

© Коллектив авторов, 2008
УДК 591.446:591.3

И.А. Кутырев¹, Г.П. Ламажапова² и С.Д. Жамсаранова²

КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ КОРКОВОГО ВЕЩЕСТВА БРЫЖЕЕЧНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ БАЙКАЛЬСКОЙ НЕРПЫ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

¹ Лаборатория паразитологии и экологии гидробионтов (зав. — проф. Н.М. Пронин) Института общей и экспериментальной биологии СО РАН; ² кафедра биоорганической и пищевой химии (зав. — проф. С.Д. Жамсаранова) Восточно-Сибирского государственного технологического университета, г. Улан-Удэ

Проведено морфометрическое исследование клеточного состава (относительно содержания и плотности расположения) герминативных центров и мантии лимфоидных узелков, паракортикальной зоны брыжеечных лимфатических узлов у 65 особей байкальской нерпы в возрасте от 1 мес до 19 лет. Установлено, что с увеличением возраста отмечается снижение числа больших и средних лимфоцитов (в 3 и 1,9 раза соответственно), ретикулярных клеток (в 2,6 раза), повышение числа малых лимфоцитов (в 1,5 раза) и плазматических клеток (в 4,9 раза). Таким образом, с одной стороны, наблюдается снижение лимфоцитопозитической функции лимфатических узлов, а с другой — усиление иммуноцитопоза с возрастом.

Ключевые слова: лимфатический узел, клеточный состав, онтогенез, байкальская нерпа.

Байкальская нерпа (*Pusa sibirica* Gmelin 1798) — эндемик и единственное водное млекопитающее озера Байкал. Поскольку Байкал включен в Список участков мирового природного наследия ЮНЕСКО, то изучение его обитателей в целях сохранения биологического разнообразия озера актуально. Имунная система, в частности, лимфоидные органы, ассоциированные с кишечником, в организме животного являются одними из первых барьеров на пути биологической и химической агрессии. Из изучения литературных источников следует, что большинство исследований лимфатических узлов проводили на наземных млекопитающих. Исследования же органов иммунной системы водных млекопитающих [11–13] проведены в основном у представителей отряда китообразных (Cetacea). При изучении лимфатических узлов, однако, получены лишь отрывочные сведения об их клеточном составе. У представителей отряда ластоногих (*Pinnipedia*) из тканей, выполняющих иммунные функции в организме, гистологическими методами исследованы только групповые лимфоидные узелки тощеподвздошной кишки у гренландского тюленя (*Pagophilus groenlandica*) [2]. Из органов иммунной системы байкальской нерпы, ассоциированных с пищеварительной системой, также исследованы групповые лимфоидные узелки подвздошной кишки [3, 4]. Нами ранее были проведены гистологические исследования брыжеечных лимфатических узлов (БЛУ) байкальской нерпы у взрослых и полувзрослых особей [6].

Целью настоящих исследований явилось изучение клеточного состава коркового вещества БЛУ байкальской нерпы в возрастном аспекте.

Материал и методы. Материалом для гистологических исследований служили БЛУ байкальской нерпы.

Возрастные группы животных выделяли согласно периодизации онтогенеза особей этого вида, предложенной Е.А. Петровым [8]. Определение возраста животных проводили по годовым слоям в тканях зубов [5]. Взятие материала производили от особей, отловленных в период лицензионного промысла сотрудниками «Востсибрыбцентра» в течение 2001–2005 гг. Были исследованы БЛУ от 65 особей байкальской нерпы: из них 19 — в возрасте 1 мес, 12 — до 1 года, 14 — 2–3 лет, 10 — 4–12 лет, 10 — 13–19 лет.

БЛУ фиксировали в 10% нейтральном формалине с последующей спиртовой проводкой и заливкой в парафин по стандартным методикам. Срезы толщиной 4–6 мкм окрашивали гематоксилином–эозином, азуром–II–эозином и метиловым зеленым — пиронином по Браше. При помощи 25-узловой сетки проводили подсчет клеточных элементов на условной единице площади гистологического среза, равной 880 мкм², в следующих морфофункциональных зонах коркового вещества лимфатических узлов: герминативный центр лимфоидного узелка, мантия лимфоидного узелка, паракортикальная зона. Подсчитывали количество следующих видов клеток: бластные формы лимфоцитов; большие, средние и малые лимфоциты; митотически делящиеся клетки, плазмобласты и плазмциты, сегментоядерные и палочкоядерные эозинофильные гранулоциты, ретикулярные, макрофаги, деструктивно-измененные. Полученные данные подвергали статистической обработке с использованием компьютерной программы «Jandel Sigma Plot». Различия считали значимыми при $P \leq 0,05$.

Результаты исследования. С увеличением возраста в герминативных центрах происходит снижение доли больших и средних лимфоцитов от общего количества клеток на условной площади гистологического среза (табл. 1). Только в группе 13–19-летних особей доля средних лимфоцитов вновь увеличивается. Возрастает количество малых лимфоцитов. Увеличивается также содержание плазматических клеток. В группе 13–19-летних особей в герминативных центрах

Таблица 1

**Доля (%) и плотность расположения клеток в герминативных центрах лимфоидных узелков
брыжеечных лимфатических узлов байкальской нерпы разного возраста ($\bar{x} \pm s_x$)**

Виды клеток	Возраст животных				
	1 мес	до 1 года	2–3 года	4–12 лет	13–19 лет
Ретикулярные	10,8±2,8	14±3	3,8±1,0*, **	6,1±1,1*, **, ***	2,0±2,0*, **, ****
Бласты	7,3±1,5	5,8±1,3	3,3±1,4*	3,8±2,6	6,1±2,3
Большие лимфоциты	10,1±1,8	12±3	7,1±1,0*, **	8,2±2,5	3,5±0,9*, **, ***, ****
Средние лимфоциты	35,2±4,5	22,3±1,7*	26,7±2,8	15,0±1,7*, **, ***	33±5
Малые лимфоциты	20,0±2,2	26,2±2,2*	42±5*, **	43,7±5,6*, **	38±8*, **
Плазмобласты	2,0±0,7	4,5±1,8	2,9±0,8	7,0±2,8*, ***, **	8,0±1,4*, **, ***, **
Плазмоциты	0,40±0,26	0,5±0,3	1,5±0,6*	4,1±2,9*, **	2,4±0,8*, ****
Эозинофильные гранулоциты:					
сегментоядерные	0,3±0,3	0	0,9±0,5	0	0
палочкоядерные	0,20±0,20	0	0	0	0,4±0,3
Макрофаги	0,7±0,43	0,8±0,4	1,2±0,6	2,8±0,9*, **, ***	1,6±0,6
Деструктивно-измененные	11,3±2,0	14,8±2,5	10,5±2,4	9,4±2,5*, **	3,5±1,1*, **, ***, ****
Митотически делящиеся	1,0±0,4	0,8±0,4	0	0	0,20±0,20*
Плотность расположения клеток	36,0±1,8	34,1±2,8	31,6±2,4*, ****	36,2±1,2	52,0±2,2*, **, ***, ****

Примечание: Здесь и в табл. 2 и 3: различия значимы при $P \leq 0,5$ по сравнению: * с 1-месячными особями; ** особями до 1 года; *** 2–3-летними; **** 4–12-летними.

отмечается снижение числа плазмочитов. Доля бластов в герминативных центрах лимфоидных узелков 2–3-летних особей значимо меньше, чем у 1-месячных животных. Эозинофильные гранулоциты и митотически делящиеся клетки встречаются в незначительных количествах и не во всех возрастных группах. У 4–12-летних особей количество макрофагов значимо больше, чем у представителей более раннего возраста. Ретикулярных и деструктивно-измененных клеток с возрастом становится меньше. Плотность расположения клеток у 2–3-летних особей значимо ниже, чем у 1-месячных и взрослых зрелых животных, а у 13–19-летних особей плотность клеток почти в 1,5 раза выше, чем в остальных возрастных группах.

В мантии лимфоидных узелков наблюдается снижение доли ретикулярных клеток и повышение содержания малых лимфоцитов до 4–12-летнего возраста (табл. 2). В группе 13–19-летних особей отмечено увеличение количества ретикулярных клеток и снижение числа малых лимфоцитов. Доля средних лимфоцитов у 1-месячных особей значимо больше, чем в остальных возрастных группах. Плазматических клеток содержится незначительное количество во всех возрастах. Только у 2–3-летних и 4–12-летних особей доля плазматических клеток выше по сравнению с таковой у других животных. Бластов, митотически делящихся клеток и макрофагов во всех возрастных группах содержится незначительное количество или они совсем отсутствуют. Для

деструктивно-измененных клеток не выявлено какой-либо зависимости их содержания от возраста. Плотность клеток с возрастом значительно не изменяется.

Только у 2–3-летних особей она значимо ниже, чем у 1-месячных, особей в возрасте до 1 года и 13–19-летних животных.

Паракортикальную зону отличает снижение доли больших и средних лимфоцитов, а также ретикулярных клеток с возрастом животных (табл. 3). Однако у 13–19-летних особей доля больших лимфоцитов вновь возрастает. С возрастом нерпы увеличивается содержание малых лимфоцитов и плазматических клеток. Доля бластов у особей в возрасте до 1 года ниже чем у 1-месячных животных. У 2–3-летних особей они отсутствуют. Для таких показателей, как доля деструктивно-измененных и разрушенных клеток, не выявлено каких-либо закономерностей возрастных изменений. Доля эозинофильных гранулоцитов и митотически делящихся клеток небольшая, и встречаются они только в отдельных возрастных группах. Плотность расположения клеток во всех возрастных группах имеет довольно высокий уровень, особенно у 4–12-летних животных (55,8 клеток на 1 усл. ед. площади среза).

Обсуждение полученных данных. Проведенные исследования выявили особенности изменений клеточного состава коркового вещества БЛУ байкальской нерпы в зависимости от возраста. Установлено, что с увеличением воз-

Таблица 2

**Доля (%) и плотность расположения клеток в мантии лимфоидных узелков
брыжеечных лимфатических узлов байкальской нерпы в разных возрастных группах ($\bar{x} \pm s_x$)**

Виды клеток	Возраст животных				
	1 мес	до 1 года	2–3 года	4–12 лет	13–19 лет
Ретикулярные	9,4±1,5	10,9±2,0	6,6±1,1*, **	3,1±0,9*, ***, ***	7,8±1,1****
Бласты	1,3±0,4	0,3±0,3	0	0,5±0,5	0,7±0,3
Большие лимфоциты	3,4±1,7	2,3±0,9	1,1±0,5*	1,8±1,4	1,2±0,5
Средние лимфоциты	32±4	23,5±2,3*	20,3±2,9*	18±5*	23±3*
Малые лимфоциты	50±4	56±3	65±3*, **	75±5*, ***, ***	61±5*, ****
Плазмобласты	0,8±0,4	0,3±0,3	2,6±0,4*, ***, ****	1,5±0,7**, *****, ****	0,40±0,20
Плазмоциты	0,40±0,20	0,6±0,3	0,6±0,3	1,1±0,7	0,20±0,20
Эозинофильные гранулоциты:					
сегментоядерные	0	0	0	0	0
палочкоядерные	0	0	0	0	0
Макрофаги	0,20±0,20	0,10±0,10	0	0	0,20±0,20
Деструктивно-измененные	3,1±0,7	4,8±1,4	3,7±1,6	0	5,0±1,4
Митотически делящиеся	0	0,10±0,10	0	0	0
Плотность расположения клеток	51,2±2,4	47,2±1,0	44,6±1,4*, ***, ****	49±3	54,0±1,9

Здесь и в табл. 3: **** различия значимы по сравнению с 13–19-летними особями при $P \leq 0,05$.

раста наблюдается снижение числа ретикулярных клеток (в среднем в 2,6 раза), больших и средних лимфоцитов (в 3 и 1,9 раза соответственно), повышение содержания малых лимфоцитов (в 1,5 раза) и плазматических клеток (в 4,9 раза).

Как известно, ретикулярные клетки активно участвуют в процессах ответа на антигенную стимуляцию. Фагоцитирующие ретикулярные клетки могут захватывать разрушенные и даже целые лимфоциты. Продукты распада лимфоцитов сти-

мулируют пролиферацию клеток лимфоидной ткани. В связи с этим значительное уменьшение числа ретикулярных клеток свидетельствует о снижении функциональной активности лимфатических узлов. У наземных млекопитающих содержание ретикулярных клеток либо остается неизменным в течение жизни, либо незначительно снижается с увеличением возраста [1, 7, 10, 14].

Известно, что большие лимфоциты являются молодыми формами клеток, образующимися в

Таблица 3

**Доля (%) и плотность расположения клеток в паракортикальной зоне брыжеечных лимфатических узлов
байкальской нерпы в разных возрастных группах ($\bar{x} \pm s_x$)**

Виды клеток	Возраст животных				
	1-мес	до 1 года	2–3 года	4–12 лет	13–19 лет
Ретикулярные	20±3	3,2±1,4*	9,4±2,0*, **	7,5±2,2*, **	5,8±0,8*, ***, ***
Бласты	2,1±0,5	0,5±0,5*	0	1,1±1,1	1,5±0,5
Большие лимфоциты	5,3±1,2	3,6±2,6	0,3±0,3*, **	0,4±0,4*, **	1,5±1,0*, ***, ****
Средние лимфоциты	14,5±2,7	16,4±2,0	13,6±1,4	11,0±2,3**	10,2±2,1**
Малые лимфоциты	55±3	68±6*	67,5±2,8*	72±3*	67±5*
Плазмобласты	0,50±0,20	3,2±1,7*	6,0±1,3*	3,6±0,9*	6,5±2,6*
Плазмоциты	0,10±0,10	0	1,4±0,6*, **	1,4±0,7*, **	3,1±2,1*, **
Эозинофильные гранулоциты:					
сегментоядерные	0,80±0,60	0	0	0	0,3±0,3
палочкоядерные	0	0	0,10±0,10	0	0
Макрофаги	0	0	0	0	0
Деструктивно-измененные	2,0±0,7	5,2±1,2*, ****	1,6±0,6*, ***, ****	2,9±1,1	4,2±1,6****
Митотически делящиеся	0		0,20±0,20	0	0
Плотность расположения клеток	51,4±1,8	46,0±1,4*	44,1±1,9*	55,8±1,2*, ***, ***	49,1±2,3****, ****

процессе пролиферации, и предшественниками средних лимфоцитов. Поэтому уменьшение числа больших и средних лимфоцитов, наряду с уменьшением доли лимфоидных узелков с герминативными центрами, свидетельствует о снижении лимфопоэтической функции лимфатического узла [4, 6, 9]. Снижение с возрастом доли больших и средних лимфоцитов, а также увеличение числа малых лимфоцитов в корковом веществе лимфатических узлов обычно наблюдается и у наземных млекопитающих [1, 7, 10, 14].

В лимфоидных узелках локализуются преимущественно В-лимфоциты, которые являются предшественниками плазматических клеток. В-лимфоциты, преобразованные под влиянием антигенов в плазмобласты, покидают лимфоидные узелки и направляются к мозговым тазам, где они дифференцируются в антителообразующие плазматические клетки. Поэтому увеличение содержания плазматических клеток указывает на повышение иммунопоэза с увеличением возраста. У наземных млекопитающих число плазматических клеток в БЛУ с возрастом обычно снижается [4, 9].

На основании анализа собственных и литературных данных, были выявлены, с одной стороны, общие с другими видами млекопитающих закономерности динамики клеточного состава: снижение числа больших и средних лимфоцитов, повышение числа малых лимфоцитов [1, 7, 9, 10]; с другой стороны — установлены специфические закономерности изменения клеточного состава, возможно, присущие только водным млекопитающим, в частности, байкальской нерпе: значительное снижение количества ретикулярных клеток, увеличение числа плазматических клеток [4, 6]. Исследования показали, что с возрастом в БЛУ байкальской нерпы, наряду с инволютивными гистологическими изменениями структуры, снижением уровня лимфопоэза, происходит значительное усиление иммунопоэтической функции, что, возможно, связано с условиями обитания животного [3, 4, 6].

ЛИТЕРАТУРА

- Берюшева Е.А. Возрастные изменения клеточного состава брыжеечного лимфатического узла крыс. Вестн. Белоцерковск. гос. аграрного ун-та, 2005, вып. 2, с. 11–15.
- Букина Л.А., Сунцова Н.А. и Букин В.Ю. Макро- и микроморфология лимфоидной ткани стенки тощеподвздошной кишки у зеленцов гренландского тюленя (*Pagophilus groenlandica*). Морские млекопитающие Голарктики. В кн.: Сб. науч. трудов по материалам III Межд. конф. М., Изд-во КМК, 2004, с. 92–94.
- Григоренко Д.Е. Морфология групповых лимфоидных узелков подвздошной кишки у байкальской нерпы. Морфология, 2002, т. 121, вып. 2–3, с. 43.
- Григоренко Д.Е. Цитоархитектоника групповых лимфоидных узелков у молодых (неполовозрелых) байкальских нерп. Морфология, 2004, т. 126, вып. 4, с. 38.
- Клевезаль Г.А. и Клейненберг С.Е. Определение возраста млекопитающих (по слоистым структурам зубов и кости). М., Наука, 1967.
- Кутырев И.А., Ламажапова Г.П., Ерофеева Л.М. и Жамсаранова С.Д. Сравнение микроанатомических и цитологических характеристик брыжеечного лимфатического узла полувзрослых и взрослых особей байкальской нерпы (*Pusa sibirica*). Зоол. журн., 2006, т. 85. № 7, с. 886–892.
- Маринкина О.Г. и Овсянко Е.В. Микроанатомическая организация мезентериальных лимфатических узлов животных разных возрастных групп при применении радоновой воды. Науч. труды Новосибирск. мед. акад., 2000, т. 151, с. 121–122.
- Петров Е.А. Байкальская нерпа: эколого-эволюционные аспекты. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Улан-Удэ, 2003.
- Сапин М.Р. и Этинген Л.Е. Иммунная система человека. М., Медицина, 1996.
- Сунцова Н.А. Морфометрические показатели брыжеечных лимфатических узлов нутрии в постнатальном онтогенезе. Сельскохозяйственная биология: Сер. «Биология животных», 2002. № 2, с. 107–111.
- Cowan D.F. and Smith T. Morphology of the lymphoid organs of the bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*. J. Anat., 1999, v. 194, Pt. 4, p. 505–517.
- Romano T., Felten S.Y. and Olshowka J.A. A microscopic investigation of the lymphoid organs in the beluga, *Delphinapterus leucas*. J. Morphol., 1993, v. 215, Iss. 3, p. 261–287.
- Romano T., Felten S.Y. and Olshowka J.A. Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid organs in the beluga, *Delphinapterus leucas*: an anatomical link between the nervous and immune system J. Morphol., 1994, v. 221, Iss. 3, p. 243–259.
- Taniguchi I., Sakurada A. and Murakami G. Comparative histology of lymph nodes from aged animals and humans with special reference to the proportional areas of the nodal cortex and sinus. Ann. Anat., 2004, v. 186, p. 337–347.

Поступила в редакцию 15.06.07

Получена после доработки 01.12.07

CELLULAR COMPOSITION OF THE MESENTERIC LYMPH NODE CORTEX IN BAIKAL NERPA DURING POSTNATAL ONTOGENESIS

I.A. Kutyrev, G.P. Lamazhapova, S.D. Zhamsaranova

Cellular composition (relative cell content and cell density) of nodules' germinal centers, mantle zones and paracortical zones was evaluated morphometrically in mesenteric lymph nodes of 65 Baikal nerpas (*Pusa sibirica* Gmelin) aged 1 month – 19 years. A significant decrease in the number of large and medium lymphocytes (3 and 1.9 times, respectively) and reticular cells (2.6 times), was found to occur with age, accompanied by an increase in the number of small lymphocytes (1.5 times) and plasma cells (4.9 times). Thus, with age, on one hand, the decline of lymphopoietic function of the lymph nodes was noted, while on the other hand, the intensification of immunocytopoiesis could be observed.

Key words: lymph node, cell composition, ontogeny.

Laboratory of Parasitology and Ecology of Aquatic Species, RAS Institute of General and Experimental Biology, Ulan-Ude; Department of Bioorganic and Food Chemistry, East Siberian State Technological University, Ulan-Ude.