

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЕЛЕЗЕНКИ БАЙКАЛЬСКОЙ НЕРПЫ РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА

Ламажапова Г.П.<sup>1</sup>, Жамсаранова С.Д.<sup>1</sup>, Григоренко Д.Е.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления», Улан-Удэ, Россия (670013, Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40в), e-mail: lamazhap@mail.ru;

<sup>2</sup>ФГБУ «НИИ морфологии человека» РАМН, Москва, Россия (117418, Москва, ул. Цюрупы, 3), e-mail: dinagrigorenko@yahoo.com

---

Изучены гистоморфологические особенности структурной организации селезенки байкальской нерпы. Исследования морфологии и микро топографии селезенки байкальской нерпы показали, что орган имеет типичную для млекопитающих структурную организацию. Установлены особенности развития органа в постнатальном онтогенезе. В селезенке молодых животных выявлено большее, чем у новорожденных, число лимфоидных узелков с центрами размножения, а также более высокое содержание плазматических клеток. У половозрелых животных, по сравнению с молодыми, четко выявляются признаки возрастной инволюции лимфоидной ткани и органа в целом: резко увеличивается содержание соединительной ткани в селезенке и склерозируются сосуды. К половозрелому возрасту, по сравнению с молодыми, отмечается тенденция в увеличении содержания зрелых форм лимфоцитов в белой пульпе. В то же время у молодых и половозрелых животных практически не изменяется интенсивность процессов деструкции клеток, но несколько снижается макрофагальная активность клеток в центрах размножения и в мантии узелков. Особенности цитоархитектоники селезенки, связанные с компенсаторным усилением и преобладающей функцией гуморального иммунитета у байкальской нерпы, по-видимому, объясняются условиями обитания животных.

---

Ключевые слова: байкальская нерпа, селезенка, иммунная система, онтогенез

## MORPHOLOGICAL FEATURES OF BAIKAL SEAL SPLEEN IN DIFFERENT AGES

Lamazhapova G.P.<sup>1</sup>, Zhamsaranova S.D.<sup>1</sup>, Grigorenko D.E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>East Siberian State University of Technology and Management, Ulan-Ude, Russia (670013, Ulan-Ude, street Klyuchevskaya, 40v), e-mail: lamazhap@mail.ru;

<sup>2</sup>Research Institute of Human Morphology of the Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia (117418, Moscow, street Tsyurupy, 3), e-mail: dinagrigorenko@yahoo.com

---

The histomorphological features of the structural organization of the spleen of Baikal seal were studied. Investigation of morphology and micro-topography of Baikal seal spleen showed that the spleen has a typical mammalian structural organization. The features of organ development in the postnatal development were established. There number of lymphoid nodules with the centers of reproduction. In adult animals, compared to young, clearly revealed signs of age involution of lymphoid tissue and organ in general: content of connective tissue sharply increases and vessels scleroses. There is a tendency to increase in the content of the mature forms of lymphocytes in the white pulp of spleen by puberty compared with the young animals. At the same time in the spleens of young and mature animals intensity of cell destruction is constant, but the activity of macrophage cells in breeding centers and in nodules mantles is slightly reduced. Features of cytoarchitectonic of spleen, associated with compensatory gain and with predominant function of humoral immunity in Baikal seal, apparently explain the terms of wildlife habitat.

---

Keywords: Baikal seal, spleen, immune system, ontogenesis

### Введение

Уникальность экологической системы озера Байкал несомненна и признана мировым и российским обществом. Биосообщество озера эволюционировало многие миллионы лет в уникальных условиях исключительно чистой воды. Одной из особенностей пресноводной экосистемы Байкала является наличие в ней единственного млекопитающего - эндемичного байкальского тюленя - нерпы (*Pusa sibirica Gmel.*). В последние годы биология байкальской нерпы очень хорошо изучена, в особенности благодаря работам В.Д. Пастухова [3] и его

учеников [4]. В то же время иммунный статус уникального животного остается практически не изученным. По-прежнему отсутствует четкая картина по морфологии и цитоархитектонике органов иммунной системы. Имеющиеся в литературе данные отрывочны и недостаточны для решения проблем охраны здоровья, сохранения и рационального использования данного вида тюленей.

Целью работы было изучение морфологии селезенки байкальской нерпы в онтогенезе.

### **Материал и методы исследования**

Отбор материала производился от особей байкальской нерпы в период с 2000 по 2009 гг. Отлов животных производился 2 раза в год (весенний и осенний периоды) в районе Среднего Байкала. При исследовании материала учитывалась принадлежность особей байкальской нерпы к той или иной возрастной группе. Возрастные группы выделяли согласно возрастной периодизации байкальской нерпы, предложенной Е.А. Петровым [4]. Определение возраста животных проводили по роговым валикам на когтях по методу, предложенному Чапским К.К. [6] и по годовым слоям в тканях зубов [2].

Для исследований использовали органы только от тех особей байкальской нерпы, которые не имели внешних признаков заболеваний и патологических изменений внутренних органов. Кусочки селезенки (объемом 1-2 см<sup>3</sup>) фиксировали в 10%-ном водном растворе нейтрального формалина и, после стандартной спиртовой проводки, заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 5-6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону. Подсчет клеток проводили на срезах, окрашенных азур-II-эозином.

Изучение микрофотографии селезенки проводили при помощи бинокулярной лупы МБИ-1 (увеличение: ок. x12.5; об. x4.0) методом точечного счета [1] в модификации С.Б. Стефанова [5], позволяющим в относительных величинах определить площади, занимаемые структурными компонентами органа (в % от общей площади среза). Для измерения применяли стандартную сетку с шагом 1 мм.

При изучении цитоконструкции структурно-функциональных компонентов селезенки животного подсчет клеток проводили при помощи микроскопов Биолам при увеличении объектива – x90 под масляной иммерсией по методу С.Б. Стефанова с использованием 25-узловой морфометрической сетки с шагом 10 мкм, вмонтированной в окуляр (x10) микроскопа, на условной единице площади гистологического среза (880 мкм<sup>2</sup>). Полученный цифровой материал подвергали компьютерной статистической обработке по программе Statistika 6.0 и Excel.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

*Микрофотография селезенки новорожденных особей.*

У новорожденных нерп (особи в возрасте до 1 месяца) селезенка покрыта плотной, толстой капсулой, состоящей из коллагеновых и эластических волокон, между которыми расположены фибробласты. При малом увеличении на гистологических срезах органа четко видна ячеистая структура селезенки, образованная переплетением трабекул, состоящих из тонких, плотно расположенных волокон соединительной ткани. На гистологических срезах селезенки, проходивших через более широкие трабекулы, видны сосуды различного диаметра. Пространство между трабекулами заполнено красной и белой пульпой. Визуально в органе значительно преобладает содержание красной пульпы. Белая пульпа представлена многочисленными плотными скоплениями лимфоидной ткани, представляющими собой лимфоидные узелки без центров размножения. Плотность распределения клеток лимфоидного ряда в лимфоидных узелках без центров размножения в селезенке новорожденных нерп составила 75.0 клеток (Рис. 1) на стандартной площади гистологического среза (880 мкм<sup>2</sup>).

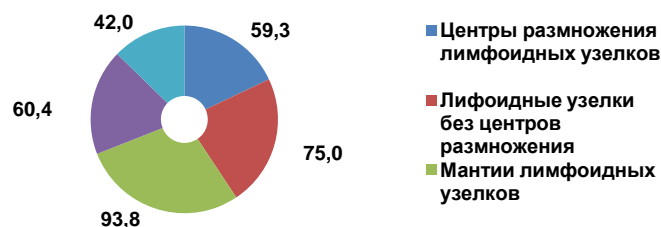


Рис. 1. Распределение плотности клеток на единице площади среза (880 мкм<sup>2</sup>) в структурных зонах селезенки новорожденных нерп (количество клеток)

На гистологических срезах селезенки встречаются единичные лимфоидные узелки со слабо выраженными центрами размножения (2-3 узелка в поле зрения). Эти лимфоидные узелки четко дифференцируются по плотной структуре мантийной зоны, окружающей рыхлые, небольших размеров центры размножения. Плотность расположения клеток в мантии лимфоидных узелков в среднем на 32.3 клетки больше, чем в их центрах размножения (Рис. 1). У нерп этого возраста мантия в лимфоидных узелках селезенки имеет неравномерную ширину, вследствие чего частота распределения клеток в ней колеблется от 93.8 до 111.8 клеток.

Артериальные сосуды, вокруг которых концентрируются лимфоидные узелки, как правило, расположены ассиметрично. Стенки артериальных сосудов у новорожденных нерп плотные, с четко выраженным эндотелием. Многие сосуды наполнены кровью (в просвете содержат эритроциты).

Периартериальные лимфоидные муфты (ПАЛМ) селезенки у новорожденных нерп слабо дифференцируются и выявляются вокруг просветов нескольких артериальных сосудов, расположенных в виде цепочек, или вокруг отдельных мелких артерий, которые образуют тонкие скопления лимфоцитов (муфты) в несколько рядов клеток (3-5 клеток). В ПАЛМ частота встречаемости клеток практически совпадает с плотностью распределения клеток в центрах размножения лимфоидных узелков, составляя в среднем 60.4 клеток, и варьирует в пределах от 46.4 до 73 клеток.

В красной пульпе селезенки нерп данной возрастной группы четко видны тяжи Бильрота и просветленные синусоиды (венозные синусы). Красная пульпа представляет собой диффузное скопление клеток крови (эритроцитов, мегакариоцитов, нейтрофилов), а также клеток лимфоидного ряда, в основном, лимфоцитов (малых и средних лимфоцитов). В этой зоне органа отмечается минимальная плотность распределения клеток, по сравнению с другими структурными зонами селезенки (Рис. 1), которая в 1.8 раза меньше, чем в лимфоидных узелках без центров размножения и на 18.4 клетки меньше, чем в ПАЛМ. Помимо лимфоидных клеток в красной пульпе велико содержание стромальных и ретикулярных клеток (21.4%), макрофагов (4.36%) и деструктивно измененных и разрушенных клеток (16.02%). В тяжах Бильрота преобладает содержание лимфоцитов и плазматических клеток.

#### *Морфология селезенки молодых байкальских нерп.*

У молодых байкальских нерп (в возрасте до 4-х лет) селезенка покрыта толстой рыхлой капсулой, от которой вглубь органа отходят трабекулы различной протяженности и толщины, а также выявлено множество фрагментов широких пучков соединительной ткани. В селезенке молодых нерп, в отличие от новорожденных, белая пульпа представлена, преимущественно, многочисленными лимфоидными узелками с центрами размножения и единичными узелками (3-4 узелка в поле зрения) без центров размножения.

Мантии лимфоидных узелков неравномерной ширины (узкие - в 5-7 клеток и широкие мантии), часто мантийные зоны диффузно переходят в красную пульпу. Как правило, лимфоидные узелки окружены тонкими соединительнотканными волокнами, образующими своеобразную «корзинку» вокруг узелков.

Во всех лимфоидных узелках между клетками располагаются тонкие пучки соединительной ткани. В центрах размножения лимфоидных узелков молодых животных присутствуют не только молодые, но и клетки в состоянии митоза, плазматические клетки, макрофаги, а также деструктивно измененные.

Немногочисленные лимфоидные узелки без центров размножения в селезенке молодых нерп, как правило, мелкие, иногда диффузные с различной плотностью

распределения клеток, которая варьирует в широких пределах - от 47.2 до 93.8 клеток на стандартной площади среза. Причем, средняя плотность распределения клеток в этих лимфоидных узелках достоверно больше (на 15 клеток), чем в мантии (Рис. 2). Артериальные сосуды, вокруг которых образованы лимфоидные узелки, имеют плотные стенки с четким эндотелием. В просвете сосудов видны клетки (лимфоциты, эритроциты). Многие крупные сосуды, особенно расположенные в трабекулах, полнокровны.

Плотность распределения клеток в мантии узелков составляет 51.1 клетку на единицу площади гистологического среза (Рис. 2). Вследствие неравномерной толщины мантийной зоны частота распределения клеток в ней варьирует в пределах от 38.8 до 60.6 клеток. В центрах размножения лимфоидных узелков средняя плотность клеток на 11.4 клетки меньше, чем в мантии. В этих участках отмечается гнездное (группами) или рыхлое распределение клеток часто с широкими межклеточными промежутками, в связи с чем, плотность клеток в них колеблется от 29.8 до 53.4 клеток на стандартной площади среза.



Рис. 2. Плотность распределения клеток (количество клеток) на единице площади среза ( $880 \text{ мкм}^2$ ) в структурных зонах селезенки молодых нерп

У молодых, как и у новорожденных нерп, периартериальные лимфоидные муфты (ПАЛМ) в селезенке слабо дифференцированы, они выявляются вокруг мелких артериальных сосудов или их групп. В первом случае ПАЛМ узкие, состоят из 4-6 рядов клеток, тогда как в местах скопления сосудов - ПАЛМ широкие, плотные. В связи с этим у разных животных и в разных участках органа частота распределения клеток в ПАЛМ, по сравнению с другими лимфоидными образованиями селезенки, колеблется в максимальных пределах и составляет разрыв до 40 клеток: от 37 до 77.

В этом возрастном периоде в селезенке нерп белая пульпа по площади превосходит площадь красной пульпы. В красной пульпе, как и у новорожденных, дифференцируются тяжи Бильрота и венозные синусы. Среди клеток лимфоидного ряда встречаются скопления плазмоцитов, а также деструктивно измененные клетки.

Частота распределения клеток в красной пульпе минимальная и составляет 33 клетки на единицу площади гистологического среза (Рис. 2). Вследствие неравномерности распределения клеток в красной пульпе (скоплений и диффузно расположенных клеток), их плотность колеблется в диапазоне от 20.2 до 50.6 клеток (до 30 клеток).

Во всех лимфоидных образованиях селезенки молодых нерп, в отличие от новорожденных, резко увеличивается содержание деструктивно измененных клеток и почти вдвое больше обнаруживается макрофагов. Четко выявлено перераспределение в кооперации лимфоидных клеток. В органе у молодых животных увеличивается содержание пролиферирующих клеток при одновременном уменьшении числа малых и средних лимфоцитов.

Появление у нерп в селезенке в молодом возрасте большого числа лимфоидных узелков с центрами размножения связано с созреванием лимфоидной ткани, усилением ее функциональной активности. Подтверждением этого является активизация лимфоцитопоеза (увеличивается число молодых форм лимфоцитов). Появление большого количества плазматических клеток, особенно зрелых (антителопродуцирующих) форм, указывает на резкое усиление гуморального иммунитета, связанное с переходом питания нерпы с материнского молока в новорожденном периоде (до 1 месяца) на рыбу (после 1 месяца) и, соответственно, сменой условий обитания животных. При этом слабая морфологическая выраженность зон накопления Т-клеток в ПАЛМ объясняется, по-видимому, компенсаторным усилением и преобладающей функцией гуморального иммунитета у этих животных

*Микротопография селезенки половозрелых особей байкальской нерпы.*

Отличительной чертой микротопографии селезенки половозрелых нерп является наличие на срезах органа толстых, коротких и рыхлых трабекул и их фрагментов. Соединительнотканые волокна прорастают во все лимфоидные структуры, а также образуют вокруг них сеть из тонких волокон соединительной ткани. Просветы артериальных сосудов в лимфоидных узелках органа чаще всего опустошены, стенки сосудов утолщены, у некоторых особей склерозированы. Эндотелий уплощенный, ядра темные, плотные. Нередко встречаются крупные сосуды, заполненные кровью. В селезенке половозрелых животных выявлены лимфоидные узелки разного диаметра с центрами размножения и без них. Встречаются узелки с рыхлым распределением клеток в центрах размножения, широкими межклеточными промежутками, а также с клетками, расположенными группами. Иногда широкие центры размножения лимфоидных узелков имеют более плотное распределение клеток, чем окружающая их мантийная зона. Центры размножения лимфоидных узелков чаще всего окружены мантийной зоной, имеющей неравномерную ширину.

В мантии узелков в сравнении с другими лимфоидными структурами органа отмечается максимальная плотность клеток - 64.85 клетки на стандартной площади среза (Рис. 3). В связи с их неравномерным распределением в центрах размножения лимфоидных

узелков частота распределения клеток здесь всего на 10 клеток меньше, чем в мантии (54.4 клетки на стандартной площади среза).



Рис. 3. Плотность распределения клеток (количество клеток) на единице площади среза (880 мкм<sup>2</sup>) в структурных зонах селезенки взрослых нерп

Лимфоидные узелки без центра размножения, присутствующие в селезенке нерп, как правило, небольших размеров, округлой или овальной формы, иногда без четких границ, с рыхлым расположением клеток. Плотность распределения клеток в этих узелках составляет 57.6 клетки на единице площади гистологического среза органа и практически совпадает с таковой в центрах размножения лимфоидных узелков и только на 7.3 клетки меньше, чем в мантии узелков. По сравнению с предыдущими возрастными группами, у половозрелых нерп плотность распределения клеток в лимфоидных узелках последовательно снижается с возрастом: на 18.3 клетки, меньше, чем у новорожденных и на 8.4 клетки меньше, чем у молодых животных.

У половозрелых нерп на гистологических срезах селезенки выявляются различной ширины и протяженности периартериальные лимфоидные муфты (ПАЛМ), среди которых встречаются широкие и плотные образования, а также такие, которые состоят всего из нескольких рядов клеток. Однако часто артериальные сосуды не бывают окружены лимфоцитами.

Плотность распределения клеток в ПАЛМ варьирует в широких пределах: от 42 до 70 клеток на стандартной площади среза. При этом средняя частота их распределения здесь практически та же, что в центрах размножения узелков и в лимфоидных узелках без центров размножения (54-57 клеток, различия не достоверны). ПАЛМ, как и лимфоидные узелки органа, окружены и пронизаны тонкой сетью волокон соединительной ткани.

Красная пульпа в селезенке половозрелых нерп значительно преобладает, по сравнению с белой пульпой. Для красной пульпы характерно диффузное распределение клеток, в связи с чем, плотность клеток здесь наименьшая среди лимфоидных образований и составляет всего 32.9 клетки на стандартной площади среза. В красной пульпе просматриваются расширенные венозные синусы (синусоиды) и тяжи Бильбота. По сравнению с другими зонами органа, в выносящей системе синусов отмечено максимальное накопление деструктивно измененных и разрушенных клеток (21%) и макрофагов (8.39%). В

красной пульпе отмечаются участки скоплений плазматических клеток и лимфоцитов (в тяжах Бильрота).

### **Выводы**

1. Структура селезенки байкальской нерпы соответствует общим закономерностям строения аналогичных органов человека и других млекопитающих.
2. Характерной чертой микроскопического строения исследуемого органа является обильное разрастание соединительной ткани в виде мощных трабекул. В селезенке нерпы слабо развиты периартериальные лимфоидные муфты; количество лимфоидных узелков в органе небольшое, но они большие с крупными центрами размножения.
3. С возрастом изменения, происходящие в строении селезенки байкальской нерпы, отвечают общим для всех млекопитающих закономерностям онтогенетического развития органов иммунной системы. С увеличением возраста происходит разрастание соединительной ткани, сопровождающееся склерозированием кровеносных сосудов, наблюдается превалирование функции гуморального иммунитета с одновременным снижением клеточного иммунитета.

### **Список литературы**

1. Глаголев А.А. Геометрические методы количественного анализа агрегатов под микроскопом. – Львов: Госгеолитиздат, 1941. – 82 с.
2. Клевезаль Г.А., Клейненберг С.Е. Определение возраста млекопитающих (по слоистым структурам зубов и кости). – М.: Наука, 1967. – 172 с.
3. Пастухов В.Д. Нерпа Байкала. – Новосибирск: Наука, 1993. - 271 с.
4. Петров Е.А. Байкальская нерпа: эколого-эволюционные аспекты: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. - Улан-Удэ: Бурят. гос. ун-т., 2003. - 38 с.
5. Стефанов С.Б. Морфометрическая сетка случайного шага как средство ускоренного измерения элементов морфогенеза // Цитология. - 1974. - Т.14. - Вып.6. - С. 785-787.
6. Чапский К.К. Морские звери Советской Арктики. – Л.-М.: Главсевморпути. – 1941. – 187 с.

### **Рецензенты:**

Хибхенов Л.В., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой анатомии, гистологии и патоморфологии, ФГБОУ ВПО «Бурятская государственная сельскохозяйственная академия им. В.Р. Филиппова», г.Улан-Удэ.

Хобракова В.Б., д.б.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной фармакологии, ФГБУ науки «Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН», г.Улан-Удэ.