

Э. Е. ОГАНДЖАНЯН

ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕЛЕЗЕНКЕ  
 ОБЛУЧЕННЫХ МЫШЕЙ ПРИ ПОДСАДКАХ КОСТНОГО МОЗГА

В последние годы все большее внимание уделяется вопросам медуллотерапии, применяемой с целью нормализации гемопоэза у животных и людей, подвергшихся действию проникающей радиации [1—3, 7]. При этом, по-видимому, выполняя основную роль по стимуляции или замещению кроветворения, гомогенаты костно-мозговой ткани нормализуют некоторые функции облученного организма. В частности, Drasil V., Soska Y., Karpfel Z. [8] нашли, что введение мышам, облученным в дозе 600 р, гомологического костного мозга повышает синтез ДНК в облученной селезенке. Нами [4] было показано, что введение костного мозга в селезенку облученных мышей оказывает существенное влияние на селезеночное кроветворение, вызывая усиленный гемопоэз с 10 дня лучевой болезни. При сочетании же подсадок костного мозга с профилактическим введением за 7 дней до облучения 0,1 см<sup>3</sup> 2% масляного раствора синэстрола интенсивная регенерация форменных элементов крови в селезенке наступает с 5 суток после введения в нее костно-мозговых клеток [5]. У мышей контрольной группы заметное усиление митотической активности клеток наступает с 14 дня после лучевого воздействия.

В настоящем исследовании, являющемся продолжением предыдущих работ, поставлена цель изучить влияние внутриселезеночных подсадок костного мозга на характер некоторых гистохимических изменений, наступающих в селезенке облученных животных.

**Методика исследования.** Опыты проводились на самцах черных мышей линии С 57/6. Животные подвергались общему однократному облучению на аппарате РУМ-3 при следующих условиях: напряжение тока—195 кв, сила тока—15 мА, мощность дозы—33,7 р/мин, кожно-фокусное расстояние—40 см, фильтры—0,5 мм меди и 1 мм алюминия. Доза лучевого воздействия—600 р.

Мыши были подразделены на 3 группы: контрольная и две опытные. Мышам первой опытной группы внутриселезеночно вводили изологичный костный мозг от двух доноров через 24 часа после облучения. Во второй опытной группе трансплантация костного мозга сочеталась с профилактическим, за 7 дней до облучения, введением 2 мг синэстрола в масляном растворе. Мышам контрольной группы после облучения подсадка костного мозга не производилась. Животных забивали в различные сроки после облучения и введения костного мозга. На каждый срок исследования бралось по 5 мышей. Селезенку фиксировали в жидкости Кариуа, Буэна и заливали в парафин. Ставились гистохимические реак-

ции для выявления  $\alpha$ -аминокислот (нингидриновая реакция по Ясума и Итчикава), неорганического железа (метод с берлинской лазурью) и реакция ШИК по Мак-Манусу для выявления углеводных компонентов ткани. Однако, учитывая неспецифичность реакции ШИК, нами был использован ряд методик для дифференцирования выявляемых ею веществ, содержащих углеводы: 1) разрушение гликогена амилазой слюны в течение 60 мин. при комнатной температуре; 2) окрашивание срезов суданом черным В для дифференцирования липидов, гликолипидов от гликопротеидов; 3) были поставлены контрольные реакции на мукополисахариды: а) метод с применением толуидинового синего по Крамеру и Виндруму, по Хессу и Холендеру; б) окраска альциановым синим по способу Моури; в) окраска азуром I после сульфатации и без него.

Концентрация вышеуказанных ингредиентов определялась визуально по интенсивности окраски, условно обозначенная крестами:  $\pm$  следы, + немного, ++ умеренное количество, +++ много, ++++ очень много.

### Результаты исследования

Обмен белков ( $\alpha$ -аминокислот). Контрольная группа.

2-й день лучевой болезни. Нингидриновая реакция слабо положительна (+) в капсуле и трабекулах органа. Следы ( $\pm$ )  $\alpha$ -аминокислот выявляются в стенке некоторых сосудов. Коллагеновые и эластические волокна окрашены в одинаковый розовый цвет в соединительнотканной строме органа и в бледно-розовый—в стенке сосуда.

4-й день. Нингидриновая реакция стала умеренной (++) как в прослойках соединительной ткани, так и в стенках всех сосудов, расположенных в трабекулах. Эластические волокна окрашены интенсивнее по сравнению с коллагеновыми. В небольшом (+) количестве  $\alpha$ -аминокислоты выявляются в стенке и центральных артерий.

6-й день. Резко (+++) возрастает интенсивность окраски структур, содержащих  $\alpha$ -аминокислоты. При этом в прослойках соединительной ткани и стенках крупных сосудов эластические волокна окрашены в темно-фиолетовый цвет, а коллагеновые—в фиолетовый. В стенке центральных артерий содержание  $\alpha$ -аминокислот стало умеренным, следы  $\alpha$ -аминокислот выявляются в ретикулярных клетках.

В течение 8—10 суток после облучения концентрация  $\alpha$ -аминокислот держится на высоком уровне, хотя на 10-й день наблюдается незначительное снижение содержания  $\alpha$ -аминокислот, особенно в стенке трабекулярных сосудов.

В 12—14 сутки в лучевой болезни происходит дальнейшее небольшое снижение содержания  $\alpha$ -аминокислот в селезенке, причем в прослойках соединительной ткани в большей степени, чем в стенке сосудов. Однако, начиная с 14-х суток,  $\alpha$ -аминокислоты в небольшом количестве (+) начинают выявляться в ядрах вновь образованных форменных элементов крови, а на 16-й день содержание  $\alpha$ -аминокислот в ядрах клеток повы-

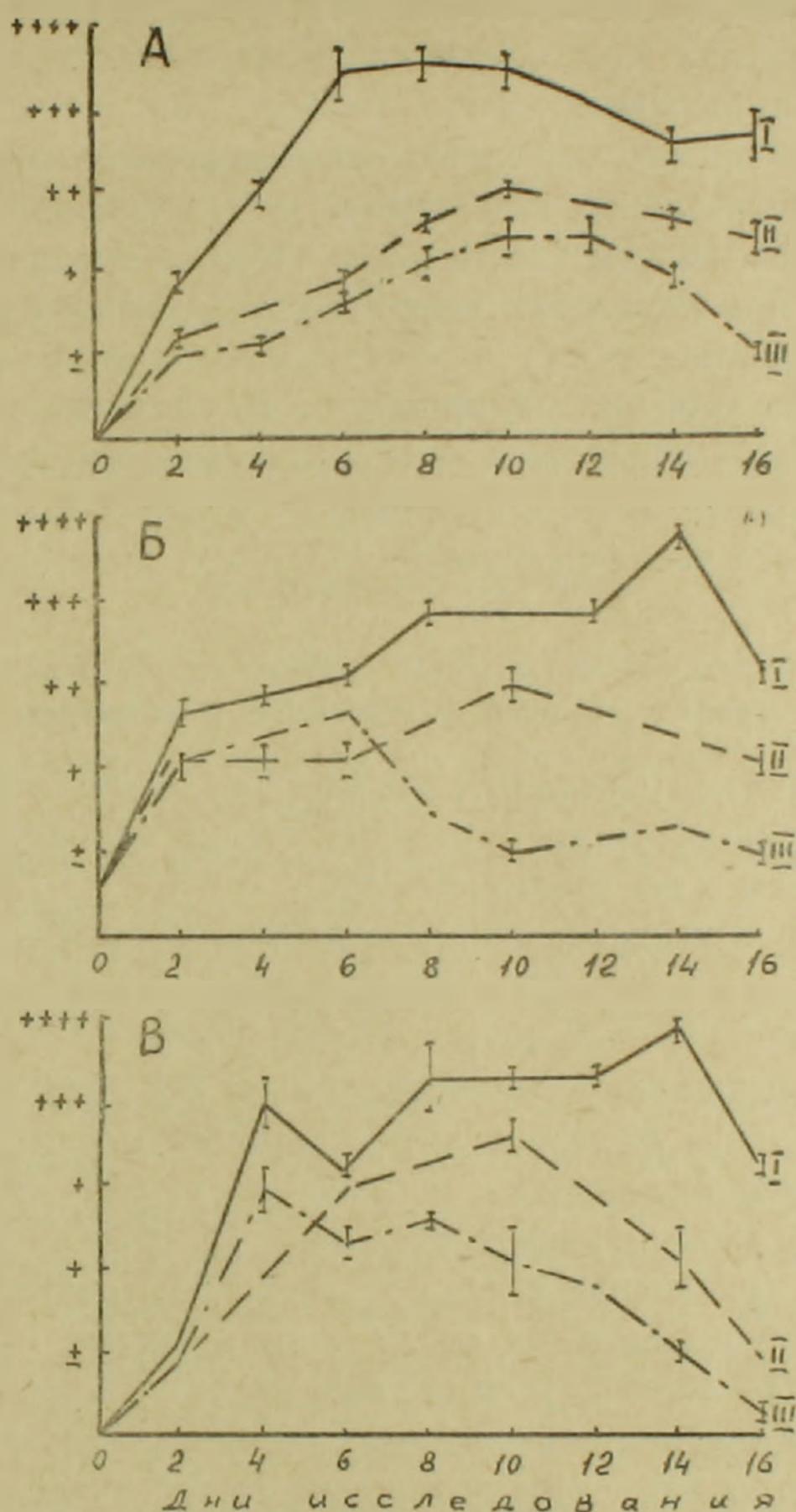


Рис. 1. Динамика содержания  $\alpha$ -аминокислот (А), муко- и гликопротеидов (Б) и неорганического железа (В) в селезенке облученных мышей контрольной группы (I), после подсадки костного мозга (II) и при сочетании воздействия синэстрола и подсажек костного мозга (III).

шается до умеренного уровня. Вновь повышается содержание  $\alpha$ -аминокислот в трабекулах и в стенке трабекулярных сосудов.

### Опытные группы

#### Внутриселезеночное введение суспензий костного мозга

В 1-й день после трансплантации костного мозга следы ( $\pm$ )  $\alpha$ -аминокислот выявляются в капсуле и трабекулах. Коллагеновые и эластические волокна окрашены в бледно-розовый цвет.

В 3—5 сутки наблюдается повышение содержания  $\alpha$ -аминокислот в капсуле и трабекулах (+). Следы кислот выявляются в стенке сосудов как малых, так и больших.

В 7—9 сутки происходит дальнейшее увеличение содержания  $\alpha$ -аминокислот в вышеуказанных структурах (++) , особенно в стенке трабекулярных сосудов, причем эластические волокна окрашены интенсивнее коллагеновых. Нингидриновая реакция слабо выражена (+) в ядрах клеточных элементов.

К 13-му дню уровень  $\alpha$ -аминокислот в соединительнотканых элементах несколько уменьшается и держится на этом уровне до 15 дня. В 13—15 сутки содержание  $\alpha$ -аминокислот в ядрах форменных элементов крови немного увеличивается (+).

#### Внутриселезеночная подсадка костного мозга в сочетании с профилактическим введением 2-х мг синэстрола

В 1-й день после трансплантации костного мозга в капсуле, трабекулах и соединительнотканых элементах стенки трабекулярных сосудов содержатся следы ( $\pm$ )  $\alpha$ -аминокислот.

К 3-му дню в вышеуказанных структурах уровень  $\alpha$ -аминокислот несколько возрастает (+). Эластические волокна в стенке сосудов окрашиваются в темно-розовый цвет, а коллагеновые—в бледно-розовый.

Уровень содержания  $\alpha$ -аминокислот на 5-й день после подсадки костного мозга такой же, как в предыдущий срок исследования. Следы  $\alpha$ -аминокислот обнаруживаются в ядрах клеточных элементов. Постепенное усиление нингидриновой реакции (+) происходит до 9-го дня. В ядрах клеток (различные стадии развития форменных элементов крови) по-прежнему выявляются следы  $\alpha$ -аминокислот.

В течение 11—13—15 суток постепенно уменьшается концентрация  $\alpha$ -аминокислот в соединительнотканых элементах селезенки. В 13-й день в ядрах форменных элементов крови выявляется малое (+) количество  $\alpha$ -аминокислот. В 15-й день нингидриновая реакция слабеет, происходит некоторое снижение уровня  $\alpha$ -аминокислот в ядрах клеток.

#### Обмен муко- и гликопротеидов

Примененный комплекс гистохимических методов позволил в стенке сосудов, капсуле и трабекулах селезенки выявить вещества, которые реагируют ШИК-положительно, устойчивы к амилазе, не дают  $\gamma$ -метахромазии и не окрашиваются суданом черным В. Если гликоген удален, то, по мнению Леблон с соавторами [9], положительную реакцию ШИК может давать лишь один класс веществ, в первую очередь углеводно-белковые комплексы, к которым относятся нейтральные мукополисахариды (частично), а также муко- и гликопротеиды. Э. Пирс [6] считает, что белковые вещества следует идентифицировать как мукопротеиды или гликопротеиды, или комплекс углеводов-белок, если при отсутствии липидов в этих веществах можно выявить устойчивые к действию диа-

стазы углеводов; однако упомянутые вещества не должны давать  $\gamma$ -мета-хромазии.

Следовательно, в вышеуказанных структурах селезенки нами были выявлены муко- и гликопротеиды, гистохимическое разграничение которых в настоящее время пока невозможно.

В нормальной необлученной селезенке слабо ШИК-положительными структурами являются соединительнотканые волокна капсулы, трабекул и стенки трабекулярных сосудов, главным образом артерий. В них содержатся следы ( $\pm$ ) муко- и гликопротеидов. При этом коллагеновые и эластические волокна окрашены в одинаковые бледно-розовые тона.

### Контрольная группа

В 1—2 дни лучевой болезни уже несколько повышается содержание муко- и гликопротеидов в вышеуказанных структурах селезенки, но в первую очередь в трабекулярных сосудах. Соединительнотканые прослойки в органе и коллагеновые волокна стенок сосудов окрашиваются в розовый цвет. Внутренняя эластическая мембрана трабекулярной артерии окрашена в темно-розовый цвет.

4—6 сутки—намечается тенденция к увеличению муко- и гликопротеидов до умеренного содержания ( $++$ ) в капсуле и трабекулах селезенки.

8-й день—в значительной степени ( $+++$ ) повышается содержание муко- и гликопротеидов в прослойках соединительной ткани, а также в стенке центральных артерий. В фиолетовый цвет в сосудах окрашиваются эластические волокна и несколько бледнее—коллагеновые.

10—12 дни—интенсивность окраски различных тканевых элементов почти ничем не отличается от интенсивности окраски соответствующих тканевых структур, наблюдаемой на 8-й день.

14-й день—резко ( $++++$ ) ШИК-положительными становятся соединительнотканые прослойки органа и особенно стенки трабекулярных сосудов (рис.—микрофото 2). В них эластические волокна окрашены в красно-фиолетовый цвет, а коллагеновые—в темно-розовый.

16-й день—уровень муко- и гликопротеидов в структурах селезенки, содержащих их, снизился и стал умеренным ( $++$ ).

### Опытные группы

#### Внутриселезеночное введение суспензий костного мозга

В 1-й день после подсадки костного мозга также, как и у контрольных мышей, несколько усиливается ШИК-реакция ( $+$ ) в соединительнотканых волокнах капсулы, трабекул и стенки сосудов. Отмеченный в первые дни уровень содержания муко- и гликопротеидов в селезенке держится до 5-го дня.

В течение 7—9 суток происходит постепенное повышение содержания муко- и гликопротеидов—оно становится умеренным (+ +). Муко- и гликопротеиды выявляются в капсуле, трабекулах, в стенке трабекулярных, а также центральных артерий. При этом интенсивнее окрашиваются эластические волокна. Следы муко- и гликопротеидов выявляются в ретикулярных клетках. В последующие сроки исследования (11—13 дни) уровень муко- и гликопротеидов падает, достигая незначительного содержания (+) к 16-му дню лучевой болезни.

**Внутриселезеночная подсадка костного мозга в сочетании  
с профилактическим введением 2 мг синэстрола**

В 1-й день после подсадки костного мозга происходит усиление ШИК-реакции в соединительнотканной строме селезенки и в стенке трабекулярных сосудов.

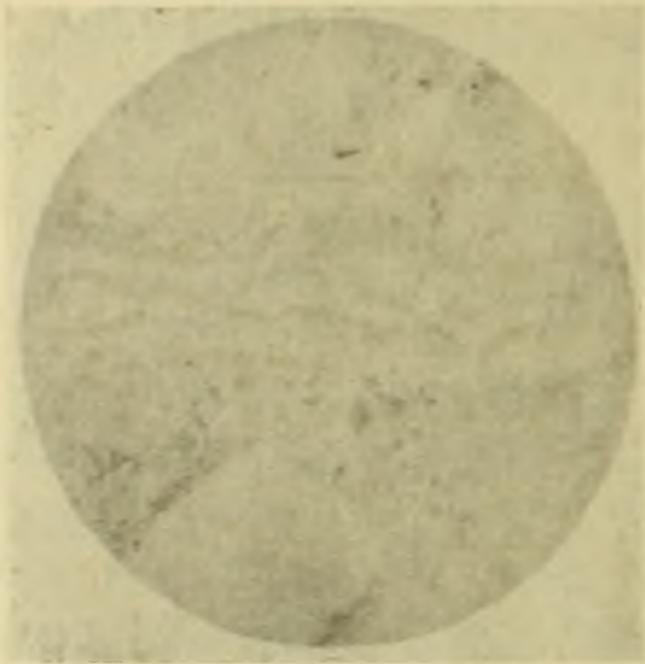


Рис. 2. Селезенка на 14-й день лучевой болезни. Реакция ШИК по Мак-Манусу. Резко ШИК-позитивные структуры в стенке сосуда. Ок. 15 ×. Об. 8 ×.

3—5 сутки — содержание муко- и гликопротеидов постепенно повышается до почти умеренного уровня (+ +). Эластические волокна окрашиваются интенсивнее коллагеновых. Муко- и гликопротеиды выявляются и в стенке центральных артерий.

К 7-му дню происходит ослабление окрашиваемости коллагеновых и эластических волокон в соединительной ткани. Падение уровня муко- и гликопротеидов в селезенке продолжается до 9-го дня после подсадки костного мозга.

В 13-й день наблюдается незначительное усиление ШИК-реакции, однако в 13—15 дни капсула трабекулы и соединительнотканые структуры стенок трабекулярных сосудов содержат лишь следы ( $\pm$ ) муко- и гликопротеидов. Указанные структуры окрашены в бледно-розовый цвет. В стенке центральных артерий муко- и гликопротеиды почти не выявляются.

В стенке центральных артерий муко- и гликопротеиды почти не выявляются.

### Обмен неорганического железа

В нормальной необлученной селезенке следы неорганического трехвалентного железа выявляются в некоторых клетках.

Контрольная группа (2-й день лучевой болезни)—следы железа ( $\pm$ ) обнаруживаются во многих ретикулярных клетках красной пульпы. При этом цитоплазма большинства клеток окрашивается диффузно в голубоватый цвет, но в некоторых клетках железо выявляется в виде отдельных гранул синего цвета.

4-й день—содержание железа в селезенке резко возрастает (+++). Многие участки красной пульпы заняты клетками, содержащими гранулярное железо. Местами оно обнаруживается вне ретикулярных клеток.

На 6-й день—содержание неорганического железа становится умеренным (++) , при этом уменьшается число клеток, содержащих железо и количество гранул в каждой клетке.

8-ой день—наступает вторая волна значительного повышения количества железа в ретикулярных клетках (более +++). Красная пульпа сплошь занята клетками, нафаршированными гранулами и глыбками железа. Этот высокий уровень содержания железа сохраняется в течение 10—12 суток лучевой болезни, но на 12-й день распределение железа в клетках становится неравномерным. Имеются клетки с малым содержанием гранул железа, со средним и большим. Клеток последнего типа очень много. Глыбки железа видны и вне клеток.

14-й день — уровень железа в селезенке особенно высок (++++) (рис. — микрофото 3). Неорганическое железо содержат все клетки красной пульпы и отдельные ретикулярные клетки, расположенные в мальпигиевых тельцах. Гранулы железа видны и в эндотелии отдельных сосудов. Большинство клеток стромы перегружено гранулами железа. Увеличилось количество железа, расположенного вне клеток.

16-й день—содержание железа снижается до умеренного уровня (++) . Гранулы железа встречаются, главным образом, в тех участках ретикулярной стромы, где отсутствуют очаги лимфо- и миелопоэза. Но отдельные клетки, содержащие неорганическое железо, встречаются и в очагах кроветворения. В мегакариоцитах во все сроки исследования железа не накапливается.

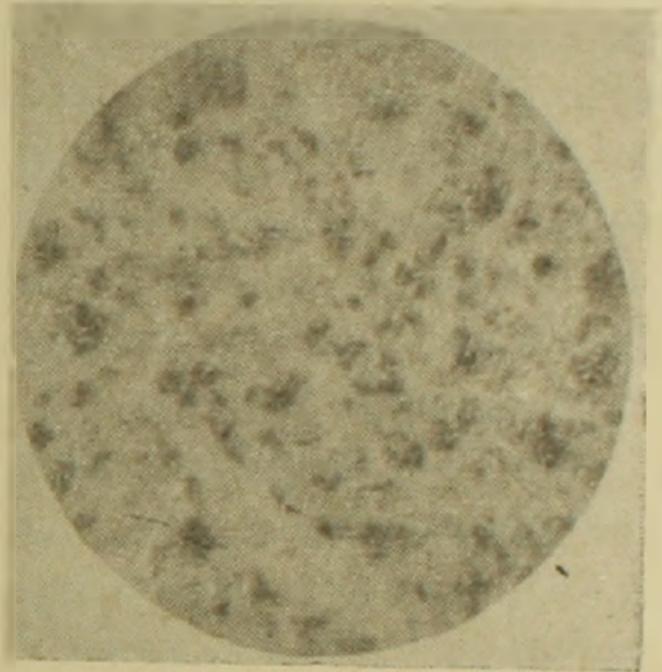


Рис. 3. Селезенка на 14-й день лучевой болезни. Реакция с берлинской лазурью. Видны ретикулярные клетки, которые содержат значительное количество неорганического железа.  
Ок. 15 X. Об. 40 X.

### Опытные группы

#### Внутриселезеночное введение суспензий костного мозга

1-й день после трансплантации костного мозга—следы (±) неорганического железа выявляются в цитоплазме ретикулярных клеток, расположенных в красной пульпе. Цитоплазма клеток окрашивается диффузно в голубой цвет, но в отдельных клетках видны единичные гранулы железа.

На 3—5 день лучевой болезни содержание железа постепенно становится умеренным (+ +). Увеличивается количество гранул в клетках и число клеток, содержащих их. Гранулы железа видны на диффузно окрашенном фоне цитоплазмы ретикулярных клеток красной пульпы. Глыбки железа выявляются и вне клеток.

В течение 7—9 суток происходит дальнейшее повышение содержания железа в клетках (более + +), однако уменьшаются участки красной пульпы, занятые железосодержащими ретикулярными клетками, ибо в селезенке много очагов кровотоления. В последующие сроки исследования на 11—13 сутки после трансплантации костного мозга наблюдается уменьшение неорганического железа в селезенке, которая почти вся заполнена очагами кровотоления. Местами видны скопления ретикулярных клеток, цитоплазма которых содержит гранулы железа в малом количестве (+)

На 15-й день в селезенке встречаются лишь единичные клетки, содержащие небольшое число гранул железа.

#### Внутриселезеночная подсадка костного мозга в сочетании с профилактическим введением 2 мг синэстрола

1-й день после трансплантации костного мозга—в отдельных ретикулярных клетках, расположенных в красной пульпе появляются гранулы железа.

В 3-й день содержание железа в клетках становится умеренным (+ +). При этом увеличивается число клеток, содержащих железо.

На 5-й день происходит значительное падение уровня железа в селезенке (+), в которой имеется много очагов лимфо- и миэлопоэза. В отдельных клетках концентрация железа высокая, но клеток, содержащих его, стало меньше.

7-й день после введения суспензии костного мозга—уровень железа несколько повышается.

9—11 сутки—наблюдается неуклонное уменьшение числа клеток, содержащих железо.

13—15 дни—в селезенке почти нет железосодержащих клеток. Такие клетки встречаются изредка; в них железо распределено не диффузно, а в виде отдельных гранул и глыбок. В мегакариоцитах селезенки мышей опытных групп во все сроки исследования железо не выявляется.

#### В ы в о д ы

Таким образом, в селезенке облученных мышей происходят существенные изменения интенсивности изученных нами некоторых сторон обмена веществ.

1. В волокнистых структурах стенки сосудов и стромы селезенки наблюдается повышение количества  $\alpha$ -аминокислот, которое достигает

максимума к 8 суткам лучевой болезни. В последующие дни происходит незначительное уменьшение содержания  $\alpha$ -аминокислот.

2. С первых пострadiaционных суток происходит постепенное, но неуклонное повышение уровня муко- и гликопротеидов в стенке сосудов и соединительнотканной строме органа.

3. Период повышения количества муко- и гликопротеидов совпадает с периодом увеличения количества неорганического железа в селезенке. Возможно, что непрерывно возрастающие нарушения обменных процессов (обмена белков, муко- и гликопротеидов) в стенке сосудов и строме селезенки обуславливают повышение их проницаемости и являются одним из факторов, способствующих усиленному накоплению неорганического железа в органе.

4. Внутриселезеночные подсадки костного мозга оказывают благотворное влияние на течение возникших в селезенке гистохимических изменений. В частности, подсадки костного мозга, особенно в сочетании с профилактическим введением эстрогена, способствуют более ранней нормализации обмена муко- и гликопротеидов и неорганического железа. Увеличение количества  $\alpha$ -аминокислот имеет место и при подсадках костного мозга, но процесс выражен в меньшей степени.

Сектор радиобиологии АМН СССР,  
Кафедра гистологии I МОЛМИ

Поступило 30.III 1965 г.

Է. Ե. ՕՂԱՆՋԱՆՅԱՆ

ՀԻՍՏՈՔԻՄԻԱԿԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՃԱՌՍԳԱՅԹԻԼԱՐՎԱԾ ՄԿՆԵՐԻ ՓԱՅԾԱՂՈՒՄ՝ ՈՍԿՐԱԾՈՒԾԻ ԳԱՏՎԱՍՏՈՒՄՆԵՐԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ փ ո փ ո ս մ

Հեղինակի նպատակն է եղել ուսումնասիրել ոսկրածուծի սերփայծաղային պատվաստումների ազդեցությունը հիստոքիմիական փոփոխությունների ընթացքի վրա, որոնք առաջանում են ճառագայթահարված C 57/6 գծի սև մկների փայծաղում: Կենդանիները ենթարկվել են ընդհանուր, միանվագ ճառագայթահարման 600 r դոզայով (հաշվված օդում) РУМ-3 սարքավորման վրա:

Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ ճառագայթահարելուց հետո փայծաղում բարձրանում են  $\alpha$ -ամինոթթվի, մուկո- և գլիկոպրոտեինների, ինչպես նաև անօրգանական երկաթի, քանակները: Ճառագայթահարումից 24 ժամ հետո 2 զոնարներից վերցված ոսկրածուծի սերփայծաղային պատվաստումը նպաստում է վերը նշված փոխանակության պրոցեսների վաղ նորմալացմանը: Այդ առանձնապես նկատելի է, երբ պրոֆիլակտիկ նպատակով, ճառագայթահարումից 7 օր առաջ, կենդանիներին ներարկում ենք սինեստրոլի 2 % -անոց լուղային լուծույթ՝ 0.1 սմ<sup>3</sup> քանակությամբ:

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Антонян К. А. Матер. расширен. научной конф. НИИГиПК, Ереван, 1964.
2. Багдасаров А. А. с соавторами. Мед. радиология, 7, 2, 1962.
3. Киселев А. Е. Матер. докл. III Всесоюзн. конф. по пересадке тканей и органов, Ереван, 1963.
4. Оганджания Э. Е. Вопросы радиобиологии, Ереван, т. V, 1964.
5. Оганджания Э. Е. Матер. расшир. научн. конф. НИИГиПК, Ереван, 1964.
6. Пирс Э. Гистохимия, 1962.
7. Файнштейн Ф. Э., Зотиков Е. А. Матер. расшир. научн. конф. НИИГиПК, Ереван, 1964.
8. Drasil V., Soska J., Karpfel Z. Folia Biol. 5, 2, 89, 1959.
9. Leblond C. P., Glegg R. E., Eidiger D. J. Histochem. Cytochem, 5, 445, 1957.