

ПІДСУМКИ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ РЕАКЦІЇ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН ПЕРИФЕРІЙНИХ ОРГАНІВ ІМУННОЇ СИСТЕМИ В ПОСТНАТАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗІ ПІСЛЯ ДІЇ МАЛИХ ДОЗ ГАММА-ВИПРОМІНЮВАННЯ

**А. П. Мотуляк, Л. І. Хананась, В. А. Левицький, Н. М. Толоконнікова,
Т. Г. Тарнавська**

Івано-Франківська державна медична академія, Івано-Франківськ

Методами світлової мікроскопії і трансмісійної електронної мікроскопії вивчено структурні ознаки реакції стромальних клітин деяких периферійних органів імунної системи (зокрема, селезінки та брижових лімфатичних вузлів тонкої кишки) в ранньому періоді постнатального розвитку у мишей радіочутливої лінії BALB/c після дії загального, зовнішнього, одноразового гамма-випромінювання в низьких дозах (0,05 та 0,2 Гр). Встановлено, що загальне, одноразове, тотальне гамма-опромінення ювенільних мишей-самців радіочутливої лінії BALB/c у дозах 0,05 і 0,2 Гр індукує апоптоз стромальних та лімфоїдних елементів різних структурних зон селезінки та брижових лімфатичних вузлів, що якісно модифікує перебіг постнатального онтогенезу в зазначених периферійних органах імунної системи.

Вступ

Серед найбільш значимих наслідків дії радіації на організм людини і тварин - структурні зміни в органах імунної системи. При цьому більш вузька проблема дослідження морфо-функціональних особливостей радіаційно-індукованого апоптозу є окремим прикладом гострої науково-дослідницької полеміки останнього десятиліття. Особливо гострою є дана полеміка щодо радіаційно-індукованого апоптозу в органах імунної системи [1, 5, 8]. Потрібно зазначити, що превалюючий масив радіобіологічних робіт присвячено пострадіаційному апоптозу стромальних та імунокомпетентних клітин при дії великих доз [6, 7, 9, 10]. Ми та ряд інших учених констатуємо той факт, що дослідження морфологічних особливостей апоптозу й можливих структурних змін в імунній системі на клітинному, тканинному й органному рівнях в організмі, що розвивається за умов норми та під дією саме низьких доз іонізуючого випромінювання, з ряду об'єктивних причин є обмеженими, фрагментарними й суперечливими [2 - 4].

Зважаючи на вищевказане, мета нашої роботи полягала у вивченні, у першу чергу, реакції стромальних клітин периферійних органів імунної системи за умов екзогенної дії низьких доз гамма-випромінювання та, водночас, морфологічних особливостей радіаційно-індукованого апоптозу лімфоцитів і ретикулярних клітин строми в селезінці та брижових лімфатичних вузлах тонкої кишки мишей радіочутливої лінії BALB/c при дії загального, зовнішнього, одноразового γ -випромінювання в низьких дозах (0,05 та 0,2 Гр).

Матеріал і методи дослідження

Досліджено селезінку та брижові лімфатичні вузли (БЛВ) 140 ювенільних мишей-самців радіочутливої лінії BALB/c. У віці 6 - 7 діб після народження 110 піддослідних тварин було опромінено на установці Агат-Р1, заряд ^{60}Co , потужність дози 45,9 Р/хв, поле 20×20 см, ВДШ – 1 м. 55 мишей підлягали зовнішньому, одноразовому, загальному гамма-опроміненню в дозі 0,05 Гр (мала доза) і така ж кількість - у дозі 0,2 Гр (проміжна доза). Матеріал від тварин обидвох експериментальних груп забирали через 1, 2, 3, 5, 7 та 10 діб після опромінення. Окрім цього, зазначені органи відбирали у 30 тварин контрольної групи з аналогічними інтервалами часу. Утримання, догляд за тваринами і всі маніпуляції проводили у чіткій відповідності до положень “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які

використовуються для експериментальних та наукових цілей” (Страсбург, 1985). Для трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) одержаний матеріал обробляли згідно із загально визнаними у світовій практиці методами, із наступним залиттям шматочків тканин в аралдит та епон-аралдит. Півтонкі зрізи, отримані на ультрамікротомі Tesla, фарбували толуїдиновим синім, досліджували й документували у моторизованому мікроскопі дослідницького класу Olympus VX61 (цифрова фотокамера Olympus DP70). Ультратонкі зрізи контрастували ураніацетатом і цитратом свинцю за Reynolds, досліджували і фотографували в електронних мікроскопах ПЕМ-125К та ЕМВ-100 БР.

Результати дослідження та їх обговорення

Установлено, що низькі дози іонізуючого випромінювання ініціюють апоптоз стромальних компонентів селезінки та брижових лімфатичних вузлів. Цитоплазма таких видозмінених ретикулярних клітин строми в перші доби після опромінення дозою 0,2 Гр виглядає електронно-щільнішою та вповнюється дрібногранулярним матеріалом. Останній має тенденцію до формування скупчень полігональної форми. Мітохондрії містять просвітлений матрикс, їх кристи та внутрішня мембрана часто зруйновані. Гіперхромні ядра мають глибокі інвагінації. Спостерігається деяка дезорієнтація, перерозподіл органел загального призначення та субмікроскопічні ознаки деструкції ретикулярних клітин. Зазначені зміни, за даними літератури, вкладаються в рамки структурних проявів ранньої пострадіаційної апоптозної трансформації клітин імунних органів [2, 6, 9]. На 5 - 10 добу експерименту в різних морфофункціональних й анатомо-топографічних зонах селезінки та брижових лімфатичних вузлів спостерігаються ретикулярні клітини, малі та великі лімфоцити на різних стадіях апоптозної трансформації (рис. 1).



Рис. 1. Апоптозна трансформація ретикулярної клітини строми (1), малого (2) та великого лімфоцита (3) білої пульпи селезінки через 10 дб після опромінення в дозі 0,2 Гр. Електронна мікрофотографія. Зб.: x 12 000.

До найбільш типових проявів апоптозу стромальних компонентів периферійних органів імунної системи відносимо: ущільнення ядер, різку звивистість їх контурів, появу булавовидних вип'ячувань ядер з вмістом у вигляді суперконденсованого хроматину, формування глибоких інвагінацій та перетяжок ядер. На більш пізніх стадіях апоптозних

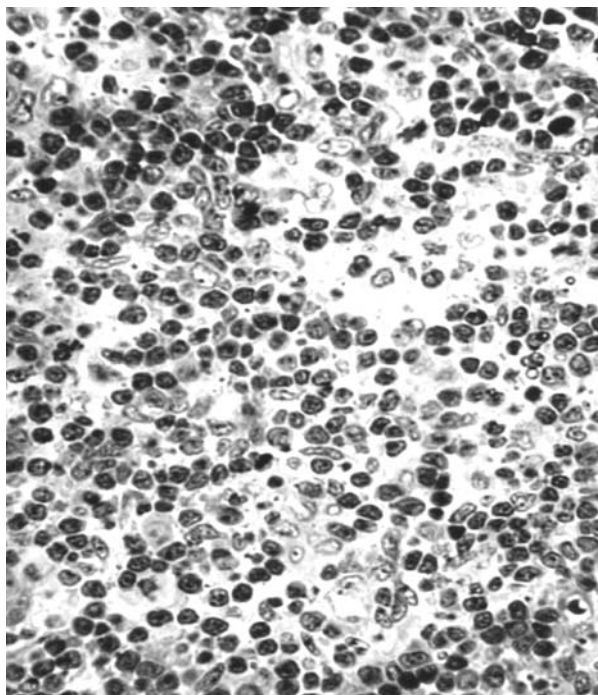


Рис. 2. Збільшення кількості лімфоцитів з гіперхромними ядрами в брижовому лімфатичному вузлі миші через 10 діб після опромінення в дозі 0,2 Гр. Напівтонкий зріз. Толуїдиновий синій. Зб.: x 400.

змін ідентифіковані нами інвагінації та перетяжки фрагментують ядра, котрі набувають при цьому вигляду химерних звивистих фігур.

У групі тварин, опроміненіх дозою 0,2 Гр на 7 - 10 добу апоптозу підлягають чисельні ретикулярні клітини строми білої і, особливо, червоної пульпи. Відростки таких клітин вочевидь втрачають характерну для них у нормі форму і традиційні контакти з іншими ретикулярними клітинами строми імунних органів. Такі апоптозно видозмінені клітини округляються, а їх ядра фрагментуються із збереженням цілісності каріолеми. Водночас, у брижових лімфатичних вузлах мишей на 7 - 10 добу після опромінення в дозі 0,2 Гр спостерігається суттєве зростання кількості лімфоцитів з різко гіперхромними ядрами (рис. 2), що, доповнює наші дані [3], а також відомості літератури [8, 9] про можливість істотного посилення трансмуральної міграції апоптозних лімфоцитів з центральних у периферійні органи імунної системи при дії низьких доз гамма-опромінення.

Висновки

1. Встановлено, що загальне, одноразове, тотальне гамма-опромінення ювенільних мишей-самців радіочутливої лінії BALB/c у дозах 0,05 і 0,2 Гр індукує апоптоз стромальних елементів різних структурних зон селезінки та брижових лімфатичних вузлів, що у свою чергу якісно модифікує постнатальний онтогенез периферійних органів імунної системи.

2. Суттєве зростання кількості лімфоцитів з різко гіперхромними ядрами у брижових лімфатичних вузлах мишей у пізніх термінах експерименту непрямо свідчить про істотне посилення процесів трансмуральної міграції (рециркуляції) лімфоцитів.

Перспективи наукового пошуку

При подальших дослідженнях, на нашу думку, надзвичайно важливо вирішувати питання щодо природи механізмів, що контролюють і структурно забезпечують процеси трансмурального переміщення лімфоцитів з центральних (зокрема, тимуса) в периферійні органи імунної системи (біла пульпа селезінки, лімфатичні вузли та вузлики тощо).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Гродзинський Д.М.* Радіобіологія. – К.: Либідь, 2000. - 448 с.
2. *Лушников Е.Ф., Абросимов А.Ю.* Гибель клетки (апоптоз). - М.: Медицина, 2001. - 192 с.
3. *Мотуляк А.П.* Апоптоз лімфоцитів у брижових лімфатичних вузлах мишей лінії BALB/c після дії низьких доз радіації // Вісник проблем біології і медицини. - 2003. - № 6. - С. 50 - 53.
4. *Нейко Є.М., Левицький В.А., Мотуляк А.П.* Радіаційно-індукований апоптоз: сучасні аспекти проблеми // Галицький лікарський вісник. - 2004. - Т. 11, № 1. - С. 12 - 19.
5. *Нейко Є.М., Левицький В.А., Мотуляк А.П.* Актуальні аспекти структурної організації імунної системи в нормі та за умов дії низьких доз іонізуючого випромінювання // Там же. - Т. 11, № 2. - С. 10 - 14.
6. *Радиочувствительность и мембраны лимфоцитов* / Под ред. Г. Б. Афониной, В. П. Яценко. – К.: НМУ им. О. О. Богомольца, 2001. - 203 с.
7. *Ling C.C., Guo M., Chen C.H. et al.* Radiation-induced apoptosis - effect of cell age and dose fractionation // Cancer Res. - 1995. - Vol. 55. - P. 5207 - 5212.
8. *Menz R., Andres R., Larsson B. et al.* Biological dosimetry: the potential use of radiation-induced apoptosis in human T-lymphocytes // Radiat. Environ. Biophys. - 1997. - Vol. 36. - P. 175 - 181.
9. *Yamada T., Ohyama H.* Radiation-induced interphase death of rat thymocytes is internally programme (apoptosis) // Int. J. Radiat. Biol. - 1988. - Vol. 53. - P. 65 - 75.
10. *Yoneoka Y., Satoh M., Akiyama K.* An experimental study of radiation-induced cognitive dysfunction in an adult rat model // British Journal of Radiology. - 1999. - Vol. 72, No. 864. - P. 1196 - 1201.

Надійшла до редакції 25.10.04,
після доопрацювання - 12.01.05.

**9 ИТОГИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ РЕАКЦИИ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК
ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ОРГАНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ
ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ МАЛЫХ ДОЗ ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯ**

А. П. Мотуляк, Л. И. Хананаев, В. А. Левицкий, Н. Н. Толоконникова, Т. Г. Тарнавская

Методами световой микроскопии и трансмиссионной электронной микроскопии изучены структурные проявления реакции стромальных клеток некоторых периферических органов иммунной системы (в частности, селезенки и брыжеечных лимфатических узлов тонкой кишки) в раннем периоде постнатального развития у мышей радиочувствительной линии BALB/c после действия общего, внешнего, одноразового гамма-излучения в низких дозах (0,05 и 0,2 Гр). Установлено, что облучение ювенильных мышей-самцов радиочувствительной линии BALB/c дозами 0,05 и 0,2 Гр индуцирует апоптоз стромальных и лимфоидных элементов разных структурных зон селезенки и брыжеечных лимфатических узлов, что, в свою очередь, качественно модифицирует протекание постнатального онтогенеза указанных периферических органов иммунной системы.

**RESULTS OF RESEARCHES OF RETICULAR CELLS OF PERIPHERAL ORGANS IMMUNE SYSTEM
REACTION IN A POSTNATAL ONTOGENESIS AFTER ACTION OF GAMMA-RADIATION
SMALL DOSES**

A. P. Motulyak, L. I. Hananaev, V. A. Levycky, N. M. Tolokonnikova, T. G. Tarnavska

The spleen and mesenteric lymphatic nodules of 140 juvenile male-mice of radiosensitive BALB/c line in norm and after exposure to general, ordinary, external γ -radiation (0,05 - 0,2Gr) by means of light microscope and transmission electronic microscope were examined. It was revealed that low doses of ionizing radiation initiate the apoptosis of reticular cells. Although it is established that low doses of γ -radiation induce lymphocytes apoptosis of the white pulp cells and mesenteric lymphatic nodules. This radiation-induced apoptosis of epithelioreticulocytes and lymphocytes is accompanied by the activation of transmural migration of apoptosis lymphocytes in peripheral organs immune system. The radiation-induced apoptosis influences for specificity of immune organ postradiation structural disorders.