

© Д. Е. Григоренко, М. Р. Сапин, 2012  
УДК 611.41:613.693:599.323.4

*Д. Е. Григоренко и М. Р. Сапин*

## ПЕРЕСТРОЙКА ЛИМФОИДНЫХ СТРУКТУР СЕЛЕЗЕНКИ У ПЕСЧАНОК ПОСЛЕ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА

Лаборатория функциональной анатомии (зав. — академик РАН проф. М. Р. Сапин), Научно-исследовательский институт морфологии человека РАН, Москва

С целью изучения влияния невесомости на организм млекопитающих изучена лимфоидная ткань селезенки у 10 интактных монгольских песчанок и 10 животных после 12-суточного космического полета. Установлено, что у экспериментальных животных резко уменьшаются показатели массы тела, селезенки, тимуса и надпочечников. В селезенке резко увеличивается площадь красной пульпы, появляются участки разрастания фиброзной ткани и кровоизлияния. Исчезают лимфоидные узелки с герминативным центром, периартериальные лимфоидные муфты истощены. Количественный анализ клеточного состава лимфоидных структур селезенки показал резкое усиление деструкции клеток, подавление лимфоцитопоэза с исчезновением клеток с картинами митозов и уменьшением количества бластов. Отсутствие плазматических клеток свидетельствует о подавлении процессов иммуноцитопоэза. Комплекс отмеченных изменений в организме животных свидетельствует о снижении иммунологического барьера лимфоидной ткани в селезенке и в организме в целом у песчанок в условиях невесомости после космического полета.

**Ключевые слова:** селезенка, лимфоидная ткань, деструкция клеток, невесомость, космический полет

В условиях космического полета на организм человека воздействуют различные факторы внешней среды, наиболее значимым из которых является невесомость [3, 7]. Известно, что влияние невесомости в условиях космического полета приводит к перераспределению крови и изменению давления жидких сред в организме, к снятию весовой нагрузки на опорные структуры и мышечную систему, к изменениям в нейроэндокринной системе [2, 7, 8]. Комплекс подобных нарушений сопровождается изменением всех функций организма [8, 9]. Для изучения влияния невесомости на организм млекопитающих на космическом спутнике «Фотон-М» проведен эксперимент «Роденция», целью которого было исследование физиологического состояния и водно-солевого обмена у монгольских песчанок. При этом, несмотря на многочисленные биохимические и физиологические исследования [2, 7, 9], менее всего изучена реакция органов иммуногенеза у животного организма в условиях невесомости. Вместе с тем, известно, что именно состояние иммунной системы характеризует и обеспечивает стабильное функционирование организма при воздействии различных внешних факторов [10, 11]. Исходя из этого, целью нашего исследования являлось изучение реакции лимфоидных структур селезенки у песчанок после 12-суточного космического полета.

**Материал и методы.** В эксперименте использованы песчанки 5-месячного возраста. Изучены 2 группы животных, по 10 особей в каждой. 1-я группа (интактная) находилась в обычных условиях вивария, 2-я группа (полетная, экспериментальная) — 12 сут находилась в космосе. Песчанки были помещены в герметичные клетки-модули объемом 60 л. Наблюдение за поведением песчанок проводили с помощью миниатюрных видеокамер. Клетки были оборудованы автоматизированной системой жизнеобеспечения: освещением осуществлялось желтыми светодиодами, имитирующими солнечный свет (12 ч — «ночь», 12 ч — «день»); мощные вентиляторы, установленные над клеткой, очищали воздух и прибывали продукты жизнедеятельности к ворсистому поддону; подстилки 1 раз в сутки меняли; из боковых отверстий клетки периодически выпадало питание — брикет со специальным кормом, содержащим зерно, травы, мед и около 15% воды. На следующий день после окончания полета животные обеих групп были декапитированы с помощью гильотины. При проведении эксперимента соблюдали «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденные МЗ РФ (№ 755 от 12.08.1977 г.).

Селезенки песчанок фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, заливали в парафин. Гистологические срезы, толщиной 4–5 мкм, окрашивали азуром II—эозином, гематоксилином—эозином и по Ван-Гизону. Изучен клеточный состав функциональных зон селезенки у песчанок: герминативных центров (ГЦ) лимфоидных узелков, периартериальных лимфоидных муфт (ПАЛМ) и лимфоидных узелков без ГЦ. Подсчет всех клеток проводили под микроскопом (Leica, Германия) при увеличении об. 100, под масляной иммерсией. Использовали 25-узловую морфометрическую сетку с шагом 10 мкм, вмонтированную в ок. 10 микроско-

### Сведения об авторах:

Григоренко Дина Ефремовна (e-mail: dinagrigorenko@yahoo.com), Сапин Михаил Романович, лаборатория функциональной анатомии, Научно-исследовательский институт морфологии человека РАН, 116418 Москва, ул. Цюрупы, 3

па по методу С. Б. Стефанова [14]. Анализ абсолютного и относительного (в %) количества клеток в структурных зонах органа проводили на условной единице площади гистологического среза (880 мкм<sup>2</sup>). Статистическую обработку результатов проводили по программе Statistika 6.0 и Excel. Значимыми считали различия при  $P \leq 0,05$ .

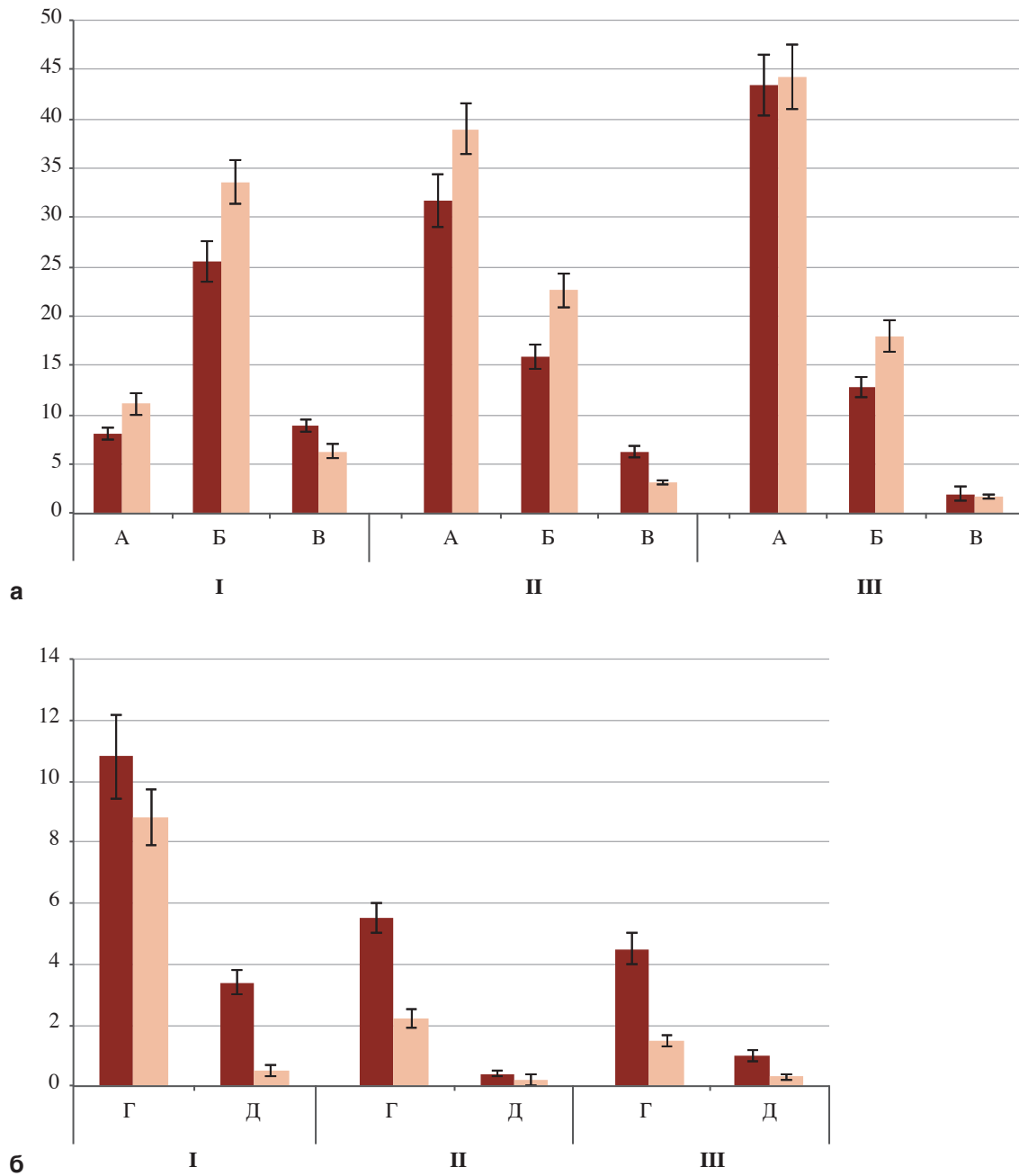
**Результаты исследования.** У интактных (виварных) песчанок средние весовые показатели тела составляют  $50 \pm 4$  г, масса селезенки —  $51 \pm 4$  мг, тимуса —  $48,1 \pm 2,7$  мг, надпочечника —  $41 \pm 4$  мг. В селезенке лимфоидные образования представлены многочисленными лимфоидными узелками с ГЦ и без них. ПАЛМ — широкие, четко дифференцируются. В лимфоидных образованиях селезенки у интактных песчанок основную долю всех клеток составляют лимфоциты (рисунок, а). Лимфоидные узелки без ГЦ на 43,4% представлены малыми лимфоцитами. В ПАЛМ малых лимфоцитов на 11,7% меньше. При этом число средних лимфоцитов в лимфоидных узелках без ГЦ и в ПАЛМ практически одинаково (18,8 и 15,8%, различия не значимы). Менее всего малых лимфоцитов отмечено в ГЦ лимфоидных узелков (8,15%), которых в 2,5 раза меньше, чем средних лимфоцитов. В лимфоидной ткани селезенки значительная доля клеток относится к деструктивно измененным и разрушенным клеткам (см. рисунок, а). Максимальное число клеток в состоянии деструкции выявлено в ГЦ лимфоидных узелков (25,5%), в 2 раза их меньше в лимфоидных узелках без ГЦ (12,8%). В таком же соотношении встречаются макрофаги: более всего их — в ГЦ узелков, меньше — в ПАЛМ и менее всего — в лимфоидных узелках без ГЦ (8,94, 6,28, 2,04% соответственно). Во всех лимфоидных структурах селезенки у интактных песчанок присутствуют малодифференцированные клетки (бласты и большие лимфоциты (см. рисунок, б). В ГЦ лимфоидных узелков молодые клетки составляют 14,19%, и практически в равном числе они выявлены в лимфоидных узелках без ГЦ и в ПАЛМ (5,99 и 5,49% соответственно). При этом основная доля бластных форм содержится в ГЦ лимфоидных узелков (3,41%), единичные клетки — в лимфоидных узелках без ГЦ (0,42%) Клетки с картинами митоза чаще всего присутствуют также в ГЦ (1,58%) и довольно редко — в лимфоидных узелках без ГЦ (0,15%). Во всех лимфоидных зонах селезенки присутствует небольшая доля плазматических клеток. В ПАЛМ они представлены зрелыми и незрелыми формами (0,44% — плазмобластов и 0,89% — плазмоцитов). В других зонах селезенки выявлены только незрелые плазматические клетки (1,04% — в ГЦ и 0,26% — в лимфоидных узелках без ГЦ). На периферии лимфоидных образований селезенки,

у границы с красной пульпой, выявлены гранулоцитарные лейкоциты, среди которых преобладают нейтрофилы: в ПАЛМ — 1,11% нейтрофилов и 0,78% — эозинофилов, вокруг лимфоидных узелков без ГЦ — 0,26% нейтрофилов.

После космического полета у песчанок по сравнению с интактными животными масса тела снижалась на 21,2 г, масса селезенки — на 14,3 мг, масса тимуса уменьшается на 19,3 мг и надпочечника — на 7,8 мг. Менялась микротопография лимфоидных структур в селезенке. На гистологических срезах видны резко расширенные участки красной пульпы и уменьшено содержание лимфоидной ткани. ПАЛМ очень тонкие, слабо дифференцируются. Присутствуют в основном лимфоидные узелки без ГЦ. В поле зрения на некоторых гистологических срезах сохраняется всего 1–2 небольших лимфоидных узелка со слабо выраженным ГЦ. На месте лимфоидных узелков и в красной пульпе отмечаются участки разрастания фиброзной ткани. В строме селезенки присутствуют грубые, толстые пучки волокон соединительной ткани. В красной пульпе видны обширные кровоизлияния. Артериальные сосуды спазмированы, эндотелий сосудов — в состоянии деструкции.

У песчанок после космического полета во всех лимфоидных зонах селезенки процессы деструкции клеток усиливаются в 1,4 раза по сравнению с таковыми у интактных животных, тогда как содержание макрофагов уменьшается в 1,3–2,0 раза (см. рис. 1). В лимфоидной ткани органа исчезают клетки с картинами митоза. Доля малодифференцированных клеток, в том числе бластов, резко уменьшена, особенно в ГЦ лимфоидных узелков (в 6,2 раза). Вместе с тем, по сравнению с интактными животными в ГЦ лимфоидных узелков и в ПАЛМ увеличивается число малых лимфоцитов (в 1,2–1,4 раза). При этом доля средних лимфоцитов сохраняется на уровне показателей у интактных животных, плазматические клетки не выявлены. По периферии лимфоидных узелков обнаружены тучные клетки (1,12% от общего содержания клеток) и единичные эозинофилы и нейтрофилы (по 0,45%).

**Обсуждение полученных данных.** Известно, что влияние невесомости в условиях длительного космического полета сопровождается развитием стресса в организме [7–9]. Одним из морфологических проявлений стресса у песчанок, по нашим данным, является уменьшение массы их тела, органов иммунной системы (тимуса и селезенки), а также надпочечников (в 1,5–2,5 раза по сравнению с показателями у интактных животных). Среди всех факторов космического полета



Содержание различных клеток (а, б) в лимфоидных структурах селезенки у интактных (темные столбики) песчанок и после космического полета (светлые столбики).

I — герминативный центр; II — периартериальная лимфоидная муфта; III — лимфоидный узелок без герминативного центра. По горизонтальной оси — клетки: А — лимфоциты; Б — деструктивно измененные клетки; В — макрофаги; Г — большие лимфоциты; Д — бластные формы; по оси ординат — доля клеток на стандартной площади среза (%). Вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки.

постоянным и практически невоспроизводимым в лабораторных условиях является невесомость [3, 7]. В связи с этим в экспериментальных исследованиях невесомость моделируют ограничением движения животных, в результате чего развивается гипокinezия. Так, И. Г. Стельникова [13], изучавшая влияние длительной гипокinezии (100 сут) у собак, установила резкое уменьшение как массы их тела, так и надпочечников. Автор связывает уменьшение массы надпочечников с

уменьшением доли коркового и мозгового вещества на 15 и 35% соответственно и массовой деструкцией клеток в них.

Учитывая данные литературы и полученные нами результаты, можно считать, что уменьшение весовых показателей изученных органов (надпочечника, селезенки, тимуса) и массы тела у песчанок является результатом стресса, вызванного воздействием невесомости после космического полета, что, в совокупности, приводит к общему

истощению организма. Известно также, что в условиях невесомости, прежде всего, происходит изменение и нарушение микроциркуляции в различных органах у животных [2, 7]. В настоящем исследовании установлено, что после космического полета у животных в сосудах селезенки отчетливо выражены застойные явления, одни сосуды резко расширены и опустошены, другие — наполнены кровью. Эндотелий сосудов имеет признаки деструкции. Подобная острая реакция микроциркуляторного русла описывается также в надпочечниках у собак при длительной гипокинезии, где нарушение функционального состояния капилляров наблюдалось в виде кровоизлияний в клубочковую и сетчатую зоны органа [13].

После космического полета в селезенке песчанок происходит перестройка в соотношении лимфоидной ткани в сторону подавления функционально активных ГЦ лимфоидных узелков. Отмеченное резкое уменьшение размеров ПАЛМ, морфологической зоны накопления Т-клеток, связано, по-видимому, с уменьшением массы тимуса у песчанок в 1,7 раза по сравнению с таковой у интактных животных. Известно, что уменьшение массы тимуса сопровождается изменением функционального состояния органа, что приводит к торможению созревания Т-клеток, обеспечивающих клеточный иммунитет, и замедлению их миграции в другие органы иммунной системы [10, 11]. Отмеченные изменения морфологической картины лимфоидных структур в селезенке связаны с уменьшением их функциональной активности после космического полета [1, 10]. Об этом же свидетельствует резкая перестройка клеточного состава лимфоидных структур в органе. Так, в этих структурах усиливаются процессы деструкции клеток на фоне снижения макрофагальной активности клеток. Аналогичная картина в изменении соотношения числа деструктивно-измененных клеток и макрофагов при моделировании невесомости (при гипокинезии) отмечена в работах других авторов — в паховых лимфатических узлах у обезьян, в лимфоидных узелках и в брыжеечных лимфатических узлах у крыс [4–6]. После космического полета в лимфоидных структурах селезенки нами отмечено резкое уменьшение количества бластных форм, особенно в ГЦ лимфоидных узелков, которые являются зоной созревания В-клеток, обеспечивающих гуморальный иммунитет. Уменьшение числа молодых форм клеток и отсутствие клеток с картинами митоза в лимфоидных зонах селезенки отражает снижение ее лимфоцитопоэтической функции, что, по-видимому, связано с замедлением процессов бласттрансформации и с ограниче-

нием поступления молодых клеток в паренхиму органа [10, 11, 16]. Наряду с этим, в лимфоидной ткани селезенки отмечается подавление созревания плазматических клеток, что свидетельствует об угнетении гуморального иммунитета. Вместе с тем, появление тучных клеток и накопление эозинофилов в лимфоидной ткани селезенки, вероятно, является проявлением аллергической реакции после космического полета [12].

Таким образом, результаты проведенного эксперимента показали острую реакцию организма песчанок на факторы космического полета. Установлено, что после космического полета у животных микротопография и цитоархитектоника лимфоидной ткани селезенки претерпевает изменения, характеризующие истощение её функциональной активности, что свидетельствует о снижении защитного иммунологического барьера лимфоидной ткани в селезенке и в организме в целом. Учитывая характер реакции лимфоидных структур в селезенке в проведенном эксперименте, можно предположить развитие функциональной недостаточности всех органов иммуногенеза и иммунодефицитного состояния у песчанок после космического полета [15].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Аминова Г. Г. Структурно-функциональные разновидности «лимфоидных узелков» органов иммуногенеза и других систем. Морфол. вед., 2009, № 3–4, с. 58–62.
2. Володина А. В. Влияние невесомости на ультраструктуру микрососудов скелетных мышц. В кн.: Тез. докл. II Рос. Конгр. по патофизиол. с междунар. участием «Патофизиология органов и систем. Типовые патологические процессы». М., Изд-во РГМУ, 2000, с. 334.
3. Газенко О.Г. Предвидение в рождении научных идей. Там же, с. 334–335.
4. Гарунова К. А., Григоренко Д. Е. и Аминова Г. Г. Реакция брыжеечных лимфатических узлов при моделировании гипокинезии. Морфология, 2011, т. 139, вып. 1, с. 49–52.
5. Григоренко Д.Е. и Гарунова К. А. Цитоархитектоника лимфоидной бляшки в стенке подвздошной кишки крыс в отдаленный период после действия гипокинезии. В кн.: Материалы 4-й Всерос. науч.-практ. конф. «Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособит. процессов». Новосибирск, Изд-во МГУ, 2010, с. 61–63.
6. Григоренко Д. Е., Ерофеева Л. М. и Корольков В. И. Паховые лимфатические узлы обезьян при действии гипокинезии. В кн.: Материалы VII Всерос. конф. по патологии клетки. М., Медицина для всех, 2005, с. 41–42.
7. Коваленко Е. А. О проблеме гипокинезии в современной медицине. В кн.: Тез. докл. II Рос. конгресса по патофизиол. с междунар. участием «Патофизиология органов и систем. Типовые патологические процессы». М., Изд-во РГМУ, 2000, с. 334.
8. Козловская И. Б. Механизмы влияния невесомости на системы управления жизнеобеспечения организма. В кн.: Тез.

- докл. Междунар. конф. по физиологии мышечной деятельности, М., Изд-во СИП РИА, 2002, с. 10–15.
9. Ларина И. М. 2004. Космический полет и регуляция метаболизма у человека. М., Наука, 2004.
  10. Петров Р. В. Иммунология и иммуногенетика. М., Медицина, 1976.
  11. Сапин М. Р. и Никитюк Д. Б. Иммунная система, стресс и иммунодефицит. М., АПП «Джангар», 2000.
  12. Серов В. В. и Шехтер Б. А. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология). М., Медицина, 1981.
  13. Стельникова И. Г. Надпочечники при адаптации организма к двигательным нагрузкам и гипокинезии (экспериментально-морфологическое исследование): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2007.
  14. Стефанов С. Б. Морфометрическая сетка случайного шага как средство ускоренного измерения морфогенеза. Цитология, 1974. т. 16, № 5, с. 785–787.
  15. Хаитов Р. М. и Пинегин Б. В. Иммунодефициты: диагностика и иммунотерапия. Леч. врач, 1999, № 2–3, с. 63–72.
  16. Vaček A., Michurina T. and Serova L. V. Decrease in the number of progenitors of erythrocytes, granulocytes and macrophages in bone marrow of rat after a 14-day flight on board the Cosmos-2044 Biosatellite. Folia Biol., 1991, v. 37, p. 35–41.

Поступила в редакцию 12.01.2012

## **SPLENIC LYMPHOID STRUCTURES REORGANIZATION IN GERBILS AFTER SPACE FLIGHT**

*D. Ye. Grigorenko and M. R. Sapin*

To assess the effects of weightlessness on the organism of mammals, splenic lymphoid tissue was studied in 10 intact Mongolian gerbils and in 10 animals after a 12-days-long spaceflight. In experimental animals the body mass and splenic, thymic and adrenal mass indexes were sharply reduced. In the spleen, the red pulp area was significantly increased, there appeared the areas of fibrous tissue proliferation, and extensive hemorrhage. Lymphoid nodules with germinal centers disappeared, while periarterial lymphoid sheaths were depleted. Quantitative analysis of cellular content of the lymphoid structures of the spleen showed dramatic activation of cell destruction, lymphocytopoiesis suppression with the disappearance of mitotically dividing cells and a decrease in the number of blast cells. The absence of plasma cells indicates the suppression of the processes of the immunocytopoiesis. The complex of changes noted suggests the decrease of immunological barrier of lymphoid tissue in the spleen and in the whole organism, in gerbils under the conditions of weightlessness in the spaceflight.

**Key words:** *spleen, lymphoid tissue, cell destruction, weightlessness, space flight*

Laboratory of Functional Anatomy, RAMS Institute of Human Morphology, Moscow