

*Ланичева А.Х., Семченко В.В.*

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ПЕРЕСТРОЙКА ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ В СЕЛЕЗЕНКЕ У КРЫС В ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ВЫСОКОКИНЕТИЧЕСКОЙ МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ МЯГКИХ ТКАНЕЙ БЕДРА**

*Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия  
Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина,  
Омск, Россия*

*Установлено, что после высококинетической механической травмы мягких тканей бедра у крыс происходит увеличение объема лимфоидной ткани в пульпе селезенки, перераспределение локализации и содержания Т- и В-лимфоцитов, усложнение дифференно-гистионной организации лимфоидных фолликулов, которые отражают оптимизацию ответной реакции клеточного и гуморального звеньев иммунитета с целью стимуляции репаративных процессов в восстановительном периоде.*

*Ключевые слова: селезенка, лимфоидные фолликулы, Т- и В- лимфоциты, морфометрия, механическая травма мягких тканей бедра.*

*Lanicheva A.KH., Semchenko V.V.*

**STRUCTURAL AND FUNCTIONAL RECONSTRUCTION OF LYMPHOID TISSUE IN THE SPLEEN OF RATS DURING THE RECOVERY PERIOD AFTER HIGHLY KINETIC MECHANICAL INJURY OF SOFT TISSUES OF THE THIGH**

*Bashkir State Medical University, Ufa, Russia  
Omsk State Agrarian University, Omsk, Russia*

*It was found that after a highly kinetic mechanical injury to the soft tissues of the thigh in rats, an ambiguous reaction of the immune-competent zone of the spleen occurs, a redistribution of localization and content of T- and B-lymphocytes, a complication of the differential-histionic organization of lymphoid follicles, which reflect the optimization of the response of cellular and humoral links of immunity in order to stimulate reparative processes in the recovery period.*

*Keywords: spleen, lymphoid follicles, T- and B- lymphocytes, morphometry, mechanical injury of soft tissues of the thigh.*

Изменения иммунного статуса при повреждении тканей и органов играют большую роль в развитии посттравматической болезни и зависят от выраженности и характера ответной реакции и от вклада в этот процесс различных структурных компонентов иммунной системы, в том числе и периферических органов лимфоидного кроветворения [7, 8]. Среди последних важное место занимает селезенка, в которой происходит нейтрализация антигенов различного генеза [1-3].

Экспериментально доказана её высокая чувствительность к воздействию экстремальных факторов и способность быстро реагировать адаптивными изменениями [6, 7]. В этой связи, существенный интерес представляет изучение гистологических и иммуногистохимических изменений лимфоидной ткани селезёнки в восстановительном периоде после высококинетической механической травмы мягких тканей организма.

**Цель исследования.** Изучить изменения объема лимфоидной ткани, содержание и распределение Т- и В-лимфоцитов (дифферонно-гистионную организацию) в лимфоидной ткани селезенки в восстановительном периоде после высококинетической механической травмы мягких тканей бедра у беспородных половозрелых белых крыс .

**Материал и методы исследования.** Исследование выполнено на белых беспородных крысах массой 180-200 г (n=18), у которых с помощью специальной установки [4], в нашей модификации, вызывали высококинетическое механическое повреждение мягких тканей бедра правой задней конечности. Все манипуляции с животными выполнены под эфирным наркозом согласно приказу МЗ СССР «О гуманном обращении с экспериментальными животными» № 755 от 12 августа 1977 г., в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986), одобрено Локальным Этическим комитетом ФГБОУ ВО БГМУ МЗ РФ (протокол № 3 от 18.03.21). Животных содержали в одинаковых условиях вивария на стандартном сбалансированном рационе, при свободном доступе к воде и пище. Группы формировались с помощью случайной выборки: 1) группа I - контрольные животные (n=6); 2) группа II - животные с механической травмой (n=12). Гибели животных не наблюдалось. Убой животных производили под эфирным наркозом путем декапитации.

Для морфологического исследования брали кусочки селезенки в средней трети органа размером 0,5x0,5x1,5 см через 3и 14сут после травмы. Образцы

фиксируют в 10% нейтральном растворе формалина на фосфатном буфере фирмы ООО «Биовитрум» (Санкт-Петербург), заливали в парафин и готовили срезы толщиной 4-5 мкм по общепринятой методике, которые окрашивали гематоксилином и эозином [5]. Морфометрически оценивали площадь белой и красной пульпы, подсчитывали численную плотность первичных и вторичных лимфоидных фолликулов, площадь герминативного центра в фолликулах (на площадь поперечного среза органа) с использованием программы ImageJ. Иммуногистохимически выявляли Т-лимфоциты (CD3+) и В-лимфоциты (CD19+), согласно рекомендациям фирмы-производителя. Визуализацию результатов проводили с использованием системы детекции Ultra Vision ONE Detection System HRP Polymer. Инкубировали с хромогеном - DAV Plus Substrate System. Срезы докрашивали гематоксилином Майера и заключали в среду БиоМаунт. Для оценки качества реакции использовали стекла с позитивным контролем для каждого из антигенов (фирма Labvision, США). Микроскопирование осуществляли с помощью сканирующего микроскопа 3DHISTECH PANNORAMIC 250 Flash (3DHISTECH Ltd, Hungary) программой анализа изображений 3DHISTECH. Количество иммунопозитивных клеток подсчитывали на 100 мкм<sup>2</sup>

Статистическую обработку данных производили в пакете прикладных программ STATISTICA V.7.0 («StatSoft Inc», США). Вид распределения признаков в группах оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. Сравнение данных, подчиняющихся закону нормального распределения, проводили с помощью параметрических методов (t-критерий Стьюдента), либо с помощью непараметрического критерия. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Количественные данные представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее арифметическое,  $m$  – ошибка среднего арифметического.

**Результаты исследования и их обсуждение.** По данным морфометрического анализа, площадь белой пульпы селезенки уменьшается, в

сравнении с контролем, через 3 сути существенно увеличивается, по сравнению с показателями в контроле и через 3 суток, спустя 14 суток восстановительного периода (табл. 1).

Таблица 1

Площадь белой и красной пульпы селезенки у крыс  
 в восстановительном периоде ( $M \pm m$ )

Показатель (площадь)	Контроль	Восстановительный период	
		3 сут	14 сут
Белая пульпа, %	66,8±1,67	71,1±1,07*	84,6±0,38*□
Герминат. центр, %	0,41±0,006	0,3±0,005*	0,2±0,001
Красная пульпа, %	27,1±1,27	22,8±0,24*	11,4±0,25□

\*- статистически значимые различия по сравнению с контролем (при  $p < 0,05$ )

□- статистически значимые различия по сравнению с 3 сутками (при  $p < 0,05$ )

Количество первичных фолликулов в селезенке возрастает через 3 суток и снижается через 14 суток, тогда как количество вторичных фолликулов уменьшается через 3 суток и повышается через 14 суток (рис.1) восстановительного периода. Спустя 14 суток после травмы площадь белой пульпы увеличивается еще больше (табл. 1).

CD3+ иммунопозитивные клетки обнаруживаются во всех зонах белой пульпы – в периартериальной зоне, в герминативном центре, мантийной и маргинальной зоне (табл. 2).

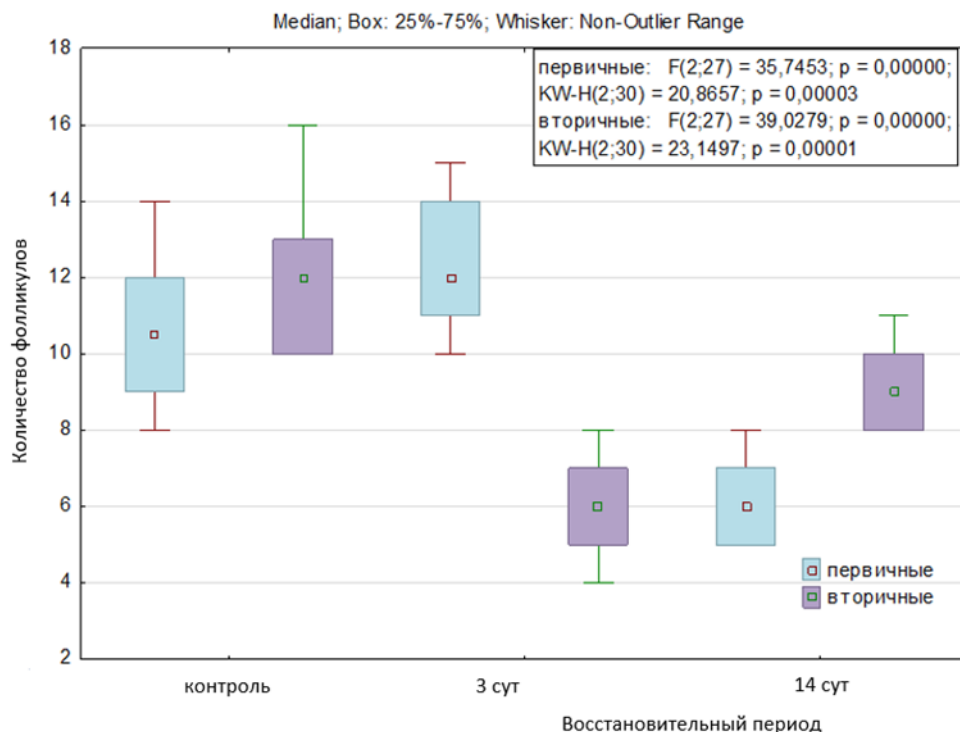


Рис. 1. Количество первичных и вторичных лимфоидных фолликулов в селезенке у крыс в восстановительном периоде.

Таблица 2

Количество CD3+, CD19+-иммунопозитивных клеток в различных зонах лимфоидных фолликулов селезенки у крыс в восстановительном периоде после механической травмы ( $M \pm m$ , на 100  $\mu\text{m}^2$ )

Зона в лимфоидном фолликуле	Тип лимфоцита	Контроль	Восстановительный период	
			3 сут	14 сут
Периартериальная лимфоидная зона	CD3+	19,2±0,64	18,24±0,88	21,29±0,98*□
	CD19+	0,26±0,15	1,8±0,32*	1,64±0,34*
Герминативный центр	CD3+	3,2±0,45	1,56±0,76	0,01*±0,001
	CD19+	0,01±0,001	2,37±1,14*	0,08±0,05*□
Мантимальная зона	CD3+	0,86±0,25	11,8±0,67	4,12*±0,2□
	CD19+	0,93±0,24	1,04±0,15	1,92±0,3*□
Маргинальная зона	CD3+	2,46±0,47	4,8*±0,48	3,2*±0,38□
	CD19+	2,3±0,18	0,91±0,21*	1,68±0,27*□

\* – статистически значимые различия по сравнению с контролем (при  $p < 0,05$ )

□ - статистически значимые различия по сравнению с 3 сут (при  $p < 0,05$ )

В периартериальной лимфоидной зоне фолликулов через 14 суток восстановительного периода происходит выраженное увеличение количества

CD3+-иммунопозитивных клеток. В герминативных центрах фолликулов содержание CD3+ клеток снижается, особенно через 14 суток после травмы. В мантийной и маргинальной зонах определяется увеличение числа CD3+ клеток через 14 суток восстановительного периода (табл.2).

CD19+-иммунопозитивные клетки локализуются преимущественно в маргинальной зоне лимфоидных фолликулов (табл. 2). Через 3 суток после травмы число CD19+-лимфоцитов увеличивается в периартериальной, мантийной зоне и герминативном центре лимфоидных фолликулов, в то время как в маргинальной зоне их содержание уменьшается. Через 14 суток восстановительного периода количество CD19+-иммунопозитивных клеток возрастает во всех зонах лимфоидных фолликулов, а в маргинальной зоне остается сниженным.

Обнаруженные иммуногистохимические изменения в селезенке происходят вследствие травматического повреждения мягких тканей бедра, в результате чего в кровотоки выбрасывается большое количество медиаторов, прежде всего цитокинов, которые вызывают системную воспалительную реакцию [3, 7]. В неё вовлекается и иммунная система, в том числе и периферические органы лимфоидного кроветворения, которые выполняют защитные функции. Дифференциально-гистионная реорганизация лимфоидной ткани, очевидно, осуществляется за счет пролиферации и дифференцировки прогениторных клеток, расположенных в самой ткани, и вследствие миграции в селезенку стволовых клеток из периферической крови.

**Заключение.** Таким образом, в селезенке белых крыс после высококинетической механической травмы мягких тканей бедра происходит увеличение относительной площади белой пульпы, появление в паренхиме органа новых фолликулов, уменьшение общего количества лимфоидных узелков с возрастанием доли вторичных фолликулов через 14 суток восстановительного периода по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы животных. Перераспределение Т- и В-лимфоцитов в различных зонах лимфоидных

фолликулов свидетельствует о реорганизации (усложнении) дифференно-гистионной композиции лимфоидной ткани, направленной на оптимизацию ответной реакции клеточного и гуморального звеньев иммунитета с целью стимуляции репаративных процессов в восстановительном периоде.

### Литература

1. Боков, Д. А., Шурыгина Е. И. Новый взгляд на роль селезенки в качестве биологического индикатора пессимальных экологических условий // *Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2014»*. – М.: МАКС Пресс, 2014. – URL: [lomonosov-msu.ru/archive.Lomonosov\\_2014/2479/2479](http://lomonosov-msu.ru/archive.Lomonosov_2014/2479/2479).
2. Бобрышева, И. В. Морфологическая реактивность селезенки крыс различных возрастных периодов при иммуностимуляции // *Журнал клинических и экспериментальных медицинских исследований*– 2013. – Т. 1, № 3. – С. 315–321.
3. Макалиш, Т. П. Морфофункциональные особенности селезенки при воздействии на организм факторов различного генеза // *Таврический медико-биологический вестник*. – 2013. – Т. 16. – № 1, ч.1 – С. 265–269.
4. Мурзабаев Х.Х., Кашапов И.Г.Способ дозированной кинетической энергии снаряда повреждаемым тканям // *Морфология*. – 2001. – Т. 120, №6. – С. 83-84.
5. Семченко В.В., Барашкова С.А., Ноздрин В.И., Артемьев В.Н. Гистологическая техника: учебное пособие. – 3-е изд., доп. И перераб.. – Омск-Орел, 2006. – 290 с.
6. Auerbach, A. *Diagnostic Pathology: Spleen* /Auerbach A. – Lippincott Wil-liams & Wilkins. – 2014. – 536 p.
7. Karasu E, Nilsson B, Köhl J, Lambris JD, Huber-Lang M. Targeting Complement Pathways in Polytrauma- and Sepsis-Induced Multiple-Organ Dysfunction. *Front Immunol*. 2019 Mar 21;10:543. doi: 10.3389/fimmu.2019.00543. Erratum in: *Front Immunol*. 2019 May 03;10:994. PMID: 30949180; PMCID: PMC6437067
8. Vásquez B, Sandoval C, Smith RL, del Sol M. Effects of early and late adverse experiences on morpho-quantitative characteristics of Sprague-Dawley rat spleen subjected to stress during adulthood. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015 Apr 1;8(4):3624-35. PMID: 26097544; PMCID: PMC4466931.].