качестве продуцентов. К таким, в частности, относится рекомбинантный флагеллин [2]. В литературе описывается биологическое свойство флагеллина — лиганда рецепторов TLR5, находящихся на поверхности нейтрофильных гранулоцитов и макрофагов. Свойство проявляется в образовании в макрофагах и нейтрофильных гранулоцитах мультибелковых комплексов NLRC4-инфламмасом, активации каспазы-1 сигнального пути, продукции провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β и ИЛ-18) и в конечном итоге — гибели клеток путем пироптоза [3, 4]. Для активации инфламмасы NLRC4 необходимы белки NAIPs (белки, ингибирующие апоптоз семейства NLR). У мышей распознают флагеллин NAIP1, NAIP2, NAIP5 и NAIP6 [5]. У человека распознают компоненты бактериального флагеллина и системы секреции III/IV типа (T3SS/ T4SS) NAIP2 и NAIP5 соответственно, в результате чего происходит активация врожденного иммунитета, опосредованного NLRC4 инфламмасомой, а это приводит к расщеплению прокаспазы-1, образованию пор GSDMD-N и пироптозу [6].

Целью исследования была морфологическая характеристика лимфоидного гистиона селезенки лабораторных мышей при дозированном облучении на 9-е сутки после воздействия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали гистологическое строение селезенки лабораторных мышей двух групп (по 5 животных массой тела 18–22 г в каждой группе) на 9-е сутки после облучения дозами 7 Гр и 7,8 Гр, одной группы интактных животных ($n = 3$, группа контроля). Моделирование радиационного воздействия проводили при помощи рентгеновского терапевтического аппарата РУМ-17 (180 кВт, 14 мА, фильтр 0,5 мм Cu + 1 мм Al) однократно в направлении «спина — грудь» с кожно-фокусным расстоянием 50 см. Мощность дозы составляла 0,328 Гр/мин. Селезенку извлекали и фиксировали в 10%-ном растворе формалина, готовили парафиновые срезы толщиной 4 мкм с помощью ротационного микротомы Sakura Accu-Cut SRM 200 (Япония), затем окрашивали их гематоксилином Майера и эозином. Исследование проводили с соблюдением правил гуманного обращения с лабораторными животными, используемыми в научных целях [7]. Гистологический и морфометрический анализ тканевых элементов лимфоидного гистиона проводили с использованием светового микроскопа Zeiss Axio Scope.A1 со встроенной камерой Zeiss AxioCam ERc 5s и компьютерной программы Zen 2.3.

Вычисляли фолликулярный коэффициент ($\Phi К$), показывающий объем функционирующего лимфоидного аппарата: $\Phi К = \frac{S_{\text{он}} * D_{\text{лф}}}{20}$, где $S_{\text{он}}$ — площадь белой пульпы (лимфоидного гистиона), $D_{\text{лф}}$ — диаметр лимфоидных фолликулов (узелков) [8]. Числовые данные обработаны с использованием пакета прикладных программ Statistica 8.0. Для сравнения средних значений применялся t-тест для независимых выборок (тест Стьюдента). Различия между группами принимались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У животных контрольной группы (интактные) средний диаметр лимфоидных узелков в селезенке составляет $206,60 \pm 8,92$ мкм (176,21; 249,25), средняя площадь — $34577,54 \pm 2784,03$ мкм² (23161,71; 46663,79).

При анализе гистологических структур селезенки мышей после облучения сублетальной дозой 7 Гр обращает на себя внимание морфология лимфоидных узелков. Некоторые имеют неправильную форму, но большинство узелков округлой формы, средний диаметр составляет $112,40 \pm 3,21$ мкм (101,36; 121,24). В составе узелков видны многочисленные митотически делящиеся клетки. Это, очевидно, является показателем восстановления лимфоцитопоэза в органе на 9-е сутки после экспериментального воздействия. По данным литературы, восстановление гемпоцитопоэза в костном мозге у мышей после облучения наблюдается на 9-е сутки, что характеризуется большим количеством мононуклеаров морфологически лимфоидного типа, предшественников дифферонов гранулоцитов, а достигает контрольного уровня на 21–28-е сутки. Восстановление эритроцитопоэза и мегакарицитопоэза протекает медленнее и завершается в течение 28–60 суток после облучения [9]. Хорошо просматривается центральная артерия, вокруг которой лимфоциты располагаются равномерно (Т-зависимая зона). Вокруг соединительнотканых трабекул наблюдаются скопления тканевых элементов лимфоидного дифферона (*рис. 1*).

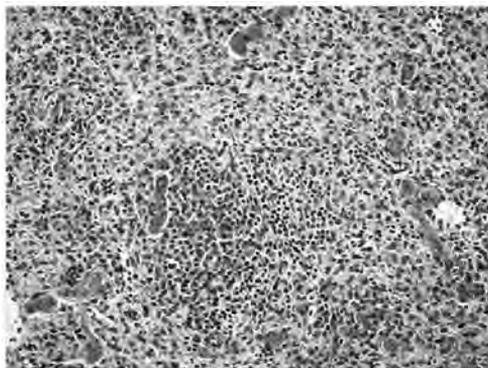


Рис. 1. Селезенка мыши, 9-е сутки после облучения дозой 7 Гр.
Окраска: гематоксилин и эозин. Ув. 200

Структурные составляющие лимфоидного гистиона: лимфоидные узелки, периартериоларные лимфоидные муфты, расположенные вокруг центральной артерии, маргинальные зоны в селезенке мышей после облучения сублетальной

дозой и летальной, различаются. Анализ гистологических препаратов селезенки мышей после облучения дозой 7,8 Гр показал наличие изменений, выражающихся в размерах лимфоидных узелков, средний диаметр которых составляет $80,0 \pm 8,99$ мкм (58,14; 100,44). Митотически делящиеся клетки в их составе практически отсутствуют. Обращает на себя внимание состояние кровеносных сосудов как в составе трабекул, так и маргинальных синусов на данном сроке после экспериментального воздействия. Сосуды расширены, наполнены кровью, наблюдается набухание ядер эндотелиоцитов (*рис. 2*).

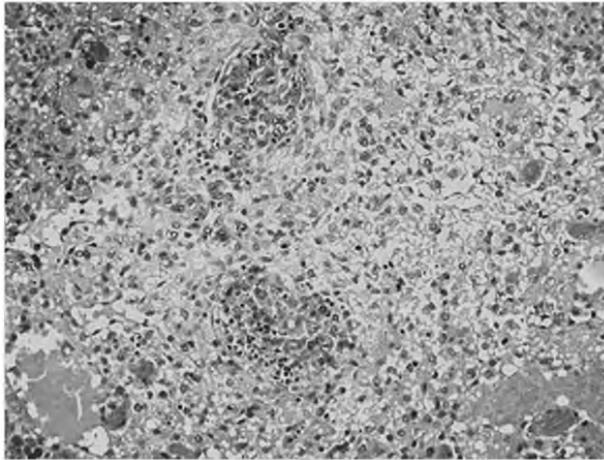


Рис. 2. Селезенка мыши, 9-е сутки после облучения дозой 7,8 Гр.
Окраска: гематоксилин и эозин. Ув. 200

Показатели вычисления фолликулярного коэффициента представлены на *рис. 3*. При облучении 7,8 Гр объем функционирующего лимфоидного аппарата наименьший (различия достоверны). Восстановление тканевых элементов лимфоидного гистиона протекает медленнее, чем при облучении сублетальной дозой.

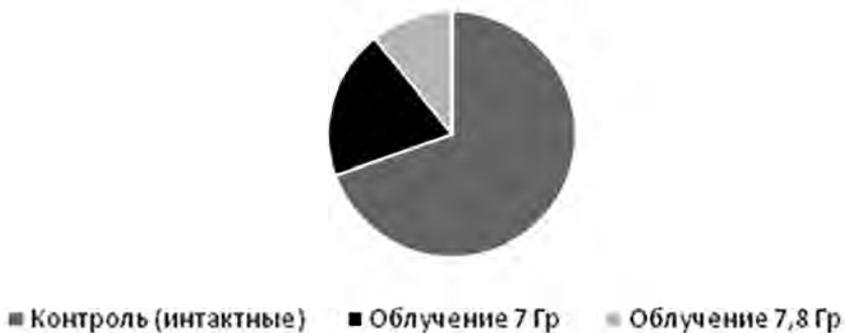


Рис. 3. Фолликулярный коэффициент в селезенке мышей контрольной группы и на 9-е сутки после облучения

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на 9-е сутки после рентгеновского воздействия сублетальной дозой 7 Гр наблюдается восстановление тканевых элементов лимфоидного гистиона в селезенке мышей, проявляющееся в наличии многочисленных митозов клеток. Облучение дозой 7,8 Гр приводит к значительным изменениям в структуре лимфоидного гистиона селезенки. Содержание бластных форм, клеток с картинами митозов и плазмочитов в составе лимфоидного гистиона органа значительно меньше показателей при облучении 7 Гр, что говорит о сниженном лимфоцитопоэзе и низких репарационных процессах.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Meijne E. I., van der Winden-van Groenewegen R. J., Ploemacher R. E., Vos O., David J. A., Huiskamp R.* The effects of x-irradiation on hematopoietic stem cell compartments in the mouse. *Exp Hematol.* 1991; 19:617–623.
2. *Мурзина Е. В., Софронов Г. А., Аксенова Н. В., Симбирцев А. С., Ищенко А. М., Антипова Т. О.* Перспективные для разработки новых противолучевых средств биотехнологические препараты // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2018. № S1. С. 133–136.
3. *Burdette B. E., Esparza A. N., Zhu H., Wang S.* Gasdermin D in pyroptosis. *Acta Pharm Sin B.* 2021; 11(9):2768–2782. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.02.006>
4. *Пономарев Д. Б., Степанов А. В., Селезнев А. Б., Ивченко Е. В.* Ионизирующие излучения и воспалительная реакция. Механизмы формирования и возможные последствия // Радиационная биология. Радиоэкология. 2023. Т. 63. № 3. С. 270–284. DOI: <http://doi.org/10.31857/S0869803123030128>
5. *Lightfield K. L., Persson J. J., Brubaker S. W., Witte C. E., von Moltke J., Dunipace E. A., Henry T., Sun Y.-H., Cado D., Dietrich W. F., Monack D. M., Tsolis R. M., Vance R. E.* Critical function for Naip5 in inflammasome activation by a conserved carboxy-terminal domain of flagellin. *Nat Immunol.* 2008; 9(10):1171–1178. DOI: <http://doi.org/10.1038/ni.1646>
6. *Duncan J. A., Canna S. W.* The Nlr4 inflammasome. *Immunol Rev.* 2018;281(1):115–123. DOI: <http://doi.org/10.1111/imr.12607>
7. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. СПб.: Rus-LASA «НП объединение специалистов по работе с лабораторными животными», 2012. 48 с.
8. *Волков В. П.* Новый алгоритм морфометрической оценки функциональной иммуноморфологии селезенки // *Universum: Медицина и фармакология: электрон. научн. журн.* 2015. № 5–6 (18). Режим доступа: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/2341>
9. *Macková N., Praslicka M.* Recovery of hematopoiesis in bone marrow of mice after continuous irradiation with dose rate 4.8 Gy/day. *Neoplasma.* 1981; 28(1):79–86.