

© С.В. Пронина, 2006
УДК 611.41:599.745.3

С.В. Пронина*

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕЛЕЗЕНКИ ЩЕНКОВ БАЙКАЛЬСКОЙ НЕРПЫ (*Pusa sibirica* Gmel.)**

Кафедра общей генетики и цитологии (зав. — канд. биол. наук С.В. Лемза) Бурятского государственного университета, г. Улан-Удэ

С использованием методов световой микроскопии впервые изучено гистологическое строение селезенки щенков байкальского тюленя (нерпы) *Pusa sibirica* Gmel. Установлено, что селезенка нерпы имеет сильное развитие опорного аппарата (толстая капсула и многочисленные ветвящиеся трабекулы), богатого гладкими миоцитами. В селезенке нерпы возраста 2–4 нед сформированы все структуры белой пульпы, однако небольшое количество лимфоидных узелков, отсутствие в них герминативных центров указывает на то, что функционально они еще не зрелые. Наличие незрелых форм гранулоцитарного, эритроцитарного и мегакариоцитарного рядов свидетельствует о том, что миелопоэз в селезенке нерпы в постнатальный период продолжается.

Ключевые слова: селезенка, белая пульпа, тучные клетки, миелопоэз.

Байкальский тюлень, или нерпа (*Pusa sibirica* Gmel.), играет важнейшую роль в экосистеме озера и является индикатором состояния и функционирования всего биома водоема. Гистологическое строение органов нерпы исследовано недостаточно, и только в последние годы появились несколько работ по морфологической характеристике некоторых органов иммунного комплекса [2–4]. В то же время цитоархитектоника селезенки не изучена.

Целью данного исследования являлось изучение микроскопического строения селезенки щенков нерпы (возраст 2–4 нед) светооптическими методами.

Материал и методы. Материал для исследования был взят от щенков нерпы возраста 2–4 нед в апреле 2002 г. (от 8 особей) и 2004 г. (от 10 особей) при ледовом промысле в среднем Байкале (створ с. Сухая). Кусочки органов размером 0,5×0,5 см фиксировали 10% нейтральным формалином, жидкостью Карнуа и смесью Шабдаша. Парафиновые срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилином Эрлиха—эозином, по методу Маллори, азуrom II—эозином). Полисахариды выявляли ШИК-реакцией, окраской альциановым синим при pH 2,7, основным коричневым, 0,5% толуидиновым синим, РНК—метилловым зеленым—пиронином по Унна—Паленгейму. Контрольные срезы обрабатывали амилазой слюны (30 мин при температуре 37°C) и ферментами фирмы Reanal: РНКазой (в концентрации 1 мг/мл в течение 1 ч при температуре 37°C) и тестикулярной гиалуронидазой (в той же концентрации и при той же температуре в течение 3 ч) [5].

Отпечатки селезенки окрашивали азуrom—эозином по Романовскому. Описание и фотографирование проводили под светооптическим микроскопом Motic DMWFI-223A. Размер клеток и лимфоидных структур (лимфоидных узелков, периартериальных муфт, эллипсоидных макрофагально-лимфоидных муфт) селезенки измеряли с помощью окулярной микрометрической линейки. Подсчет количества различных видов клеток производили под микроскопом МБИ-6 при об. 90, ок. 7 с использованием окулярной планметрической сетки (квадрат, состоящий из линий, пересекающихся в 100 точках) [1]. Статистическая обработка

полученных данных включала подсчет среднеарифметических показателей и ошибки [6].

После взятия материала для гистологического исследования органы животных были подвергнуты паразитологическому анализу, который показал, что щенки нерпы в возрасте 2–4 нед свободны от инвазии.

Результаты исследования. Селезенка щенков нерпы имеет хорошо развитый опорно-сократительный аппарат. Она покрыта серозной оболочкой, под которой находится толстая капсула (50–80 мкм) из плотной соединительной ткани, богатой гладкими миоцитами, особенно на границе с паренхимой (рис. 1). От капсулы внутрь отходят толстые разветвляющиеся трабекулы, также с многочисленными гладкими миоцитами. В трабекулах содержатся трабекулярные вены и артерии. Вены, как и у других млекопитающих, — безмышечного типа.

Паренхима органа состоит из красной и белой пульпы. В красной пульпе, кроме ретикулярных клеток, выявляются макрофаги, расположенные диффузно или небольшими скоплениями, малые лимфоциты, эозинофилы и мегакариоциты. Тучные клетки располагаются в стенке пульпарных кровеносных сосудов и на периферии лимфоидных образований. Доля тучных клеток от всех клеток красной пульпы (исключая ретикулярные клетки и зрелые эритроциты) составляет $8,1 \pm 0,4\%$, их средний размер — $7,8 \pm 0,24 \times 5,7 \pm 0,17$ мкм. В цитоплазме тучных клеток содержится крупная метахроматическая зернистость.

Постановка цитохимических реакций и ферментативных контролей свидетельствует о содержании в тучных клетках гликогена и кислых полисахаридов.

Клетки мегакариоцитарного ряда многочисленны. При увеличении в 150 раз количество мегакариоцитов в поле зрения колеблется от 7 до 25 (в среднем $14,0 \pm 0,9$). Клетки различаются по размерам и ядерно-цитоплазменным отношениям. Мелкие клетки, которые можно определить как структуры мегакари-

*E-mail: npron@biol.bsc.buryatia.ru

**Работа выполнена при частичной поддержке проекта МЯ-3 МПР РФ, 2002 г. и гранта РФФИ 03-04-49 571.

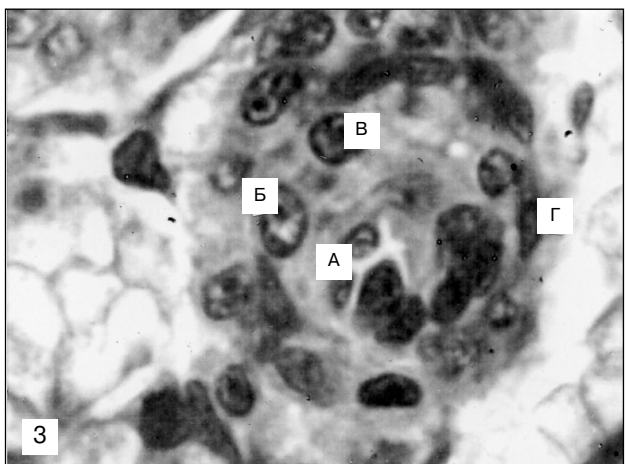
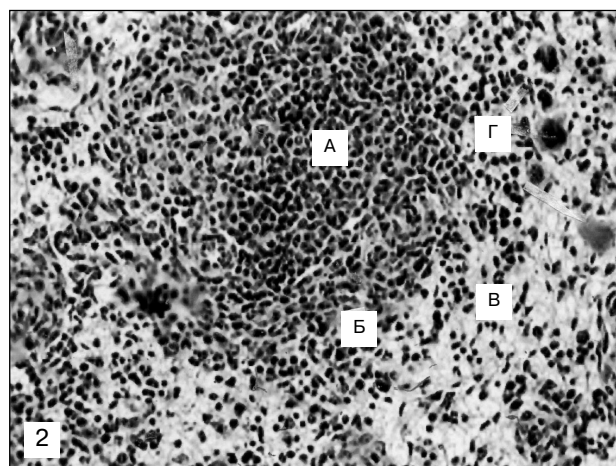
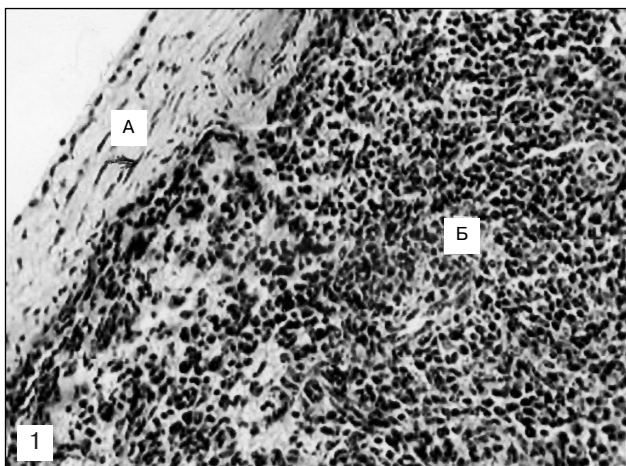


Рис. 1. Толстая соединительнотканная капсула, покрывающая селезенку с поверхности.

А — капсула, богатая гладкими миоцитами; Б — белая пульпа. Гематоксилин—эозин. Ув. 100.

Рис. 2. Белая пульпа селезенки шенка байкальской нерпы.

А — лимфоидный узелок без реактивного центра; Б — маргинальная зона; В — красная пульпа; Г — мегакариоциты. Гематоксилин—эозин. Ув. 100.

Рис. 3. Макрофагально-лимфоидная муфта селезенки шенка байкальской нерпы.

А — ядра эндотелиальных клеток; Б — макрофаг; В — лимфоцит; Г — ретикулярная клетка. Гематоксилин—эозин. Ув. 400.

оцитарного ряда, имеют размер $8,5 \times 8,5$ мкм, самые крупные достигают 38×40 мкм. Эти клетки округлой или овальной формы с большим ядром. Форма ядра различная: округлая или округлая с выступами, бобовидная, кольцевидная. Встречаются и многоядерные клетки. Ядра богаты мелкозернистым хроматином. Цитоплазма базофильная, мелкозернистая или гомогенная, при выявлении РНК и гликогена она окрашивается умеренно.

В отпечатках селезенки отчетливо выявляются и другие клетки миелопоэза: созревающие базофильные и эозинофильные клетки гранулоцитарного и эритроидного ряда, образующие небольшие островки. На отпечатках и гистологических срезах чаще других зернистых лейкоцитов встречаются эозинофильные гранулоциты. Относительное количество этих клеток составляет $7,1 \pm 0,4\%$. При этом доля незрелых клеток ($4,6 \pm 0,3\%$) превосходит таковую зрелых ($2,5 \pm 0,13\%$) в 1,84 раза. Это также подтверждает, что в селезенке шенков нерпы происходит образование эозинофильных гранулоцитов.

Структурная организация белой пульпы сходна с таковой у других млекопитающих. Белая пульпа селезенки представлена лимфоидными узелками, эллипсоидными макрофагально-лимфоидными муфтами и лимфоидными периартериальными муфтами.

Лимфоидные узелки в селезенке шенков нерпы — округлой формы без герминативных центров (рис. 2), у большинства границы нечеткие. При окраске по методу Маллори по периферии узелка выявляются

скопления тонких коллагеновых волокон, которые поодиночке встречаются и в центре узелка. Диаметр лимфоидных узелков колеблется от 75 до 240 мкм, в среднем их размер составляет 128 ± 6 мкм. Центральная часть лимфоидных узелков более чем на 50% состоит из средних и малых лимфоцитов. Содержание больших лимфоцитов и ретикулярных клеток почти одинаковое ($12,5 \pm 1,3\%$ и $14,6 \pm 1,4\%$ соответственно). Доля макрофагов и деструктивно-измененных клеток по сравнению с ними в 2 раза меньше, клетки с фигурами митоза единичны и встречаются в очень редких лимфоидных узелках.

В маргинальной зоне преобладают средние лимфоциты и ретикулярные клетки, на них вместе взятых приходится более 60% от числа всех клеток. Доля малых лимфоцитов и клеток с деструктивными изменениями одинакова ($8,4 \pm 1,0\%$ и $8,2 \pm 1,0\%$). Количество больших лимфоцитов — чуть меньше, а макрофагов немного больше. В маргинальной зоне встречаются плазматические клетки, но они составляют не более 1,5% от всех клеток.

В периартериальных муфтах половину всех клеток составляют средние лимфоциты. Доля больших лимфоцитов такая же, как в центре лимфоидных узелков, а малых лимфоцитов и ретикулярных клеток чуть меньше. Деструктивно-измененных клеток в периартериальных муфтах заметно меньше по сравнению с таковыми в лимфоидных узелках. Относительное количество плазматических клеток, как и в лимфоидных узелках, небольшое.

Макрофагально-лимфоидные муфты многочисленны в красной пульпе и по границе маргинальной зоны. Их диаметр варьирует от 22,5 до 60 мкм, составляя в среднем $37,2 \pm 1,2$ мкм. Стенка их образована эндотелиальными и ретикулярными клетками, макрофагами и лимфоцитами (рис. 3). В наружных слоях некоторых эллипсоидов встречаются тучные клетки и клетки фибробластического ряда с веретеновидными гиперхромными ядрами. Количество слоев клеток в муфтах варьирует от 2 до 8 и более.

Обсуждение полученных данных. Общий план строения селезенки нерпы в общем сходен с таковым у других млекопитающих. Она характеризуется более толстой капсулой и значительным развитием трабекул. Сильное развитие опорного аппарата в селезенке нерпы, вероятно, обусловлено особенностями ее образа жизни, в частности необходимостью ныряния на большие глубины. Как отмечает Е.А. Петров [8], при погружении нерпы под воду минутный объем крови в периферических тканях снижается, и возникающий избыток крови устремляется в сосуды брюшной полости, а следовательно, и ее органы. Возможно, в этом случае значительная часть крови поступает в селезенку, выполняющую роль депо крови.

В селезенке щенков нерпы в возрасте 2–4 нед уже имеются все основные лимфоидные образования белой пульпы: лимфоидные узелки и лимфоидные муфты, эллипсоидные макрофагально-лимфоидные муфты [9]. Однако небольшое количество лимфоидных узелков, нечеткость их наружной границы, отсутствие герминативных центров, низкая доля в них бластных форм клеток указывают на то, что у щенков нерпы возраста 2–4 нед лимфоидные структуры не достигают полной функциональной зрелости.

Высокое сродство гранул тучных клеток к толуидиновому синему указывает на присутствие в них гепарина [7], подтверждается это и устойчивостью метакромазии гранул к тестикулярной гиалуронидазе.

Наличие незрелых форм гранулоцитарного, эритроцитарного и мегакариоцитарного рядов свидетельствует о том, что миелопоэз в селезенке нерпы не заканчивается в эмбриональном периоде, а продолжается и после рождения. Следовательно, в постнатальный период селезенка нерпы является смешанным лимфогемоидным органом, в котором происходит как лимфо-, так и миелопоэз.

Искренне благодарю д-ра биол. наук Е.А. Петрова и д-ра биол. наук Н.М. Пронина за помощь в получении материала для данного сообщения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Морфометрия в патологии. М., Медицина, 1973.
2. Григоренко Д.Е. Возрастные особенности морфологии лимфоидной бляшки подвздошной кишки у байкальской нерпы. В кн.: Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии: Сб. науч. трудов НИИ морфологии человека РАМН. М., 2003, с. 66–68.
3. Ерофеева Л.М. Морфологическая характеристика тимуса байкальской нерпы разных возрастных групп. В кн.: Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии: Сб. науч. трудов НИИ морфологии человека РАМН. М., 2003, с. 69–72.
4. Ерофеева Л.М., Жамсаранова С.Д., Кутырев И.А. и др. Особенности морфологии и цитоархитектоники брыжеечных лимфатических узлов у взрослых особей байкальской нерпы. Вестн. новых медицинских технологий, 2004, т. 11, № 3, с. 18–20.
5. Кононский А.И. Гистохимия. Киев, Вища школа, 1976.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. М., Высш. школа, 1990.
7. Линднер Д.П., Поберий И.А., Розкин М.Я. и Ефимов В.С. Морфометрический анализ популяции тучных клеток. Арх. пат., 1980, т. 42, № 6, с. 60–64.
8. Петров Е.А. Байкальская нерпа: эколого-эволюционные аспекты: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Улан-Удэ, 2003.
9. Сапин М.Р. и Этинген Л.Е. Иммунная система человека. М., Медицина, 1996.

Поступила в редакцию 09.11.2005 г.

MORPHO-FUNCTIONAL CHARACTERISTIC OF THE SPLEEN IN BAIKAL SEAL (*PUSICA SIBIRICA* GMEL.) PUPS

S.V. Pronina

Using the methods of light microscopy, the histological structure of the spleen in Baikal seal (*Pusica sibirica* Gmel.) pups was studied for the first time. It was found that in Baikal seal the spleen is characterized by highly developed supporting elements (thick capsule and numerous branching trabeculae), which are rich in smooth myocytes. By the age of 2–4 weeks, all the structures of white pulp were formed, however, presence of only a few lymphoid nodules with the absent germinal centers indicates that functionally these structures are still immature. Presence of immature forms of granulocytic, erythroid and megakaryocytic lineage shows that the myelopoiesis in Baikal seal spleen continues in postnatal period.

Key words: *spleen, white pulp, mast cells, myelopoiesis.*

Department of General Genetics and Cytology, Buryat State University, Ulan-Ude.