

УДК 617-001.28-089:616.419-089.843-036.8

М. М. НЕЗДАТНЫЙ, К. К. ЗАЙЦЕВА

**МОРФОГЕНЕЗ РАННИХ ЭТАПОВ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ГЕМОПОЭЗА
В СЕЛЕЗЕНКЕ ОБЛУЧЕННЫХ МЫШЕЙ ПОСЛЕ
ТРАНСПЛАНТАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА**

(Представлено академиком Е. М. Крепсом 17 VII 1975)

Морфогенез ранних этапов восстановления гемопоэза в селезенке облученных мышей после трансплантации им клеток костного мозга изучен недостаточно. После пересадки кроветворной ткани лишь в единичных работах на четвертые сутки идентифицировалась принадлежность микроколоний (м.к.) к тому или иному ростку кроветворения (¹, ²). Морфологически более ранние стадии не изучались.

Задача настоящей работы заключалась в изучении ранних стадий образования экзогенных гемопоэтических колоний. Для этого проводили количественный морфологический анализ клеточного состава красной пульпы селезенки облученных реципиентов и подсчет числа колониеобразующих единиц (к.о.е.) в селезенке.

Опыты поставлены на 144 мышах-самцах линии BALB/с. Общее однократное облучение мышей проводили гамма-лучами на кобальтовой (⁶⁰Co) установке в дозе 750 р, при мощности дозы ~80 р/мин. Сингенный костный мозг вводили внутривенно через 24 часа после облучения в количестве 10⁵ ядросодержащих клеток на 1 мышь. Мышей декапитировали через 2 часа, 1, 2, 3, 4, 5 и 6 суток после миелотрансплантации. Клеточный состав красной пульпы селезенки, фиксированной в жидкости Орта, изучали на тотальных серийных гистологических срезах селезенки, окрашенных гематоксилином и эозином, азури II-эозином. Подсчет количества клеток и м.к. производили в 1,5 мм² красной пульпы, что составляло 20 полей зрения микроскопа при увеличении 400×. На каждый срок морфологического исследования приходилось не менее трех мышей. Цифровые данные обработаны статистически (³) с использованием непараметрического критерия U (Вилькоксона — Манна — Уитни) для двух независимых малых выборок. В параллельных с морфологическим исследованием опытах в те же сроки определялось количество к.о.е. в клеточной взвеси селезенки реципиентов костного мозга, также получивших через 24 часа после облучения 10⁵ клеток сингенного костного мозга. Подсчет числа к.о.е. производился методом экзогенных колоний (⁴).

Результаты исследования показали, что в первые три дня после миелотрансплантации в красной пульпе селезенки происходит системная активация ретикулярных клеток (р.к.), число которых достигает максимума на третьи сутки (рис. 1А). Морфологически этот процесс выражается в том, что наряду с типичными покоящимися р.к. в красной пульпе появляется большое количество активированных ретикулярных клеток (а.р.к.). Эти клетки (рис. 2а) отличаются от покоящихся р.к. большими размерами, четкими границами, базофильной цитоплазмой нередко с еще сохраняющимися короткими отростками, крупным, чаще круглым, интенсивно окрашенным ядром.

У облученных мышей без пересадки костного мозга также наблюдается системная активация р.к. Однако в отличие от реципиентов эта реакция

более быстрая и кратковременная и максимальное увеличение количества а.р.к. наступает уже через сутки (рис. 1А).

Начиная со вторых суток,ряду с а.р.к., в красной пульпе селезенки реципиентов появляются немногочисленные недифференцированные бластные клетки (п.б.к.), рис. 1Б, 2б, которые чаще располагаются вблизи трабекул. Эти клетки имеют довольно крупные размеры (~8,7 мкм) и четкие границы. Круглое ядро с нежным хроматином, обычно сконцентрированным в виде узкой полосы вдоль ядерной оболочки, занимает большую часть клетки. В ядре четко контурируются одно или два ядрышка. Цитоплазма клеток базофильна, перинуклеарная зона просветления отсутствует

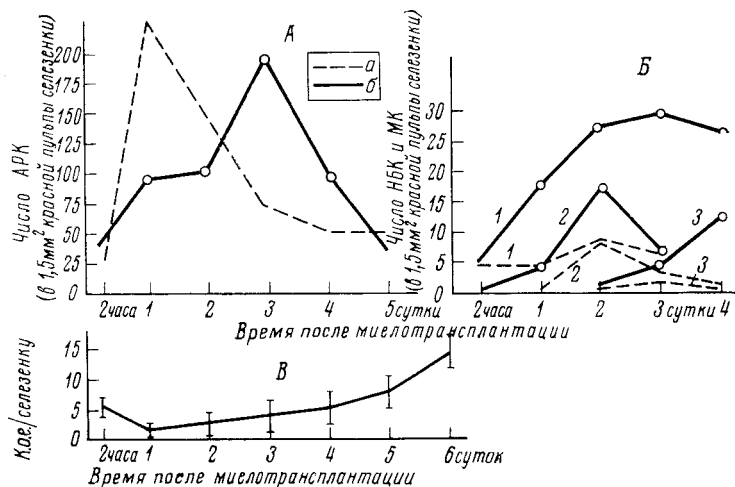


Рис. 1. Количественная характеристика активации ретикулярных клеток (А), гемопоэтической дифференциации (Б) и восстановления числа к.о.е. (В) в селезенке летально облученных мышей BALB/c после трансплантации 10^5 сингенных миелокардиоцитов. 1 — недифференцированные бластные клетки, 2 — микроскопические колонии из н.б.к., 3 — микроскопические колонии из гематологически дифференцированных клеток. а — облучение, б — облучение и костный мозг. Белые кружки указывают на статистическую достоверность различий средних показателей

или слабо выражена, что отличает их от плазмобластов. К третьим суткам после пересадки костного мозга количество н.б.к. значительно увеличивается, они группируются друг с другом и формируют микроколонии, состоящие из 5–6, а иногда 20–25 клеток (рис. 1Б, 2в). Эти колонии чаще располагаются около трабекул и под капсулой. Их образующие клетки иногда расположены рыхло, иногда плотно прилегают друг к другу. В этот период времени фигуры митоза в н.б.к. не встречаются.

У облученных мышей без пересадки костного мозга единичные н.б.к. появляются в те же сроки, как и у мышей реципиентов. Однако их количество к третьим суткам не увеличивается и не наблюдается образования м.к.

К четвертым суткам у реципиентов костного мозга количество диффузно рассеянных н.б.к. и м.к., состоящих из н.б.к., значительно возрастает, количество же а.р.к. заметно снижается (рис. 1Б). В красной пульпе, чаще около трабекул, появляются единичные мелкие очаги, содержащие не только н.б.к., но и базофильные эритробласты (рис. 2г). Иногда м.к. почти целиком состоят из эритробластов различной степени зрелости и содержат единичные клетки с фигурами митоза.

У облученных мышей в этот же срок также возникают единичные м.к. из эритроидных элементов, однако количество н.б.к. и м.к. из н.б.к. увеличивается не так резко, как у мышей реципиентов.

На пятые–шестые сутки после пересадки костного мозга количество м.к., состоящих из гематологически дифференцированных клеток (г.д.к.),

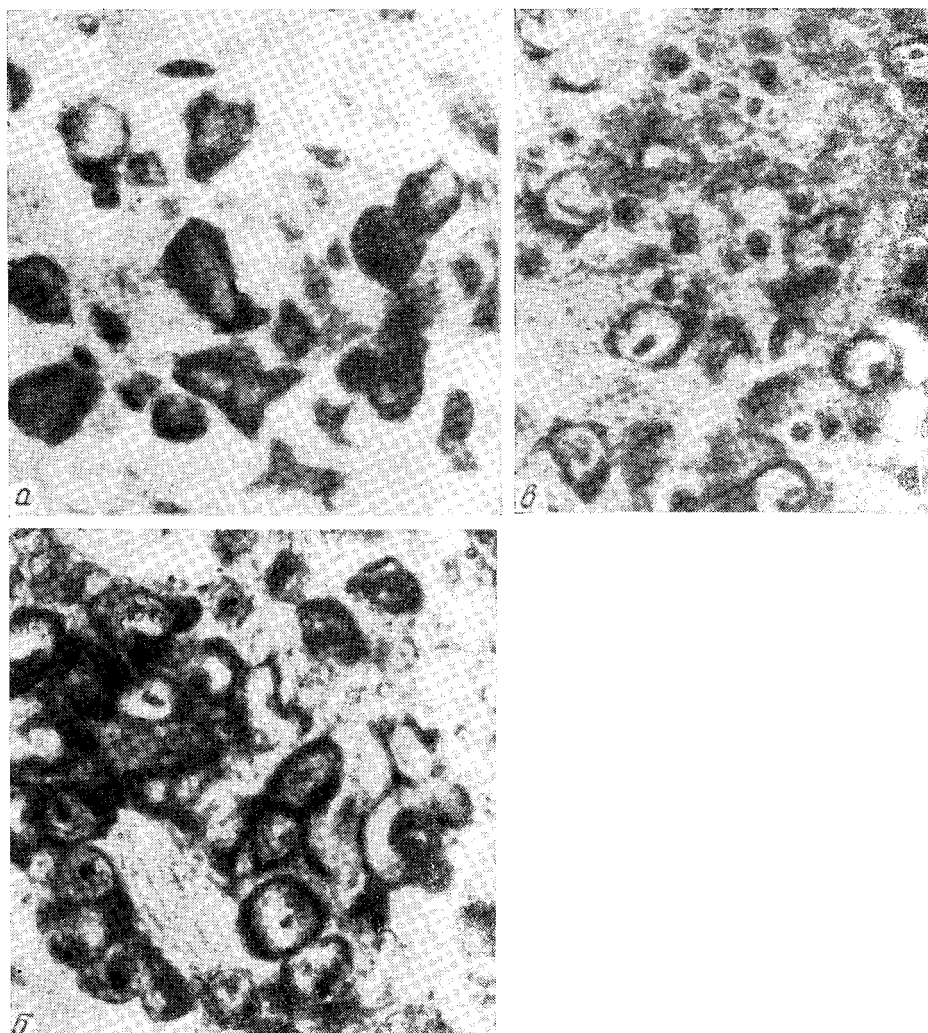


Рис. 2. Красная пульпа селезенки облученной мыши после миелотрансплантации. Азур II-эозиn, 1000 $\times$. *a* — активированные ретикулярные клетки, 1 сутки; *б* — микроскопическая колония из п.б.к., 3 сутки; *в* — эритроидная колония с н.б.к., 4 сутки

возрастает (рис. 1*B*). Эти очаги увеличиваются в размерах и содержат десятки кроветворных клеток. Наряду с эритроидными м.к. на шестые сутки появляются гранулоцитарные колонии, а также отдельные мегакариобласты. Количество же м.к., содержащих н.б.к., и диффузно расположенных единичных п.б.к. к этим срокам становится значительно меньше.

У облученных мышей без трансплантации кроветворных клеток колонии из г.д.к. определяются в очень незначительном количестве. В красной пульпе селезенки преобладают плазматические клетки различной степени зрелости, которые часто образуют очаговые скопления.

Через сутки после трансплантации содержание к.о.е. у реципиентов уменьшается. Затем, в период образования м.к., оно поддерживается на низком уровне. На четвертый—пятый день с появлением первых очагов г.д.к. число к.о.е. начинает увеличиваться и на шестые сутки уже заметно превосходит исходное (рис. 1*B*). Наблюдаемая кинетика восстановления к.о.е. соответствует ранее описанной другими авторами (³).

Таким образом, данные морфологического анализа клеточного состава

красной пульпы селезенки облученных реципиентов костного мозга и кинетики к.о.е. позволяют установить в ранних процессах восстановления гемопоэза в селезенке три этапа: 1 — системную активацию р.к. красной пульпы селезенки реципиента, 2 — образование м.к. из н.б.к., 3 — появление г.д.к. и пролиферация к.о.е. Присутствие г.д.к. в очагах н.б.к., по-видимому, указывает на наличие гистогенетической связи между вторым и третьим этапами восстановления гемопоэза. Однако еще не ясно, имеется ли специфическая, определяющая гемопоэтический характер восстановления связь между первым и вторым этапами. Быстрый рост числа н.б.к. на 2—4 сутки после трансплантации костного мозга при слабо выраженной митотической активности, по-видимому, является лишь косвенным подтверждением трансформации а.р.к. в н.б.к.

Военно-медицинская академия
им. С. М. Кирова
Ленинград

Поступо
14 VII 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. L. Curry, J. J. Trentin, *Developm. Biol.*, v. 15, 395 (1967). ² J. W. Goodman, C. G. Grubbs, In: *Hemopoietic Cellular Proliferation*, N. Y., 1970, p. 26. ³ Е. В. Гублер, А. А. Генкин, Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях, Л., 1973. ⁴ J. E. Till, E. A. McCulloch, *Radiation Res.*, v. 14, 2, 213 (1961). ⁵ J. P. Lewis, E. E. Trobauch, *Nature*, v. 204, 4958, 586 (1964).