

ПРОЛИФЕРАЦИЯ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ЛИМФОЦИТОВ В СЕЛЕЗЕНКЕ КРЫС ПРЕПУБЕРТАТНОГО ВОЗРАСТА, РАЗВИВАВШИХСЯ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭНДОКРИННОГО ДИСРАПТОРА ДИХЛОРОДИФЕНИЛТРИХЛОРЕТАНА

*Гагулаева Б.Б., Яглова Н.В., Обернихин С.С., Тимохина Е.П.
НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ
«Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского»,
г. Москва, Россия*

Эндокринные дисрапторы являются значительной частью антропогенной нагрузки. Воздействуя на развивающийся организм, они способны влиять на темпы морфогенетических процессов. Дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) является одним из наиболее распространенных в природе эндокринных дисрапторов. Цель исследования – выявить отличия в пролиферации и дифференцировке лимфоцитов в селезенке крыс препубертатного возраста, развивавшихся при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ. Исследование показало, что темпы деления клеток у крыс, развивавшихся при воздействии низких доз ДДТ, в препубертатном возрасте статистически значимо превышали значения контрольной группы. Цитофлуориметрический анализ выявил меньшее содержание дифференцированных Т- и В-лимфоцитов. Анатомические параметры развития селезенки при этом не отличались от значений контрольной группы. Таким образом, у крыс, подвергавшихся воздействию низких доз ДДТ в пренатальном и постнатальном развитии, в препубертатном возрасте был нарушен баланс процессов пролиферации и дифференцировки, что обусловило меньшее содержание дифференцированных лимфоцитов в селезенке. Эти данные указывают на замедление функционального созревания селезенки как органа иммунной защиты.

Ключевые слова: селезенка, пролиферация, дифференцировка, эндокринный дисраптор, дихлордифенилтрихлорэтан

PROLIFERATION AND DIFFERENTIATION OF SPLENIC LYMPHOCYTES IN PREPUBERTAL RATS DEVELOPMENTALLY EXPOSED TO THE ENDOCRINE DISRUPTER DICHLORODIPHENYLTRICHLOROETHANE

*Gagulaeva B.B., Yaglova N.V., Obernikhin S.S., Timokhina E.P.
Avtsyn Research Institute of Human Morphology of Federal State Budgetary
Scientific Institution “Petrovsky National Research Centre of Surgery”,
Moscow, Russia*

Endocrine disruptors are a significant part of the anthropogenic load. Exposure of developing organisms may result in altered rates of morphogenetic processes. Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) is one of the most common endocrine disruptors. The aim of the study was to reveal differences in the proliferation and differentiation of lymphocytes in the spleen of prepubertal rats that developed under the influence of the endocrine disruptor DDT. The study showed that the rate of cell division in rats that developed under the influence of low doses of DDT, at prepubertal age was statistically significantly higher than the values of the control group. Cytofluorimetric analysis revealed a lower content of differentiated T- and B-lymphocytes.

The anatomical parameters of the development of the spleen did not differ from the values of the control group. Thus, in rats exposed to low doses of DDT in prenatal and postnatal development, the balance of proliferation and differentiation processes was disturbed at prepubertal age, which led to a lower content of differentiated lymphocytes in the spleen. These data indicate a slowdown in the functional maturation of the spleen as an organ of immune defense.

Keywords: *spleen, proliferation, differentiation, endocrine disruptor, dichlorodiphenyltrichloroethane*

Введение. Известно, что факторы окружающей среды, действующие на материнский организм, оказывают влияние на развитие органов и систем плода, что вызывает изменения морфогенетических процессов, таких как пролиферация, дифференцировка, миграция и апоптоз клеток [1]. В настоящее время выраженность антропогенной нагрузки на организм значительна и во многом обусловлена повсеместным персистированием низких доз поллютантов, являющихся эндокринными дисрапторами. Дисморфогенетические эффекты были обнаружены у многих эндокринных дисрапторов, таких как бисфенол А, полихлорированные дифенилы, оксибензоны, дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) [2]. Среди эндокринных дисрапторов наибольшей распространенностью в окружающей среде отличается ДДТ [3]. Благодаря низкой молекулярной массе и хорошей растворимости в жирах он способен проникать через фетоплацентарный барьер и оказывать дисрапторное действие и на материнский организм, и на плод [4].

Цель исследования – выявить отличия в пролиферации и дифференцировке лимфоцитов в селезенке крыс препубертатного возраста, развивавшихся при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ.

Материалы и методы. Исследование выполнено на самцах крыс Вистар в возрасте 7 суток (n=30). Опытную группу (n=14) составило потомство самок, потреблявших вместо питьевой воды раствор *o,p*-ДДТ с концентрацией 20 мкг/л в течение всей беременности и периода молочного вскармливания. Потребление ДДТ самками в течение беременности составило $2,72 \pm 0,18$ мкг/кг, что соответствует уровню потребления данного вещества населением с продуктами питания с учетом различий в метаболизме ДДТ человека и крысы. Контрольную группу (n=16) составило потомство интактных самок. Животных выводили из эксперимента передозировкой хлороформного наркоза.

Определяли массу тела и массу селезенки с помощью аналитических весов («Сартогосм», Россия), а также рассчитывали относительную массу органа. Клетки селезенки выделяли путем гомогенизации селезенки в среде RPMI 1640 («ПанЭко», Россия) с продавливанием через сетки с отверстиями 40 мкм для отделения от стромы. Клеточную взвесь дважды центрифугировали и отмывали в той же среде в течение 5 мин при 1000 об/мин. Доводили до концентрации 10 млн клеток в 1 мл. Проводили цитофлуориметрическое исследование спленоцитов с использованием

антител к CD3, CD45R, конъюгированных с флуорохромами («eBioscience», США) для определения содержания Т- и В-лимфоцитов, соответственно. Для исследования использовали проточный цитометр FC500 (“Beckman Coulter”, Германия).

Для исследования пролиферативной активности спленоцитов использовали метод определения пролиферации *ex tempore* [5], позволяющий получать данные, наиболее приближенные к уровню пролиферации в организме, с использованием бромуридина и иммуноферментным определением включения метки с помощью набора реактивов (“Amersham”).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы «Statistica 7.0» («StatSoft», США). Центральные тенденции и рассеяние признаков, имеющих приближенно нормальное распределение, описывали средним значением и стандартной ошибкой среднего значения ($M \pm SEM$). Сравнение независимых групп проводили с помощью t-критерия Стьюдента с учетом значений критерия Левена о равенстве дисперсий и χ^2 . Статистически значимыми различия считались при $p < 0,01$.

Результаты. У крыс, развивавшихся при воздействии эндокринного дисраптора ДДТ, в препубертатном периоде селезенка имела типичное строение. Относительная и абсолютная масса селезенки не отличалась от контрольных значений.

Исследование пролиферативной активности показало, что темпы деления клеток у крыс, развивавшихся при воздействии низких доз ДДТ, статистически значимо превышали значения контрольной группы в 2,7 раза. Цитофлуориметрический анализ выявил меньшее на 30% содержание дифференцированных лимфоцитов. Содержание В-клеток в селезенке было меньше на 30%, а Т-клеток, являющихся иммигрантами из тимуса, – почти на 60%.

Выводы. Таким образом, у крыс, подвергавшихся воздействию низких доз ДДТ в пренатальном и постнатальном развитии, в препубертатном возрасте был нарушен баланс процессов пролиферации и дифференцировки в лимфоидной ткани, что обусловило меньшее содержание дифференцированных лимфоцитов в селезенке. Эти данные указывают на замедление функционального созревания селезенки как органа иммунной защиты.

Работа выполнена по гранту РФ № 23-25-00012.

Литература

1. Henneke, P. Perinatal development of innate immune topology / P. Henneke [et al.] // *Elife*. – 2021. – V. 10. – P. 67793.
2. Яглова, Н. В. Изменения тиреоидного статуса крыс при длительном воздействии низких доз дихлордифенилтрихлорэтана / Н. В. Яглова, В. В. Яглов // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2013. – Т. 156. – № 12. – С.720-722.

3. Mansouri, A. The environmental issues of DDT pollution and bioremediation: a multidisciplinary review / A. Mansouri [et al.] // *Appl. Biochem. Biotechnol.* – 2017. – V. 181. – P. 309–339.
4. Gerber, R. Bioaccumulation and human health risk assessment of DDT and other organochlorine pesticides in an apex aquatic predator from a premier conservation area / R. Gerber [et al.] // *Sci. Total Environ.* – 2016. – V. 550. – P. 522–533.
5. Рахмилевич, А. Л. Усиление чувствительности клеток селезенки мышей к интерлейкину-2 после внутривенного введения конканавалина А / А. Л. Рахмилевич, С. С. Обернихин // *Иммунология.* – 1990. – № 1. – С. 68-69.