

*Е.С. Самакина, О.Ю. Кострова, Н.Ю. Тимофеева,
Н.В. Бубнова, М.А. Прокопьева*

ИССЛЕДОВАНИЕ CD21⁺-КЛЕТОК СЕЛЕЗЕНКИ ЧЕРЕЗ 3 МЕСЯЦА ПОСЛЕ ИНЪЕКЦИИ ЭТИЛКАРБАМАТА

*ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет
им. И.Н. Ульянова», г. Чебоксары, Россия*

Одним из органов вторичной иммунной системы, участвующий в гуморальном иммунном ответе, в котором В-клетки распределены в определенных областях, является селезенка. В случае снижения в циркуляции В-клеток данный орган восполняет их количество. В этом органе вырабатываются антитела, которые являются важнейшим компонентом гуморального иммунного ответа. В ходе эксперимента было обнаружено, что однократное введение этилкарбамата привело к изменениям в селезенке. Через 3 месяца после инъекции этилкарбамата в селезенке наблюдали увеличение количества CD21⁺-клеток как в белой, так и в красной пульпе.

Ключевые слова: *этилкарбамат, белая пульпа селезенки, CD21⁺-клетки*

*E.S. Samakina, O.Yu. Kostrova, N. Yu. Timofeeva,
N.V. Bubnova, M.A. Prokopyeva*

EXAMINATION OF CD21⁺-CELLS OF THE SPLEEN 3 MONTHS AFTER INJECTION OF ETHYL CARBAMATE

One of the organs of the secondary immune system involved in the humoral immune response, in which B cells are distributed in certain areas, is the spleen. In case of a decrease in the circulation of B cells, this organ replenishes their number. Antibodies are produced in this organ, which are an essential component of the humoral immune response. During the experiment, it was found that a single administration of ethyl carbamate led to changes in the spleen. 3 months after the injection of ethyl carbamate in the spleen, an increase in the number of CD21⁺-cells was observed in both white and red pulp.

Keywords: *ethyl carbamate, white pulp of spleen, CD21⁺-cells*

Актуальность: Множество исследований указывают, что хроническое воспаление любого органа связано с повышенным риском неопластических процессов в организме человека. Легкие уязвимы для различных химических и биологических повреждений. Постоянное воздействие этих факторов может вызвать высвобождение воспалительных цитокинов из воспалительных клеток, что, приводит к хроническому воспалению и повышенному риску рака.

Известно, что этилкарбамат является химическим канцерогеном, введение которого вызывает у экспериментальных животных развитие доброкачественных и злокачественных опухолей, чаще всего новообразований легких [5]. После инъекции этилкарбамата формируется аденокарцинома легких на поздних сроках [1,3,5].

Исследования указывают, что различные заболевания легких приводят к активации иммунной системы, в том числе и клеток селезенки [2]. Кроме этого, данный орган, как часть ретикулоэндотелиальной системы, вовлечен в ответ на появление опухолевых клеток. Недавние исследования показали, что В-лимфоциты, на поверхности которых находится белок к CD21, обнаруживается и в селезенке [5]. CD21 связывается с продуктами расщепления комплемента C3. Так же CD21 способствует интернализации иммунных комплексов В-клетками для усиления презентации антигена, кроме этого, улавливает иммунные комплексы на поверхности фолликулярных дендритных клеток и отображает их активированным В-клеткам в центр размножения. Их уменьшение может привести к снижению продукции и уровня антител.

В-клетки преимущественно локализованы в маргинальной зоне селезенки, большая часть которых поступает из общего кровотока, находясь в предактивном состоянии, и обладают они большей предрасположенностью к дифференцировке в плазматические клетки. В строме маргинальной зоны В-клетки расположены в тесном контакте с макрофагами, дендритными клетками, гранулоцитами, которые совместно производят захват и элиминацию патогенов из кровеносного русла.

Цель исследования – оценить процентное содержание CD21⁺-клеток в структуре селезенки через 3 месяца после инъекции этилкарбамата.

Материалы и методы исследования: работа выполнена на 20 крысах-самцах линии Wistar с исходной массой 100-150 г. Животные получены от филиала «Андреевка» ФГБОУ ВО НЦБМТ России. Возраст животных на начало эксперимента составлял 2 месяца. На протяжении всего эксперимента крысы содержались в стандартных условиях вивария ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова». Крысы были разделены на 2 группы: I-я контрольная группа – интактная группа без поступления веществ (n=10); II-я опытная группа – крысы-самцы, которым вводили однократно внутрибрюшинно этилкарбамат в дозе 1 г/кг массы тела, предварительно разведенный в 1 мл 0,9% физиологического раствора по модели Л.М. Шабад (1967 г.) (n=10). Выводили животных из эксперимента через 3 месяца после инъекции этилкарбамата. Объектом исследования была селезенка тех крыс (n = 10), у которых при микроскопическом исследовании обнаружили изменения в легких. Для иммуногистохимического исследования использовали моноклональное антитело к CD21 клон 2G9 (Leico, Великобритания). Исследование выполняли в соответствии со стандартными протоколами. Окрашивали ручным способом с использованием систем визуализации Leica ChromoPlex™ 1 Dual Detectionfor BOND.

Компьютерную морфометрию проводили с помощью программы «Микро-анализ». Иммуногистохимическую реакцию оценивали с помощью автоматического выделения окрашенного DAB. Подсчет площади проводился в процентном соотношении к площади снимка. Измерения проводились не менее чем в 10 полях зрения. Статистическую обработку

осуществляли с помощью электронных таблиц Microsoft Office Excel 2016, достоверность определяли по U-критерию Манна-Уитни. Сравнение полученных данных проводили с контрольной группой крыс соответствующей возрасту опытной группы.

Результаты: количество CD21⁺-клеток через 3 месяца после инъекции этилкарбамата увеличено в красной пульпе селезенки до 13,46±0,49% ($p_{m-u} < 0,00352$), что на 19% выше контрольной группы крыс-самцов соответствующего возраста. Данные клетки рассеяны по всей КП и образуют местами многослойные скопления вокруг венозных синусов.

Среднее процентное содержание CD21⁺-клеток в лимфоидных узелках достоверно увеличено в 1,5 раза до 12,74±1,12% ($p_{m-u} < 0,05$). При этом в лимфоидных узелках без герминативного центра количество данных клеток повышено с 7,37±0,71% до 13,13±1,49% ($p_{m-u} < 0,0285$), а в лимфоидных узелках с герминативным центром с 9,7±0,59% до 11,38±0,3% ($p_{m-u} < 0,05$), что выше на 78,2% и на 17,3% соответственно по сравнению с контрольной группой животных соответствующего возраста. Через 3 месяца после инъекции этилкарбамата основную массу CD21⁺-клеток визуализировали в герминативном центре и в маргинальной зоне лимфоидного узелка.

В периартериальной лимфоидной муфте исследуемые клетки незначительно снижены с 13,41±0,89% до 10,07±0,87% ($p_{m-u} < 0,0411$). CD21⁺-клетки в данной структуре локализованы близко друг к другу образуя слои вокруг центральной артерии селезенки. Большая часть клеток расположена на границе с красной пульпой.

Таблица
Процентное содержание CD21⁺-клеток в селезенке

Структуры селезенки	Контрольная группа	Опытная группа
Красная пульпа	11,33±0,42%	13,46±0,49%**
Периартериальная лимфоидная муфта	13,41±0,89%	10,07±0,87%**
Лимфоидный узелок без герминативного центра	7,37±0,71%	13,13±1,49%*
Лимфоидный узелок с герминативным центром	9,7±0,59%	11,38±0,3%*

Примечание: * $p_{m-u} < 0,05$ – по сравнению с контрольной группой соответствующего возраста; ** $p_{m-u} < 0,001$ – по сравнению с контрольной группой соответствующего возраста

Выводы: через 3 месяца после однократного внутрибрюшинного введения этилкарбамата выявили увеличение CD21⁺-клеток во всех структурах селезенки. Повышение данных клеток в лимфоидных узелках с герминативным центром указывает на активное формирования центра размножения и повышенную продукцию антител. Снижение CD21⁺-клеток

в периаартериальной лимфоидной муфте может демонстрировать появление начальных признаков истощения В-лимфоцитов или нарушение их функции. Вероятно, это может непосредственно указывать на выраженную презентацию антигена и гиперстимуляцию гуморального иммунного ответа с последующим его дефицитом.

Литература

1. Бубнова, Н. В. Реакция CD68-положительных клеток тимуса у крыс при введении селена и канцерогена / Н. В. Бубнова // Биомедицина. – 2023. – Т. 19, № 2. – С. 54-60.
2. Сомова Л. М. и др. Воспаление, индуцированное разными плазмидными типами российских штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* // Инфекция и иммунитет. – 2019. – Т. 9. – №. 2. – С. 369-374.
3. Jan Treda C. et al. Secretory leukocyte protease inhibitor modulates urethane-induced lung carcinogenesis //Carcinogenesis. – 2014. – Vol. 35. – no. 4. – pp. 896-904.
4. Munn L. L. Cancer and inflammation // Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine. – 2017. – Vol. 9. – no. 2. – pp. 1370.
5. Oleinika K., Mauri C., Blair P. A. B Cell Activation and B Cell Tolerance // The Autoimmune Diseases. – Academic Press, 2020. – pp. 171-187.