

УДК 576.3/7:591.441:599.323.41:533.6.013.8  
© Мороз Г.А., 2011

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕЛЕЗЕНКЕ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПРИ СИСТЕМАТИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ГИПЕРГРАВИТАЦИИ

Мороз Г.А.

ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.П. Георгиевского»

**Мороз Г.А.** Морфофункциональные изменения в селезенке половозрелых крыс при систематическом воздействии гипергравитации // Украинський морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 2. – С. 57-59.

Изучены морфофункциональные особенности селезенки половозрелых крыс-самцов линии Вистар, которых ежедневно (10, 30 и 45 дней) подвергали 10 мин. воздействию гравитационных перегрузок (9g). Установлено, что при 10 дневном воздействии на фоне реактивных циркуляторных расстройств наблюдается уменьшение размеров лимфоидных структур с уплотнением распределения в них клеток, прежде всего, за счет увеличения числа зрелых форм лимфоцитов, хотя доля клеток с признаками дегенеративных изменений возрастает. При этом повышается функциональная активность МЗ и ГЦ, что является проявлением развивающихся компенсаторных процессов в лимфоидной ткани селезенки. При увеличении повторяемости гипергравитационного воздействия до 30 сеансов в сосудистом русле преобладают компенсаторно-приспособительные изменения. Но циркуляторные нарушения провоцируют кумуляцию гипоксического состояния органа, подтверждением чего является возрастание во всех структурах белой пульпы числа деструктивно измененных клеток. При этом близкие к контролю показатели микро топографии и перераспределения клеток в белой пульпе говорят о развитии стойких адаптационных процессов. При 45 дневном воздействии гравитационных перегрузок в селезенке крыс выявляются морфофункциональные признаки угнетения лимфоидной ткани на фоне нарастающей гипоксии. Отмечается высокое содержание деструктивно измененных клеток во всех зонах белой пульпы. Уровень лимфоцитопоеза значительно снижен по сравнению с контролем, о чем свидетельствует отсутствие в ГЦ клеток с картинами митозов и резкое уменьшение числа молодых форм клеток.

**Ключевые слова:** морфология селезенки, крыса, гипергравитация.

**Мороз Г.О.** Морфофункціональні зміни в селезінці статевозрілих шурів при систематичній дії гіпергравітації // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 2. – С. 57-59.

Вивчені морфофункціональні особливості селезінки статевозрілих шурів-самців лінії Вистар, яких щодня (10, 30 і 45 днів) піддавали 10 хвил. дії гравітаційних перевантажень (9g). Встановлено, що при 10 денній дії на фоні реактивних циркуляторних розладів спостерігається зменшення розмірів лімфоїдних структур з ущільненням розподілу в них клітин за рахунок збільшення кількості зрілих форм лімфоцитів, хоча частка клітин з ознаками дегенеративних змін зростає. При цьому підвищується функціональна активність МЗ і ГЦ, що є проявом компенсаторних процесів, що розвиваються, в лімфоїдній тканині селезінки. При збільшенні повторюваності гіпергравітаційної дії до 30 сеансів в судинному руслі переважають компенсаторно-приспосовні зміни. Але циркуляторні порушення провокують кумуляцію стану гіпоксії органу, підтвердженням чого є збільшення у структурах білої пульпи кількості деструктивно змінених клітин. При цьому близькі до контролю показники мікротопографії і перерозподілу клітин в білій пульпі свідчать про розвиток стійких адаптаційних процесів. При 45 денній дії гравітаційних перевантажень в селезінці шурів виявляються морфофункціональні ознаки пригнічення лімфоїдної тканини на тлі наростаючої гіпоксії. Відзначається високий вміст деструктивно змінених клітин у всіх зонах білої пульпи. Рівень лімфоцитопоезу значно знижений у порівнянні з контролем, про що свідчить відсутність у ГЦ клітин з картинками митозів і різке зменшення числа молодих форм клітин.

**Ключові слова:** морфологія селезінки, шур, гіпергравітація.

**Moroz G.A.** Morphofunctional changes in the mature rat's spleen on systematic exposure to hypergravity // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 2. – С. 57-59.

Authors studied morphological characteristics of spleen of mature male Wistar rats, which, on a daily basis (for 10, 30 and 45 days), were subjected to hypergravity (9g) with duration 10 min each. On 10 days exposure to hypergravity, there was established lymphoid structures size reduction, foremost, due to expansion in the number of mature lymphocytes, along with increasing of cells compactness, with underlying reactive circulatory disorders. At the same time, proportion of cells with signs of degenerative changes increases, as well. These manifestations were accompanied by increases of the functional activity of the marginal zone and germinal center, which is a manifestation of compensatory processes developing in the lymphoid tissue of the spleen. With increasing frequency of exposure to hypergravity up to 30 sessions, were prevalent compensatory - adaptive changes at vascular bed. Alongside with that, circulatory disturbances provoked cumulation of the hypoxic state at organ, as evidenced by increasing of destructed cells in all white pulp structures. At the same time, close to the control parameters of microtopography and redistribution of the cells in the white pulp are the indication of the development of persistent adaptation processes. On 45 day exposure to hypergravity in the rat's spleen were revealed morphological signs of lymphoid tissue inhibition on a background of increasing hypoxia. The high content of destructed cells was observed in all zones of the white pulp. Lymphocytogenesis level was significantly reduced versus control, as evidenced by the absence of cells with mitotic activity and considerable reduction in the number of immature forms of cells in germinal center.

**Key words:** spleen morphology, rat, hypergravity.

Одной из актуальных медико-биологических проблем является установление закономерностей адаптации организма к различным неблагоприятным факторам окружающей среды. В современных условиях особый интерес представляет изучение особенностей реактивности организма на гравитационные перегрузки, воздействующие на летчиков при выполнении высокоманевренных полетов [2, 5, 6].

Выраженность защитных реакций организма на внешние воздействия во многом зависит от морфофункционального состояния периферических органов иммуногенеза и, в частности, селезенки, играющей важную роль в обеспечении естественной резистентности [1, 3, 4, 7]. Однако на сегодняшний день в научной литературе практически отсутствуют данные об особенностях реактивности селезенки на систематическое воздействие гравитационных перегрузок значительных величин.

Изучение морфофункциональных аспектов селезенки, как органа в системе иммуногенеза, требует углубленного изучения причинно-следственных связей, проявляющихся в неразрывной цепи общих и местных изменений, возникающих в ответ на гипергравитационное воздействие.

**Цель исследования** - изучить морфофункциональные изменения селезенки половозрелых крыс при повторяющемся воздействии гипергравитации величиной 9 g.

**Материал и методы исследования.** Изучали структуру селезенки у 36 шестимесячных (200-220 г) крыс-самцов линии Вистар. Животные были разделены на три серии (по 12 крыс в каждой: 6 - контроль, 6 - эксперимент). Экспериментальных крыс ежедневно на протяжении 10, 30 и 45 дней подвергали воздействию поперечно-направленных гравитационных перегрузок величиной 9 g в виде следующих друг за другом трех "площадок" продолжительностью по 3 мин с двумя 30-ти сек. перерывами между ними. Гипергравитация моделировалась путем вращения животных в контейнерах экспериментальной центрифуги Ц-2/500. Контрольные крысы не подвергались гравитационным перегрузкам. Животных выводили из опыта на следующий день после последнего сеанса гипергравитации путем декапитации под эфирным наркозом. Эксперимент был выполнен с соблюдением биоэтических норм. Забор, фиксация материала и изготовление парафиновых блоков выполняли согласно общепринятым методи-

кам работы с лимфоидными органами. Готовили серийные поперечные срезы селезенки в области ворот толщиной 4-6 мкм. Для изучения структурных компонентов органа срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по ван Гизону, азур II-эозином, ставили ШИК-реакцию с докраской ядер гематоксилином Карацци и импрегнировали азотнокислым серебром по Футу. Для изучения ультраструктурных особенностей использовали трансмиссионную электронную микроскопию. Материал фиксировали в 2,5% р-ре глутаральдегида на фосфатном буфере с дофиксацией в 1% р-ре OsO<sub>4</sub> и заливали в смесь эпоп-араалдит. Готовили полутонкие и ультратонкие срезы, которые после окраски по Рейнольдсу просматривали и фотографировали на электронном микроскопе ПЭМ-125К Сумского ПО «Электрон». Детали гистологического строения изучали с помощью цитоморфологического комплекса на базе микроскопа Olympus CX31. Относительные площади структурных компонентов селезенки определяли статистическим методом Стефанова С.Б. (1985) с использованием для вычисления доверительного интервала таблиц Стрелкова Р.Б. (1980). В среде морфометрической программы ImageJ производили вычисления средних площадей зон белой пульпы, а также подсчет в них клеточных популяций на площади 1000 мкм<sup>2</sup>. Количественные показатели обрабатывали с использованием методов вариационной статистики. Достоверными считали данные с погрешностью меньше 5% (p<0,05 в тексте обозначено \*).

**Результаты собственных исследований.** На гистологических препаратах селезенки крыс, которые ежедневно в течение 10 дней подвергались систематическому воздействию гипергравитации, капсула утолщена, рыхлая, местами имеет волнистый ход. Под капсулой выявляются скопления форменных элементов крови, преимущественно эритроцитов. Трабекулы инфильтрированы клеточными элементами. Соединительнотканные волокна опорно-сократительного аппарата набухшие, проявляют выраженную ШИК-положительную реакцию. Трабекулярные сосуды расширены и полнокровны, их адвентиция разрыхлена, отмечаются признаки периваскулярного отека. Сосудистое русло пульпы также переполнено кровью, особенно вены и венозные синусы, в ряде сосудов наблюдаются явления стаза и сладжа эритроцитов. В расширенных пульпарных артериях эндотелий выглядит набухшим, с очагами десквамации, обнаруживаются единичные фибриновые тромбы. Мышечная оболочка истончена, миоциты с признаками гидропической дистрофии.

В паренхиме органа отмечается перераспределение в соотношении структурных компонентов. Относительные площади белой пульпы (БП) и соединительнотканного компонента (СТК) увеличиваются в сравнении с контролем, соответственно на 7,12%\* и 6,67%\*, на фоне уменьшения доли красной пульпы (КП) – на 4,32%\*. При этом в белой пульпе соотношение площадей лимфатических узелков (ЛУ) и лимфатических периартериальных влагаллищ (ЛПАВ) сохраняется на уровне контрольных значений. Однако, следует отметить, что лимфоидные элементы в сравнении с контролем выглядят несколько уменьшенными в размерах, но встречаются чаще. Это подтверждается данными морфометрии: средняя площадь ЛУ меньше контрольных данных на 6,25%\*, а ЛПАВ – на 9,85%\*. Площадь маргинальной зоны (МЗ) близка к показателям контроля, граница между ней и красной пульпой хорошо визуализируется. При этом в сравнении с контролем в ЛПАВ на 14,65%\*

уменьшается плотность клеточной популяции за счет уменьшения числа малых (МЛ) и средних (СЛ) лимфоцитов, соответственно на 11,99%\* и 25,00%\*. Встречаются единичные большие лимфоциты (БЛ). Достоверно, почти в 2,0 раза, возрастает относительное содержание клеток с признаками деструкции, причем дегенеративные изменения выявляются не только в лимфоцитах, но и в ретикулярных клетках, а также макрофагах. Электронномикроскопически такие клетки характеризуются вакуолизацией цитоплазмы, расширением перинуклеарного пространства, разрушением митохондрий, резким уменьшением хроматина в ядре с разрежением центральной части карิโอплазмы или его гиперконденсацией. В ЛУ, наоборот, отмечается достоверное в сравнении с контролем увеличение плотности клеток во всех зонах, в основном за счет увеличения количества МЛ. Достоверно возрастает и число деструктивно измененных клеток. Наибольшее уплотнение клеточных элементов отмечается в ГЦ (на 33,30%\*). Однако, на фоне возросшей в сравнении с контролем численности МЛ (на 47,04%\*), наблюдается уменьшение абсолютных (30,00%\*) и относительных (на 47,45%\*) показателей содержания БЛ. При этом увеличивается количество клеток с фигурами митозов (на 12,50%\*). В МЗ также отмечается увеличение плотности клеток за счет возросшего, в сравнении с контрольными данными, на 36,34%\* количества СЛ и на 18,52%\* числа плазматических клеток (ПК), находящихся на разных стадиях зрелости. Такое распределение клеток в центрах размножения ЛУ и маргинальной зоне может свидетельствовать об активной миграции из красного костного мозга и тимуса в белую пульпу селезенки предшественников лимфоцитов на предшествующих начальных стадиях развития стресса, индуцированного гипергравитацией.

После 30 дневного воздействия капсула селезенки выглядит рыхлой и отеочной, имеет выраженный волнистый ход. Сосуды трабекул и паренхимы полнокровные, с явлениями стаза, стенки их утолщены. В большинстве расширенных пульпарных артерий выявляются дистрофические изменения в эндотелии, выражающиеся в его набухании и десквамации отдельных участков. Электронномикроскопически это подтверждается вакуолизацией цитоплазмы и пикнозом ядер эндотелиоцитов. В таких сосудах наблюдается сладж эритроцитов, в некоторых выявляются единичные фибриновые тромбы. Проницаемость их стенок повышена, что проявляется плазмо- и геморагиями. Встречаются старые и свежие кровоизлияния, вокруг которых обнаруживаются макрофаги, содержащие разрушенные и отдельные целые эритроциты. В некоторых кровеносных сосудах наряду с очагами десквамации эндотелия выявляются участки с пролиферацией эндотелиальных клеток. Мышечная оболочка в большинстве сосудов выглядит утолщенной. При постановке ШИК-реакции наблюдается выраженное гомогенное прокрашивание всей стенки сосуда. Следует отметить, что в кровеносных сосудах небольшого калибра изменения более значительны, чем в крупных. Наряду с расширенными сосудами выявляются суженные артерии и артериолы. Спазмированные сосуды характеризуются малым диаметром, гофрированностью интимы, а также перпендикулярным к периметру сосуда расположению эндотелиальных клеток.

При анализе показателей соотношения структурных компонентов селезенки существенных отличий от данных контрольных животных не выявлено. При этом лимфоидные структуры выглядят несколько

крупнее, чем в контроле, и хорошо визуализируются. Обращает на себя внимание увеличение относительной площади ЛПАВ (на 11,58%\*) на фоне уменьшения площади лимфатических узелков (на 16,42%\*). Маргинальная зона периартериальных влагаллищ и узелков несколько шире, чем в контроле, четко определяется ее граница с красной пульпой. Клеточные элементы белой пульпы плотно залегают в набухшей сети ретикулярных волокон. Отмечается увеличение количества средних лимфоцитов. Возрастает макрофагальная активность, достоверно, в 1,5-2 раза, увеличивается доля клеток с признаками деструкции, что, по-видимому, является следствием нарастающей гипоксии. При этом в ГЦ за счет увеличения численности МЛ (на 22,36%\*) уменьшается относительное содержание БА (на 64,45%\*) на фоне достоверного, более чем в 2,5 раза, увеличения процентного содержания клеток с фигурами митоза. Показатели лимфоцитарного состава МЗ существенно не отличаются от контрольных данных. Обращает на себя внимание лишь увеличение относительного содержания ПК, а также клеток с признаками деструкции и макрофагов.

На наш взгляд, такая перестройка цитоархитектоники белой пульпы является отражением стойких компенсаторных процессов, развивающихся в селезенке в ответ на систематическое воздействие гравитационных перегрузок.

При увеличении повторяемости гипергравитационного воздействия до 45 сеансов капсула селезенки уплотняется. В соединительнотканном компоненте хорошо прослеживается его волокнистая структура. Трабекулярные и пульпарные сосуды переполнены кровью, встречаются как расширенные, так и суженные артерии. Стенки сосудов утолщены за счет гипертрофии мышечной оболочки, что свидетельствует о компенсаторных возможностях сосудистого русла и может рассматриваться, как признак тренированности при многократно повторяющихся перегрузках. В просвете вен встречаются остатки старых тромбов (реканализация). В красной пульпе количество старых геморагий преобладает над свежими, одновременно с этим возрастает фагоцитарная активность макрофагов. Однако компенсаторно-приспособительные изменения сосудистого русла и спазм сосудов, по-видимому, усугубляют гипоксию, что способствует угнетению лимфоидной ткани органа. Это проявляется уменьшением, в сравнении с контролем, относительного содержания белой пульпы (на 15,82%\*) на фоне увеличения на 7,78%\* доли КП. Уменьшаются размеры ЛПАВ и ЛУ, соответственно, на 39,31%\* и 15,44%\* и МЗ - на 10,25%\*. Наряду с уменьшением площади структур БП, в периартериальных влагаллищах и узелках увеличивается количество зрелых клеточных элементов, возрастает число клеток с признаками деструкции, уменьшается популяция макрофагов. Выявляются лимфоциты и клетки микроокружения, не только находящиеся на разных стадиях апоптозной трансформации, но и с признаками некроза в виде отечной просветленной пиалоплазмы, распада органелл, разрушения нуклеолеммы с выходом хроматина в цитоплазму. В ГЦ на фоне увеличения содержания малых и средних лимфоцитов в сравнении с контролем отмечается уменьшение относительного содержания БА (на 27,26%\*) и исчезновение митозов, что свидетельствует о снижении лимфоцитопозитической функции селезенки.

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют, что при систематическом воздействии гравитационных перегрузок значительных величин (9g) в селезенке половозрелых крыс, наряду с гемо-

динамическими изменениями, происходит структурно-функциональная перестройка лимфоидной ткани, характер и степень выраженности которой зависит от кратности повторений перегрузок. Так, при 10 дневном воздействии на фоне реактивных циркуляторных расстройств наблюдается уменьшение размеров лимфоидных структур с уплотнением распределения в них клеток, прежде всего, за счет увеличения числа зрелых форм лимфоцитов. Доля клеток с признаками дегенеративных изменений возрастает. При этом повышается функциональная активность МЗ и ГЦ, что является проявлением развивающихся компенсаторных процессов в лимфоидной ткани селезенки на повторяющееся стрессорное воздействие перегрузок. При увеличении повторяемости гипергравитационного воздействия до 30 сеансов в сосудистом русле селезенки преобладают компенсаторно-приспособительные изменения. Однако циркуляторные нарушения провоцируют кумуляцию гипоксического состояния органа, подтверждением чего является увеличение во всех структурах белой пульпы количества деструктивно измененных клеток. При этом близкие к контрольным данным показатели микрофотографии и перераспределения клеточных элементов лимфоидных структур говорят о развитии стойких адаптационных процессов в селезенке на увеличение кратности систематического действия гипергравитации. При 45 дневном воздействии гравитационных перегрузок в селезенке крыс выявляются морфофункциональные признаки, свидетельствующие об угнетении лимфоидной ткани на фоне нарастающей гипоксии органа. Отмечается высокое содержание деструктивно измененных клеток во всех зонах белой пульпы. Уровень лимфоцитопоза значительно снижен по сравнению с контролем, о чем свидетельствует отсутствие в ГЦ клеток с картинами митозов и резкое уменьшение числа молодых форм клеток. В целом, такие преобразования могут снижать резистентность иммунной системы крыс к неблагоприятным факторам окружающей среды.

В дальнейшем планируются лектиногистохимические исследования селезенки крыс разных возрастов, подвергавшихся воздействию гипергравитации.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Григоренко Д.Е. Структурно-функциональная организация лимфоидной ткани селезенки после воздействия гипергравитации / Д. Е. Григоренко, И. Б. Краснов, М. Р. Сапин // Морфология. – 2003. – Т. 123, № 3. – С. 60–64.
2. Григоренко Д.Е. Лимфоидная ткань селезенки крыс в отдаленный период после действия гипергравитации / Д. Е. Григоренко, И. Б. Краснов, М. Р. Сапин // Вестн. нов. медич. технологій. – 2004. – Т. 11, № 1–2. – С. 21–22.
3. Кузів О.С. Морфологія лімфоїдних органів в умовах повного голоду / О. С. Кузів – Тернопіль, 1997. – 174 с.
4. Морфофункціональна характеристика світлих центрів лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки щурів-самців різних вікових груп у нормі / М. Ю. Кочмарь, А. О. Гербут, В. Й. Палапа [та ін.] // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 2. – С. 297–300.
5. Пономаренко В. А. Лекції: медико-психологічне питання діяльності літчика в високоманевренному польоті / В. А. Пономаренко // Авіакосмічна та екологічна медицина. – 2001. – Т. 35, № 2. – С. 22–26.
6. Хоменко М.Н. Оценка переносимости перегрузок +Gz после моделирования 8-часового полета / М. Н. Хоменко, И. В. Бухтияров, А. С. Малапук // Авіакосмічна та екологічна медицина. – 2005. – Т. 39, № 5. – С. 31–36.
7. Cesta M.F. Normal structure, function and histology of the spleen / M. F. Cesta // Toxicologic Pathology. – 2006, № 34. – P. 455–465.

Надійшла 12.12.2010 р.  
Рецензент: проф. В.І.Лузін