

УДК 616.419-089.843-001.28-092.9:616.4-003.93

А.А. ЦУЦАЕВА, С.С. ЧЕРНОУСОВА*, Т.А. ГЛУШКО, Л.Е. ШАТИЛОВА,
В.В. ВОЛИНА, Л.В. СОКОЛ, Л.Ю. ИВАХНЕНКО, Л.Г. ЧЕРНЫШЕНКО, Е.В. БРОВКО

Влияние трансплантации криоконсервированного костного мозга на динамику восстановления морфофункциональных свойств лимфоидных, миелоидных и эндокринных органов у летально облученных реципиентов

UDC 616.419-089.843-001.28-092.9:616.4-003.93

А.А. TSUTSAYEVA, S.S. CHERNOUSOVA*, T.A. GLUSHKO, L.E. SHATILOVA,
V.V. VOLINA, L.V. SOKOL, L.YU. IVAKHENKO, L.G. CHERNYSHENKO, E.V. BROVKO

Effect of Cryopreserved Bone Marrow Transplantation on Dynamics of Recovery of Morphofunctional Properties of Lymphoid, Myeloid and Endocrine Organs in Lethally Irradiated Recipients

Комплексно изучали морфофункциональные свойства лимфоидных, миелоидных и эндокринных органов у летально облученных мышей на разных этапах после трансплантации им криоконсервированных клеток сингенного костного мозга (КСКМ). Показано, что трансплантация КСКМ летально облученным животным стимулирует процессы восстановления органов нейрогуморальной системы. При этом изменения уровня гормонов трийодтиронина (T_3), тироксина (T_4), кортикостерона и инсулина в периферической крови, протекающие волнообразно, хоть и не достигают уровня физиологической нормы, однако обеспечивают выживаемость в течение 3-х месяцев летально облученных животных, погибающих без трансплантации к 10 суткам.

Ключевые слова: летальное облучение, трансплантация, криоконсервированный сингенный костный мозг, лимфоидные, миелоидные, эндокринные органы, гормоны.

Комплексно вивчали морфофункціональні властивості лімфоїдних, міелоїдних та ендокринних органів у летально опромінених мишей на різних етапах після трансплантації їм криоконсервованих клітин сингенного кісткового мозку (КСКМ). Показано, що трансплантація КСКМ летально опроміненим тваринам стимулює процеси відновлення органів нейрогуморальної системи. При цьому зміни рівня гормонів трийодтироніну (T_3), тироксину (T_4), кортикостерону та інсуліну в периферичній крові, які протікають хвилеподібно, хоч і не досягають рівня фізіологічної норми, проте забезпечують виживання на протязі 3-х місяців летально опромінених тварин, що гинуть без трансплантації на 10 добу.

Ключові слова: летальне опромінення, трансплантація, криоконсервований сингенний кістковий мозок, лімфоїдні, міелоїдні, ендокринні органи, гормони.

There was realised a combined study of morphofunctional properties of lymphoid, myeloid and endocrine organs in lethally irradiated mice at different stages after cryopreserved syngeneic bone marrow (CSBM) cell transplantation. The CSBM cell transplantation to lethally irradiated animals demonstrated the stimulation of recovery processes in neurohumoral organs. At the same time the wave-like changes in triiodothyronine (T_3), thyroxin (T_4), corticosterone and insulin hormone levels in peripheral blood, even if not reaching the level of physiological norm, provide the survival within 3 months for lethally irradiated animals, dying without transplantation to the 10th day.

Keywords: lethal irradiation, transplantation, cryopreserved syngeneic bone marrow, lymphoid, myeloid, endocrine organs, hormones.

Известно, что гомеостаз зависит от состояния ведущих систем организма: кроветворной, иммунной, эндокринной и нервной [4]. Поскольку функционирование этих систем взаимосвязано, то нарушение функций одной из них может повлечь за собой изменение функций других систем [7].

Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, г. Харьков

* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:
ул. Перейславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.:+38
(057) 373-31-26, факс: +38 (057) 373-30-84, электронная почта:
cryo@online.kharkov.ua

Homeostasis is known to be dependent on the state of leading systems of an organism such as: hemopoietic, immune, endocrine and nervous ones [4]. Since the functioning of these systems is interrelated, the disorder in one of them may involve the changes in functions of other systems [7].

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.:+380 57 373 3126, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Ионизирующая радиация в зависимости от дозы и продолжительности воздействия вызывает разной степени выраженности морфофункциональные нарушения органов лимфоидного и миелоидного комплекса и органов нейроэндокринной системы, являющиеся причиной возникновения у летально облученных животных и человека гемо- и иммунодепрессий, которые могут приводить к их гибели либо к развитию разных патологических процессов [14, 20, 25]. Установлено, что единственным способом восстановления процессов кроветворения после летального облучения является трансплантация сингенного, либо совместимого по HLA-DR-DQ аллогенного костного мозга [10, 15, 24]. Работы, посвященные исследованию динамики восстановления морфофункциональных свойств нейроэндокринных органов после летального облучения на разных этапах после трансплантации костного мозга, единичны, а их результаты не лишены противоречий [1, 3, 16, 19, 23, 26, 27].

Цель данной работы – изучение динамики восстановления морфофункциональных свойств органов лимфомиелоидного комплекса (костного мозга, крови, лимфатических узлов, тимуса, селезенки, перитонеальной полости) и эндокринных органов (гипофиза, щитовидной железы, надпочечников, поджелудочной железы) у летально облученных реципиентов на разных этапах после трансплантации криоконсервированных клеток сингенного костного мозга (КСКМ).

Материалы и методы

Эксперименты проводили на 600 линейных мышцах-самцах (CBA×C57B1)_{F₁} массой 18–20 г в возрасте 2 мес. в осенне-зимний период. Животные были разделены на 3 группы: 1 – летально облученные; 2 – летально облученные животные, которым вводили криоконсервированные клетки сингенного костного мозга; 3 – интактные животные (контроль). Клетки костного мозга выделяли из бедренных костей и подвергали криоконсервированию по методу [14]. После криоконсервирования в суспензии определялось больше 90% сохранных клеток и 87% КОЕс и КОЕк. Клетки криоконсервированного донорского костного мозга вводили внутривенно в объеме 0,2 мл в дозе 1×10^7 кл/мл. Облучали животных в утренние часы на установке РУМ-17 в дозе 7,55 Гр, при напряжении 180 кВ, силе тока 10 мА, фильтры $0,5 \pm 0,1$ мм Al с ЛД_{100/10}. Декапитировали животных под эфирным наркозом через 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 60, 70, 80 и 90 суток после начала эксперимента. Клетки костного мозга трансплантировали через 1 ч после облучения.

Ionising radiation depending on the dose and effect duration causes differently pronounced morphofunctional disorders in organs of lymphoid and myeloid complexes and organs of neuroendocrine system, being the cause of hemo- and immune depressions in lethally irradiated animals and humans, that may result either in their death or development of different pathological processes [14, 20, 25]. The transplantation of syngeneic or HLA-DR-DQ-compatible allogenic bone marrow was established to be the only way to recover hemopoietic processes after lethal irradiation [10, 15, 24]. The researches, devoted to studying the recovery dynamics of morphofunctional properties of neuroendocrine organs after lethal irradiation at different stages after bone marrow transplantation, are single and their findings are not deprived of contradictions [1, 3, 16, 19, 23, 26, 27].

The research was aimed to study the recovery dynamics of morphofunctional properties of lymphomyeloid organs (bone marrow, blood, lymph nodes, thymus, spleen, peritoneal cavity) and endocrine ones (hypophysis, thyroid and adrenal glands, pancreas) in lethally irradiated recipients at different stages after transplantation of cryopreserved cells of syngeneic bone marrow.

Materials and methods

Experiments were performed in 2 months' male mice (CBA×C57B1)_{F₁} with 18–20 g (n=600) in autumn-winter period. Animals were divided into 3 groups: the 1st group comprised lethally irradiated animals; the 2nd one did lethally irradiated animals with introduced cryopreserved syngeneic bone marrow (CSBM) cells; and the intact animals made the 3rd one (control). Bone marrow cells were isolated from femoral bones and cryopreserved by the method, reported in the paper [14]. After cryopreservation more than 90% integral cells and 87% CFUs and CFUc were determined in suspension. Donor cryopreserved bone marrow cells were intravenously introduced in 0.2 ml volume under 1×10^7 cell/ml dose. Animals were irradiated in morning hours with RUM-17 device in 7.55 Gy dose, under 180 kV voltage, 10 mA current intensity, $0,5 \pm 0,1$ mm with LD_{100/10} filters. Animals were decapitated with ether narcosis in 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 60, 70, 80 and 90 days after experiment beginning. Bone marrow cells were transplanted 1 hr later irradiation.

The experiments were carried-out according to the "General ethical principles of experiments in animals", approved by the 2nd National Congress on Bioethics (Kiev, 2004).

Thymus and lymph node cellularities were determined with Goryaev's chamber by calculating the number of nucleated cells, obtained after soft homo-

Эксперименты проведены в соответствии с “Общими принципами экспериментов на животных”, одобренными II Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2004).

Клеточность тимуса и лимфоузлов определяли в камере Горяева путем подсчета количества ядерных клеток, полученных после мягкой гомогенизации предварительно взвешенного соответствующего органа. Количество антителообразующих клеток (АОК) в селезенке облученных животных определяли по стандартному методу [18]. Исследовали активность реакции бласттрансформации Т-лимфоцитов мышей на митогены фитогемагглютинин (ФГА) и конканавалин А (Кон А) (“Difco”, США; “Wellcome”, Великобритания) и В-лимфоцитов – на липополисахарид (ЛПС) (“Sigma”, США). Трансформирующую активность клеток определяли по уровню включения ^3H -тимидина на счетчике SL-40 (Intertechnique, Франция). Индекс бласттрансформации (индекс стимуляции) клеток вычисляли по формуле: уровень включения ^3H -тимидина в клетки, культивируемые в присутствии митогенов, в отношении к уровню включения ^3H -тимидина в клетки, культивируемые без митогенов [21]. Моноцитарно-макрофагальные клетки получали из экссудата перитонеальной полости животных [12]. Мазки окрашивали азур II – эозином и подсчитывали процентное содержание различных видов клеток. Фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов определяли через 1 ч после инкубации клеток со стафилококком-209, убитым нагреванием, подсчетом количества фагоцитирующих клеток. Кислую фосфатазу и неспецифическую эстеразу в клетках экссудата перитонеальной полости определяли гистохимическим методом [17, 22], средний гистохимический коэффициент (СГК) вычисляли по формуле [13]. Гистологические препараты эндокринных органов (гипофиза, щитовидной железы, надпочечников, поджелудочной железы) окрашивали гематоксилином и эозином. В гипофизе подсчитывали хромофильные и хромофобные ряды клеток передней доли гипофиза (аденогипофиз); вычисляли процентное содержание этих клеток, измеряли площадь клеток и их ядер с помощью окуляр-микрометра и определяли ядерно-цитоплазмное отношение в этих группах клеток [2]. Для гистологического исследования использовали правый надпочечник, а левый – для определения липидов в криостатных срезах, которые окрашивали суданом III и суданом черным В по Лизону [8]. Степень суданофилии оценивали с помощью гистохимического коэффициента [13]. В плазме крови животных радиоиммунологическими методами определяли концентрацию тиреоидных гормонов – тироксина (T_4) и трийодтиронина (T_3), кортикостерона и инсулина (наборы ХОП ИБОХ НАН Бела-

genisation of a preliminary suspended corresponding organ. The number of antibody-forming cells (AFCs) in spleen of irradiated animals was defined according to the standard method [18]. The activity of murine T-lymphocyte blast-transformation response to phytohemagglutinin (PHA) and concanavalin A (Con A) mitogens (Difco, USA; Wellcome, UK) and B-lymphocyte to lipopolysaccharide (LPS) (Sigma, USA), was under study. Transforming activity of cells was determined by the ^3H -thymidine inclusion level using the SL-40 counter (Intertechnique, France). The cell blast-transformation index (stimulation index) was calculated by the formulae: the level of ^3H -thymidine inclusion into the cells, cultured in mitogen presence, towards to the level of ^3H -thymidine inclusion into the mitogen-free cultured ones [21]. Monocyte-macrophage cells were derived from the animal peritoneal cavity exudate [12]. Smears were azure II-eosin stained and the percentage of different cell types was calculated. Phagocyte activity of peritoneal macrophages was defined 1 hr following cell incubation with heat-killed staphylococcus-209 by calculating the number of phagocytic cells. Acid phosphatase and non-specific esterase in exudate cells of peritoneal cavity was determined using the histochemical methods [17, 22], the average histochemical coefficient (AHC) was calculated by the formula [13]. Histological preparations of endocrine organs (hypophysis, thyroid, adrenal glands, pancreas) were stained with hematoxylin and eosin. In hypophysis there were calculated the chromophilic and chromophobic cell rows of anterior lobe of hypophysis (adenohypophysis) and the percentage of these cells; the area of cells and their nuclei was measured by means of ocular-micrometer and the nucleus-cytoplasm ratio in these cell groups was determined [2]. Right adrenal gland was used for histological study and the left one for examining lipids in cryostat sections, stained with sudan III and sudan black B by Lison [8]. The sudanophily extent was estimated with histochemical coefficient [13]. In animal blood plasma there was radioimmunologically determined the concentration of thyroid hormones: thyroxin (T_4) and triiodothyronine (T_3), corticosterone and insulin (kits of Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Belarus). Sugar content in blood plasma was examined by the method [9].

The data were statistically processed by the Student-Fisher method [6] using Excel and Statistica software.

Results and discussion

Cryopreserved bone marrow cell transplantation to the lethally irradiated animals in syngeneic system completely protected them against death. Histological structure of thymus and lymph nodes in the irradiated animals and CSBM cell protected ones recovered to 60 and 30 days, correspondingly. An increase in lymph node and thymus mass started from the 15th day, more-

руси, Беларусь). Содержание сахара в плазме крови определяли по методу [9].

Статистическую обработку данных проводили по методу Стьюдента-Фишера [6] с использованием пакетов программ MS Excel и Statistica.

Результаты и обсуждение

Трансплантация криоконсервированного костного мозга летально облученным животным в сингенной системе полностью защищала их от гибели. Гистологическое строение тимуса у облученных и защищенных клетками КСКМ животных восстанавливалось к 60-м, лимфоузлов – к 30-м суткам. Увеличение массы лимфоузлов и тимуса начиналось с 15-х суток, причем более интенсивно – лимфоузлов, а в интервале между 30–40-ми сутками масса лимфоузлов превышала значения ее в контроле. Масса тимуса возрастала менее интенсивно и только к 60-м суткам достигала значений нормы (рис. 1).

Клеточность и в тимусе, и в лимфатических узлах у животных 2 группы также начинало возрастать с 15-х суток (более интенсивно – в лимфатических узлах) и почти достигало значения этого показателя у intactных животных к 90-м суткам наблюдения (рис. 2).

Количество клеток, отвечающих на ФГА, в тимусе достигало уровня их содержания у intactных животных на 20-е сутки и с незначительными колебаниями сохранялось на этом уровне до конца наблюдения (90 суток). В лимфоузлах количество

over it was more intensive in lymph nodes, but within the interval of 30–40 days the lymph node mass exceeded its control values. Thymus mass increase was less active and only to the 60th day achieved the norm values (Fig. 1).

The cellularity both in thymus and lymph nodes in animals of the 2nd group started to rise from the 15th day (more intensively in lymph nodes) and almost achieved the values of this index in the intact animals to the 90th observation day (Fig. 2).

The number of cells, responding to PHA in thymus reached the level of their content in the intact animals to the 20th day and was kept at this level with slight variation up to the observation end (90 days). In lymph nodes the number of lymphocytes with positive response to PHA changed wave-like without reaching to the 90th day their number in the intact animals (Fig. 3, a).

The amount of T-lymphocytes, responding in blastformation reaction (BFR) to Con A started its statistically significant increase in lymph nodes and thymus from the 20th day, then it was a wave-like change, but in lymph nodes the number of functionally active T-lymphocytes to the 60th day did not differ from their content in the intact animals, but reduced again to the 70th-90th days. The number of functionally active T-lymphocytes in thymus was lower, than that in these cells at all observation stages (Fig. 3, b).

The number of B-lymphocytes in lymph nodes, responding to BTR to LPS in the groups of experimental animals began increasing to the 20th day and to the

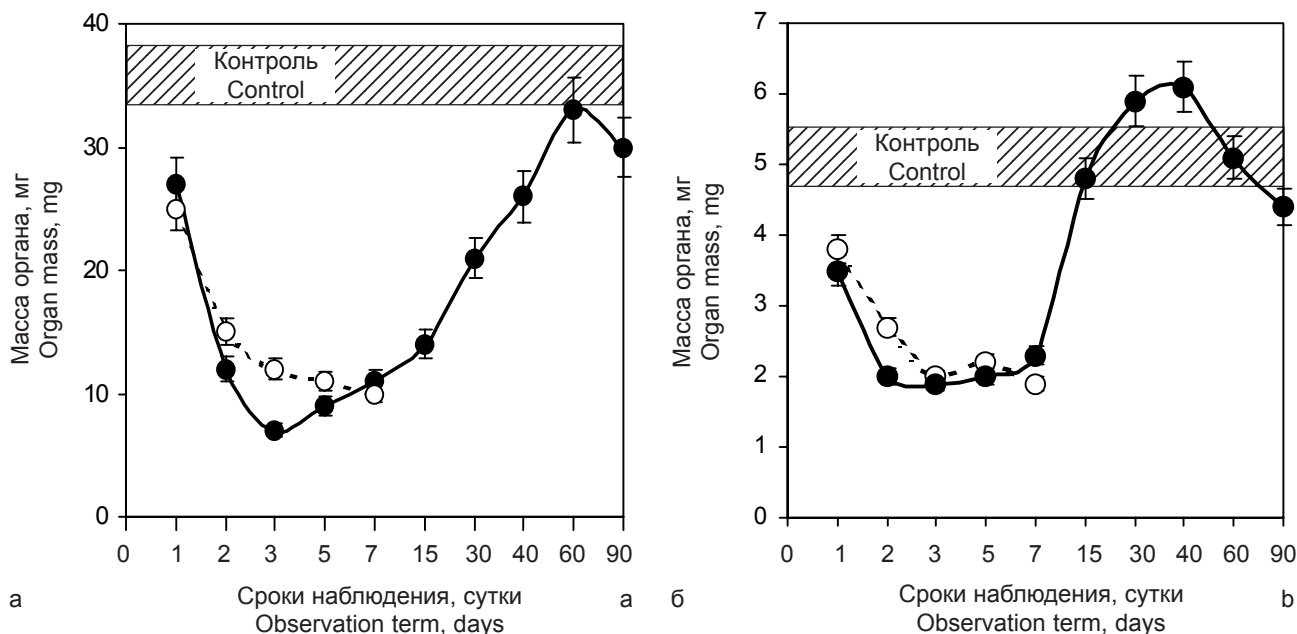


Рис. 1. Изменение массы тимуса (а) и лимфоузлов (б) у летально облученных животных на разных этапах после трансплантации КСКМ: ○ – летально облученные животные; ● – летально облученные животные, защищенные КСКМ; ▨ – контроль.

Fig. 1. Change in thymus (a) and lymph nodes (b) mass in lethally irradiated animals at different stages after CSBM cell transplantation: ○ – lethally irradiated animals; ● – CSBM protected lethally irradiated animals; ▨ – control.

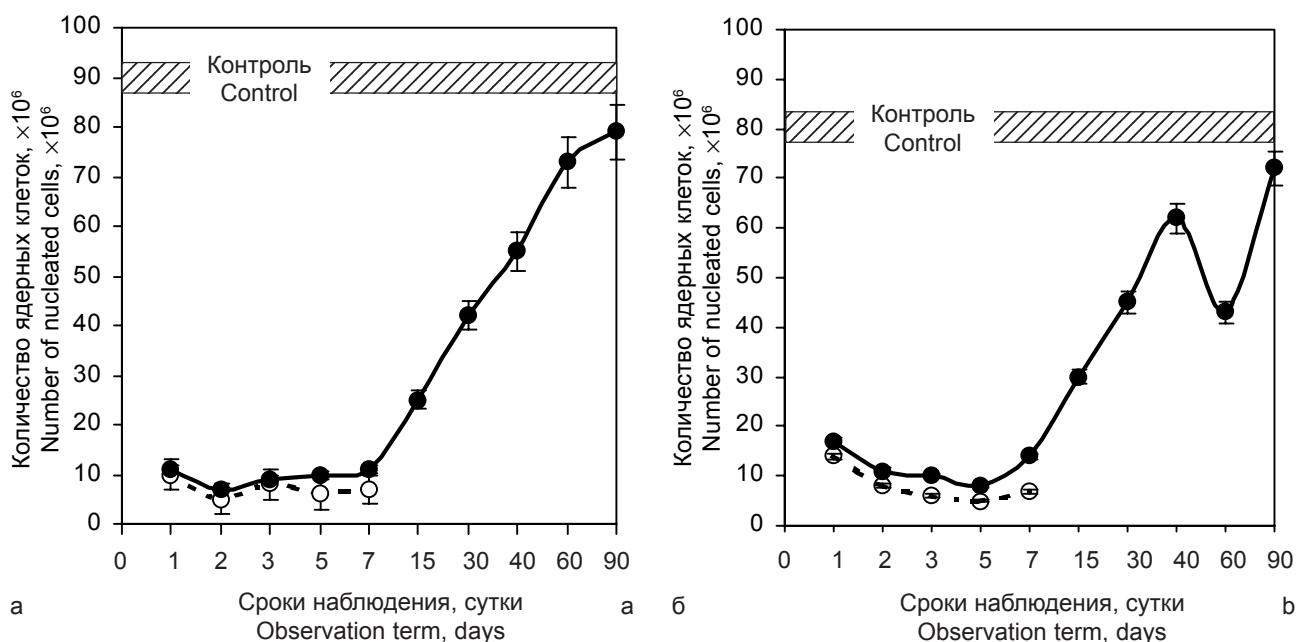


Рис. 2. Количество ядерных клеток в тимусе (а) и лимфоузлах (б) у летально облученных животных на разных этапах после трансплантации КСКМ: ○ – летально облученные животные; ● – летально облученные животные, защищенные КСКМ; ▨ – контроль.

Fig. 2. Number of nucleated cells in thymus (a) and lymph nodes (b) in lethally irradiated animals at different stages after CSBM cell transplantation: ○ – lethally irradiated animals; ● – CSBM protected lethally irradiated animals; ▨ – control.

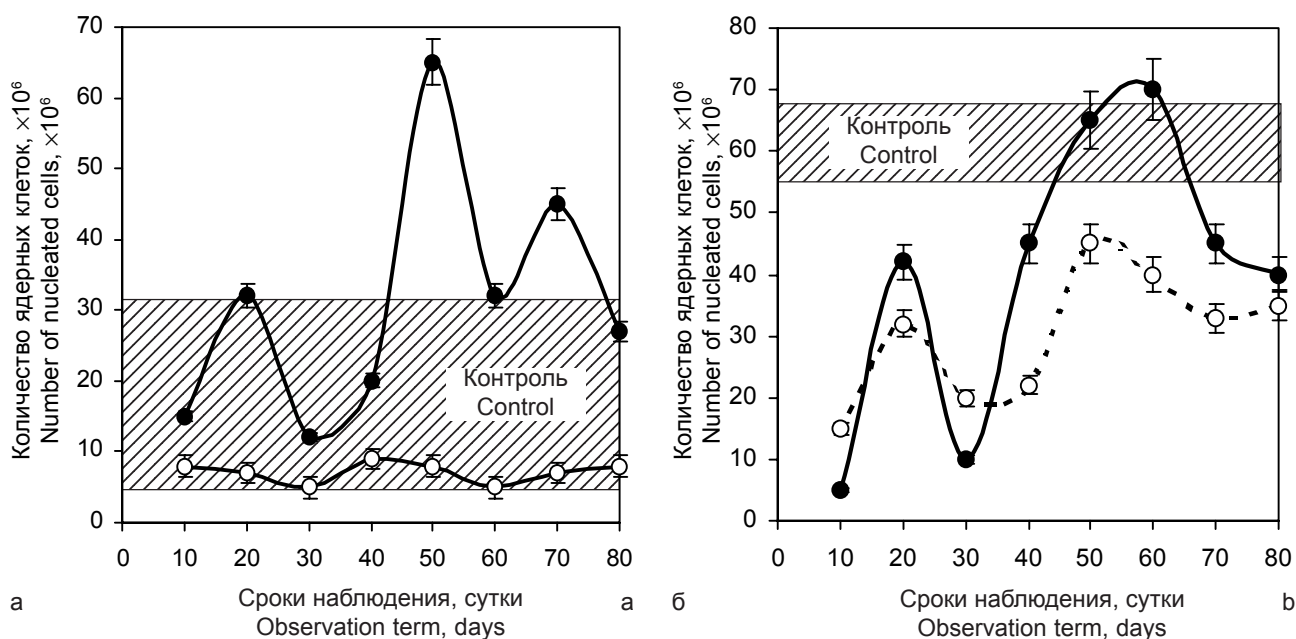


Рис. 3. Ответ на ФГА (а) и Кон А (б) клеток тимуса (○) и лимфоузлов (●) в зависимости от сроков после облучения и трансплантации КСКМ. ▨ – контроль.

Fig. 3. Response to PHA (a) and Con A (b) of thymus (○) and lymph node (●) cells depending on terms after irradiation and CSBM transplantation; ▨ – control.

лимфоцитов, положительно реагирующих на ФГА, изменялось волнообразно, не достигая на 90-е сутки количества у интактных животных (рис. 3, а).

Количество Т-лимфоцитов, отвечающих в реакции бласттрансформации (РБТ) на Кон А, начинало достоверно возрастать в лимфоузлах и тимусе с 20-х суток, далее – изменялось волнообразно, но в лимфоузлах количество функционально актив-

60th one was statistically and significantly lower than the one of functionally active B-lymphocytes in the intact animals (Fig. 4).

During post-transplantation period the AFCs number in spleen of lethally irradiated and CSBM-protected animals began to augment uniformly from the 20th day, but reduced to the 60th one compared to their content in the intact animals (Fig. 5).

ных Т-лимфоцитов к 60-м суткам не отличалось от их содержания у интактных животных, однако снова снижалось к 70–90-м суткам. В тимусе количество функционально активных Т-лимфоцитов было ниже количества этих клеток на всех этапах наблюдения (рис. 3, б).

Количество В-лимфоцитов в лимфоузлах, отвечающих в РБТ на ЛПС, в группах опытных животных начинало возрастать на 20-е сутки, а к 60-м суткам было достоверно ниже количества функционально активных В-лимфоцитов у интактных животных (рис. 4).

В посттрансплантационный период количество АОК в селезенках животных, летально облученных и защищенных КСКМ, начинало равномерно повышаться с 20-х суток, но к 60-м суткам было снижено по сравнению с их содержанием у интактных животных (рис. 5).

Относительное количество макрофагов в интервале между 7-ми и 20-ми сутками было либо достоверно выше, либо не отличалось от их содержания у интактных животных, а начиная с 15-х суток, снижалось по сравнению с их содержанием у интактных животных (рис. 6, а).

Относительное количество моноцитов в перитонеальной полости животных опытной группы в первые 20 суток после облучения и трансплантации костного мозга снижалось, затем возрастало (рис. 6, б).

Количество фагоцитирующих клеток у животных опытной группы было достоверно ниже на всех этапах наблюдения по сравнению с их содержанием у интактных животных (рис. 7).

Активность ферментов, определяющих переваривающую активность фагоцитов (неспецифическая эстераза и кислая фосфатаза) либо не изменялась, либо изменялась волнообразно, достигая исходного уровня на 60-е сутки (рис. 8).

Далее будут рассмотрены морфофункциональные свойства нейроэндокринных органов животных на разных этапах после летального облучения и после трансплантации им КСКМ.

Гипофиз. У летально облученных животных морфологические изменения в ткани передней доли гипофиза наблюдали, начиная с первых суток после облучения. Возрастало количество секреторных клеток с пикнотичными ядрами и вакуолизированной цитоплазмой, преобладали клетки небольших размеров, сосуды были расширены и переполнены кровью. Начиная с 3-х суток, отмечались увеличение количества ацидофильных клеток и снижение количества базофильных и хромофобных клеток по сравнению с их содержанием у интактных животных (таблица). К моменту гибели животных (7–10-е сутки) нарастали дегенеративные изменения в секреторных клетках, большин-

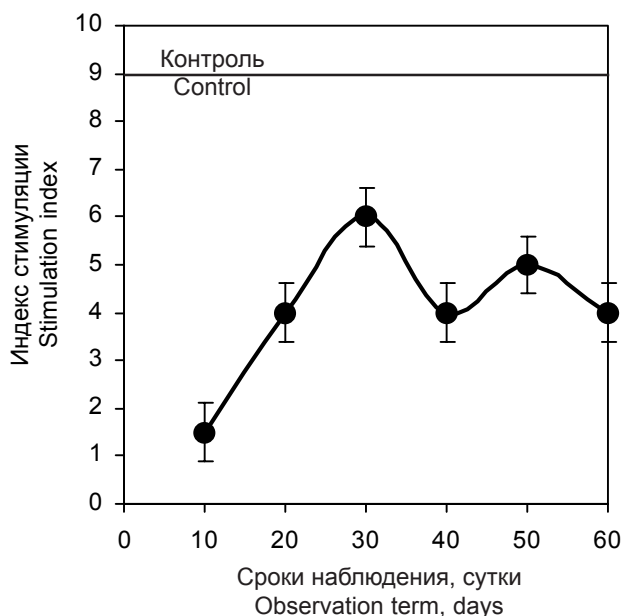


Рис. 4. Ответ клеток лимфоузлов на ЛПС в зависимости от сроков после облучения и трансплантации КСКМ.

Fig. 4. Response of lymph node cells to LPS depending on terms after irradiation and CSBM cell transplantation.

A relative number of macrophages within the interval between 7 and 20 days was either statistically and significantly higher or with no difference from their content in the intact animals, but starting from the 15th day decreased compared to their content in the intact animals (Fig. 6, a).

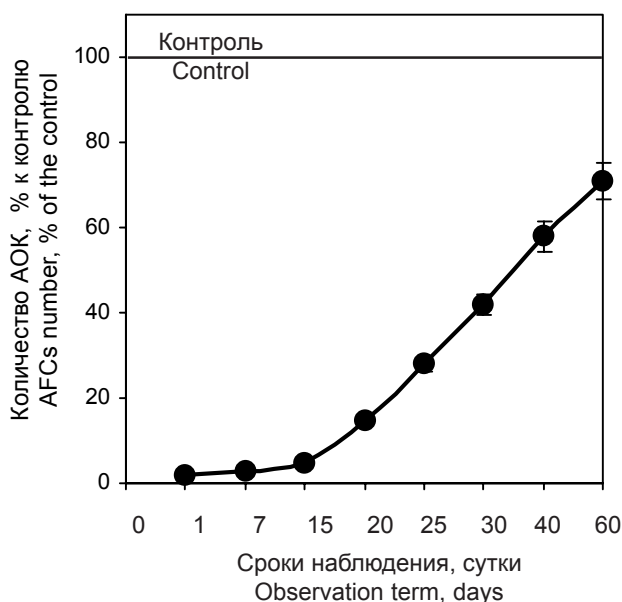


Рис. 5. Содержание антителообразующих клеток (АОК) в селезенке летально облученных и защищенных животных после трансплантации КСКМ.

Fig. 5. Number of antibody-forming cells (AFCs) in spleen of lethally irradiated and protected animals after CSBM cell transplantation.

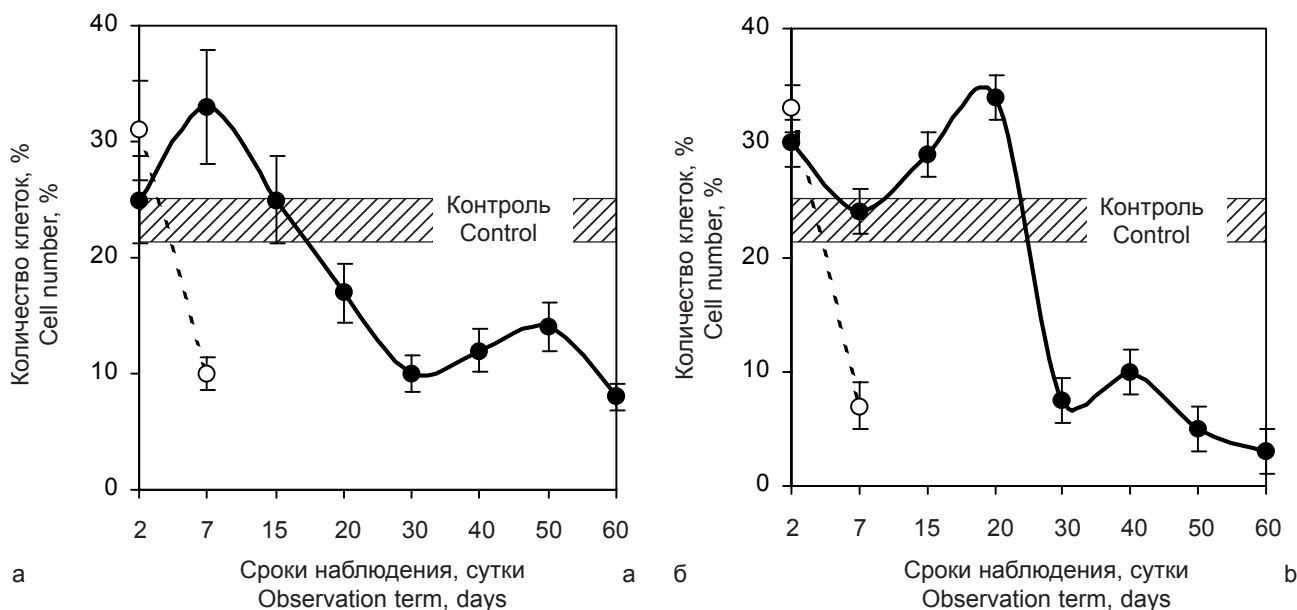


Рис. 6. Количество макрофагов (а) и моноцитов (б) в перитонеальной полости летально облученных мышей в зависимости от сроков после облучения и трансплантации КСКМ: ○ – летально облученные животные; ● – летально облученные животные, защищенные КСКМ; ▨ – контроль.

Fig. 6. Macrophage (a) and monocyte (b) number in peritoneal cavity of lethally irradiated mice depending on terms after irradiation and CSBM cell transplantation: ○ – lethally irradiated animals; ● – CSBM protected lethally irradiated animals; ▨ – control.

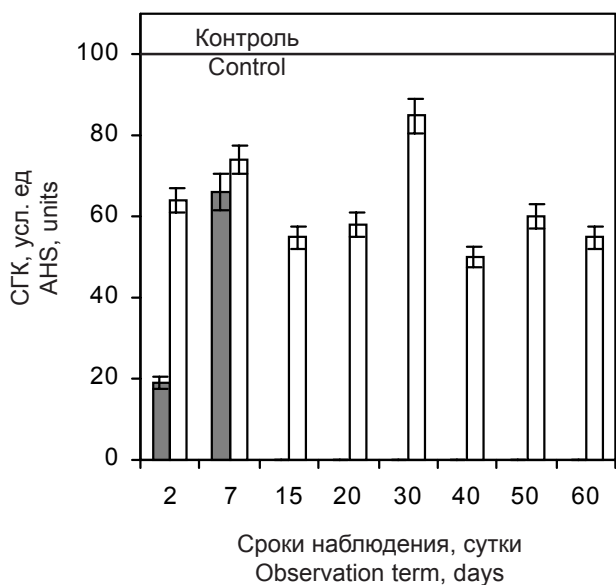


Рис. 7. Количество фагоцитирующих моноцитарно-макрофагальных клеток в перитонеальной полости летально облученных мышей в зависимости от сроков после облучения и трансплантации КСКМ: ■ – летально облученные животные; □ – летально облученные животные, защищенные КСКМ.

Fig. 7. Number of phagocyte monocyte-macrophage cells in peritoneal cavity of lethally irradiated mice depending on terms after irradiation and CSBM cell transplantation: ■ – lethally irradiated animals; □ – CSBM protected lethally irradiated animals.

ство из них разрушались и на их месте определялся клеточный детрит. Величина ядерно-цитоплазматического отношения на первые сутки в базофилах гипо-

A relative number of monocytes in peritoneal cavity of experimental group's animals reduced, then enhanced during first 20 days after irradiation and bone marrow transplantation (Fig. 6, b).

The number of phagocytic cells in animals of experimental group was statistically and significantly lower at all observation stages compared to their content in the intact animals (Fig. 7).

The enzyme activity, determining a digesting activity of phagocytes (non-specific esterase and acid phosphatase) were either unchanged or had the wavelike changes by achieving the initial level to the 60th day (Fig. 8).

Hereinafter we will focus to the morphofunctional properties of animals neuroendocrine organs at different stages after lethal irradiation and CSBM transplantation.

Hypophysis. In the lethally irradiated animals the morphological changes in tissue of hypophysis anterior lobe were observed starting from the first days after irradiation. The number of secretory cells with pyknotic nuclei and vacuolated cytoplasm increased, there were mostly the cells of small size, the vessels were extended and congested. Starting from the 3rd day we noted the augmentation of acidophilic cell number and a decrease in basophilic and chromophobic cells compared to their content in the intact animals (Table). To the moment of animal death (7–10 days) the degenerative changes intensified in secretory cells, the majority of which destroyed with revealing cell detritus at their place. The value of nucleus-cytoplasm ratio to

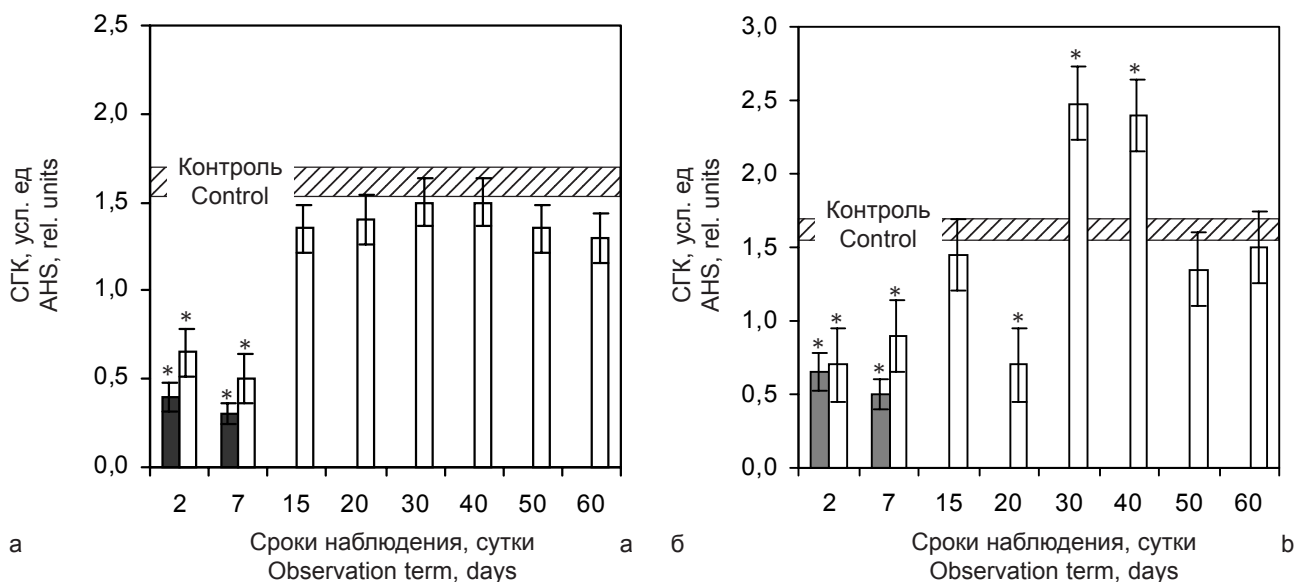


Рис. 8. Активность неспецифической эстеразы (а) и кислой фосфатазы (б) в моноцитарно-макрофагальных клетках перитонеальной полости летально облученных мышей в зависимости от сроков после облучения и трансплантации КСКМ: ■ – летально облученные животные; □ – летально облученные животные, защищенные КСКМ; ▨ – контроль; * – статистически достоверные различия с контрольной группой ($P < 0,05$).

Fig. 8. Activity of non-specific esterase (a) and acid phosphatase (b) in monocytic-macrophage cells of peritoneal cavity of lethally irradiated mice depending on terms after irradiation and SCBM cell transplantation: ■ – lethally irradiated animals; □ – SCBM protected lethally irradiated animals; ▨ – control; * – data with statistically significant differences with the control group ($P < 0.05$).

физа достоверно снижалась по сравнению с аналогичными показателями у интактных животных. На 3-и сутки у ацидофильных клеток эта величина достоверно увеличивалась. К 7–10-м суткам величина ядерно-цитоплазматического отношения у ацидофилов и базофилов не достигала ее уровня у интактных животных.

У летально облученных животных через сутки после трансплантации КСКМ гистологическое строение передней доли гипофиза было сравнимо с таковым у контрольных животных, однако при этом отмечали увеличение количества ацидофилов и тенденцию к снижению количества базофильных и хромофобных клеток. Начиная с 3-х суток, в аденогипофизе увеличивались размеры и кровенаполнение синусов, появлялись секреторные клетки с гиперхромными и пикнотичными ядрами. Увеличение количества ацидофильных клеток и уменьшение количества хромофобных клеток сохранялись на протяжении всего срока наблюдения, а количество базофильных клеток колебалось от минимального значения на 10- и 40-е сутки до максимального – на 20-е сутки, но не превышало значения этого показателя у интактных животных. При анализе ядерно-цитоплазматического отношения во всех секреторных клетках передней доли гипофиза выявлялась тенденция к снижению этого показателя на протяжении всего срока наблюдения у животных 2-й группы с достоверным снижением по сравнению со значением его у интактных жи-

the first day in hypophysis basophils statistically and significantly reduced compared to similar indices in the intact animals. To the 3rd day this value statistically and significantly augmented in acidophilic cells. To the 7th–10th days the value of nuclear-cytoplasm ratio in acidophils and basophils did not achieve its level in the intact animals.

In the lethally irradiated animals one day after CSBM transplantation the histological structure of hypophysis anterior lobe was comparable to that in the control animals, but at the same time there was noted an increase in acidophil number and the tendency to reduction in basophilic and chromophobic cells. Starting from the 3rd day in adenohypophysis there was an increase in size and blood-filling of sinuses, the secretory cells with hyperchromic and pycnotic nuclei appeared. The enhancement of acidophilic cell number and the reduction of chromophobic cell one were preserved within all observation term and a number of basophilic cells varied from the minimum value by the 10th and 40th days up to the maximum one to the 20th day, but not exceeded this index for the intact animals. When analysing the nucleus-cytoplasm ratio in all secretory cells of hypophysis anterior lobe there was found out the tendency to this index reduction within the all observation term in animals of the 2nd group with a statistically significant decrease compared to its value in the intact animals: to the 3rd, 20th, 60th and 90th days in acidophils; to the 7th, 10th, 20th and 60th ones in basophils; to the 10th and 30th

Соотношение количества секреторных клеток в аденогипофизе и их ядерно-цитоплазменное отношение у летально облученных мышей линии (CBA×C57B1)_{F₁} после трансплантации КСКМ

Secretory cell content in adenohipophysitis and their nucleus to cytoplasm ratio in lethally irradiated mice of (CBA×C57B1)_{F₁} line after CSBM cell transplantation

Сроки наблюдения, сутки Observation terms, days	Типы клеток в аденогипофизе мышей Cell types in murine adenohipophysitis					
	Количество клеток, % Cell number, %	Ацидофильные Acidophilic	Базофильные Basophilic		Хромофобные Chromophobic	
		Ядерно-цитоплазменное отношение, отн. ед. Nucleus to cytoplasm ratio, rel. units	Количество клеток, % Cell number, %	Ядерно-цитоплазменное отношение, отн. ед. Nucleus to cytoplasm ratio, rel. units	Количество клеток, % Cell number, %	Ядерно-цитоплазменное отношение, отн. ед. Nucleus to cytoplasm ratio, rel. units
Контроль (интактные животные) Control (intact animals)						
	54,0 ± 1,23	1,20	7,5 ± 0,29	1,15	38,5 ± 3,12	0,95
Летальное облучение Lethal irradiation						
1	59,3 ± 2,31	1,20	4,7 ± 0,31	0,51*	37,0 ± 2,17	0,98
3	63,1 ± 1,93*	1,70*	5,2 ± 0,17	0,63*	31,7 ± 2,38	0,90
7	76,2 ± 2,01*	0,56*	6,1 ± 0,51	0,64*	17,7 ± 1,27*	0,82
10	76,9 ± 2,09*	0,51*	5,1 ± 0,72	0,61*	18,0 ± 1,15*	0,81
Трансплантация КСКМ CSBM cell transplantation						
1	63,0 ± 1,17*	1,02	5,0 ± 0,17	1,06	32,0 ± 2,01	0,92
3	57,0 ± 1,95	0,85*	3,9 ± 0,11*	1,09	29,1 ± 1,51*	0,80
7	65,5 ± 1,31*	1,17	6,5 ± 0,31	0,76*	28,0 ± 1,73*	0,93
10	64,0 ± 1,27*	1,09	2,0 ± 0,25*	0,80*	29,0 ± 2,17	0,50*
20	59,0 ± 1,86	0,60*	7,0 ± 0,18	0,79*	23,7 ± 1,01*	0,90
30	60,8 ± 2,05*	0,99	6,9 ± 0,09	0,87	27,0 ± 2,99	0,65*
40	58,7 ± 1,95	1,01	2,2 ± 0,11*	0,95	25,6 ± 1,05*	0,91
60	59,8 ± 3,01	0,80*	3,7 ± 0,06*	0,67*	27,5 ± 1,11*	0,70
90	61,4 ± 1,80	0,80*	4,9 ± 0,12	0,99	27,7 ± 1,45*	0,60

Примечание: * – достоверные различия данных по сравнению с контролем (P < 0,05).

Notes: * – statistically significant differences comparing to the control data (P < 0,05).

вотных: у ацидофилов – на 3-, 20-, 60- и 90-е сутки; у базофилов – на 7-, 10-, 20- и 60-е сутки; у хромофобных клеток – на 10- и 30-е сутки. Начиная с 10-х суток, развивались процессы восстановления гистологического строения аденогипофиза, увеличивались размеры секреторных клеток, особенно на 40-е сутки. К 90-м суткам гистологическое строение ткани передней доли гипофиза у летально облученных и защищенных КСКМ животных восстанавливалось.

ones in chromophobic cells. From the 10th day the recovery processes of adenohipophysitis histological structure developed and the size of secretory cells augmented, especially to the 40th day. To the 90th day a histological structure of tissue of anterior hypophysitis lobe in lethally irradiated and CSBM-protected animals recovered.

Thyroid gland. In the lethally irradiated animals one day after irradiation the size of thyroid gland follicles differed by heterogeneity (from average to large

Щитовидная железа. У летально облученных животных спустя сутки после облучения размеры фолликулов щитовидной железы отличались гетерогенностью (от средних до крупных), большинство фолликулов были выстланы уплощенным эпителием и содержали плотный коллоид, вакуоли резорбции отсутствовали. В межфолликулярных пространствах местами определялись мелкие очаги кровоизлияния. На 3-и сутки, наряду с описанными изменениями, появлялись частично либо полностью дезинтегрированные фолликулы, содержащие сморщенный коллоид. На 7–10-е сутки увеличивалось количество кровоизлияний в межфолликулярные пространства. Коллоид в фолликулах был неплотной консистенции с мелкими вакуолями резорбции, что, по-видимому, связано с выбросом секрета в кровь. Содержание тиреоидных гормонов в сыворотке крови волнообразно колебалось. Так, уровень T_3 на протяжении 10 суток после облучения не достигал контрольного уровня, тогда как уровень T_4 на первые и 10-е сутки достоверно увеличивался по сравнению с контролем, а на 7-е – снижался (рис. 9).

После летального облучения и трансплантации КСКМ на первые сутки в щитовидной железе эпителий, выстилающий фолликулы, сохранял кубическую форму. По периферии железы фолликулы были небольших размеров, а к центру их размеры увеличивались. Коллоид был густым, с единичными вакуолями резорбции. На 7-е сутки наблюдали дезинтеграцию части фолликулов и наличие кровоизлияния в межфолликулярные пространства. Фолликулы были средних размеров, содержали плотный коллоид с микротрещинами и мелкими вакуолями резорбции. На 60–90-е сутки строение железы частично восстанавливалось. В эти же сроки в межфолликулярном пространстве отмечались участки с группами эпителиальных клеток, которые могли быть остатками разрушенных фолликулов или ранней стадией образования новых фолликулов. На 1–3-и сутки уровень T_3 в сыворотке крови у этой группы животных не изменялся по сравнению с интактными животными, тогда как на 7-, 10- и 40-е сутки – увеличивался. К 20-, 60- и

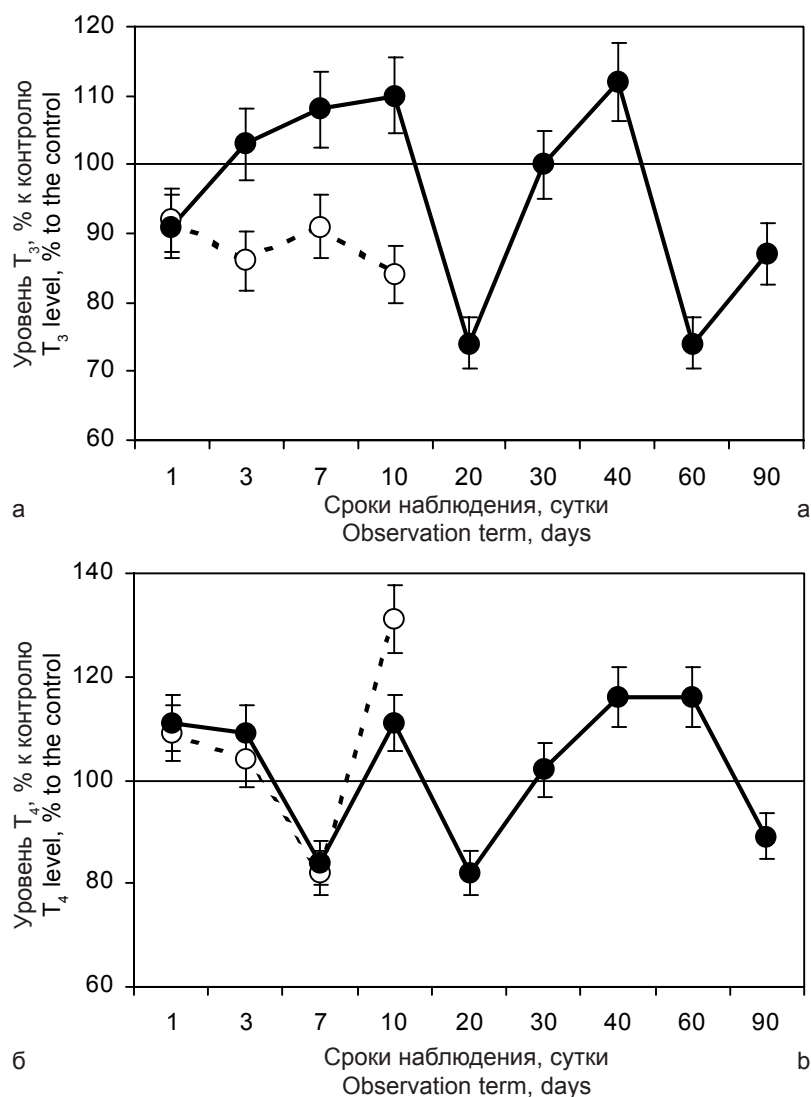


Рис. 9. Содержание тиреоидных гормонов T_3 (а) и T_4 (б) в сыворотке крови летально облученных животных после трансплантации КСКМ. ○ – летально облученные животные; ● – летально облученные животные, защищенные КСКМ; линия – контроль.

Fig. 9. Content of T_3 (a) and T_4 (b) thyroid hormones in blood serum of lethally irradiated animals after SCBM cell transplantation: ○ – lethally irradiated animals; ● – SCBM protected lethally irradiated animals; solid line is control value.

ones), the most follicles were covered with flattened epithelium, comprised a dense colloid and no resorption vacuoles. Somewhere the small foci of haemorrhage in the interfollicle spaces were detected. To the 3rd day together with the described changes there were appeared the partially or completely absent disintegrated follicles with a contracted colloid. To the 7th–10th days the number of haemorrhages into the interfollicle spaces augmented. A colloid in follicles was of loose consistence with small vacuoles of resorption, apparently associated to the secretion discharge into blood. Thyroid hormone content in blood serum changed in a wave-like way. Thus, the T_3 level during 10 days after irradiation did not reach the control level, meanwhile the T_4 one statistically and significantly increa-

90-м суткам отмечалось достоверное снижение уровня T_3 по сравнению с его содержанием у интактных животных (рис. 9, а). Содержание T_4 в сыворотке крови животных, которым вводили КСКМ, на 1-, 3-, 10-, 40- и 60-е сутки увеличивалось по сравнению с его содержанием у интактных животных, тогда как на 7-, 20- и 90-е сутки оно снижалось. На 30-е сутки уровень T_4 не отличался от его содержания у интактных животных (рис. 9, б).

Надпочечники. Изменения гистологического строения надпочечников у летально облученных животных наблюдались спустя сутки после облучения: увеличивались размеры коркового и уменьшались размеры мозгового слоев, наблюдались полнокровие органов. В клетках обнаруживались вакуолизация цитоплазмы, особенно в пучковой зоне, пикноз и лизис ядер, стертость клеточных границ, очаги кровоизлияний. Отмеченные гистологические изменения сохранялись вплоть до гибели животных. Количество липидов в первые сутки после облучения, особенно в клетках пучковой зоны, было достоверно ниже контрольного уровня, а начиная с 3-х суток, оно увеличивалось и к началу массовой гибели животных (10 суток) резко снижалось (рис. 10).

В первые сутки после облучения и трансплантации КСКМ в надпочечниках увеличивались размеры пучковой зоны за счет гипертрофии клеток, наблюдалось полнокровие органов. Деструктивные изменения в клетках клубочковой и пучково-сетчатой зон у животных этой группы были менее выражены, чем у летально облученных животных, не защищенных трансплантацией КСКМ, в этот же срок наблюдения. На 10–20-е сутки в коре надпочечников наблюдали единичные клетки с пикнотичными и лизированными ядрами. К 30–40-м суткам гистологическое строение коры надпочечников нормализовалось. Изменение количества липидов носило волнообразный характер. Содержание липидов в клетках коры в первые сутки достоверно снижалось, а к 3-м суткам возрастало, достигая значения этого показателя у интактных животных. Достоверно увеличивалось количество липидов у животных этой группы на 7-е сутки, а к 10-м суткам содержание их приближалось к уровню интактных животных. Второй максимум накопления липидов приходился на 20-е сутки, а в интервале между 30- и 40-ми сутками их количество снижалось. Начиная с 60-х суток, суданофилия в клетках вновь возрастала, достигая уровня таковой у контрольных животных (рис. 10).

Содержание кортикостерона в сыворотке крови летально облученных животных было выше, чем у интактных животных, особенно на 4–5-е сутки,

sed to the 1st and 10th days compared to the control, but reduced to the 7th one (Fig. 9).

To the 1st day after lethal irradiation and CSBM transplantation the epithelium, covering follicles, in thyroid gland preserved a cubic form. Peripheral gland follicles were small, but their size augmented to the center. Colloid was dense, with single resorption vacuoles. To the 7th day a part of follicles disintegrated and the haemorrhages into interfollicle spaces were revealed. Follicles were of middle size, comprising a dense colloid with microfractures and small resorption vacuoles. To the 60th–90th days the gland structure was partially recovered. Within these terms the sites with groups of epithelial cells, which might be either residuals of destroyed follicles or early stage of new follicle formation, were observed in an interfollicular space. To the 1st–3rd days the T_3 level in blood serum in this group's animals remained unchanged compared to the intact animals, meanwhile it increased to the 7th, 10th and 40th ones. To the 20th, 60th and 90th days there was observed a statically significant reduction of T_3 level compared to its content in the intact animals (Fig. 9, a). To the 1st, 3rd, 10th, 40th and 60th days the T_4 content in blood serum of animals with introduced CSBM augmented compared to its content in the intact animals, meanwhile it decreased to the 7th, 20th and 90th ones. To the 30th day the T_4 level did not distinguish from its content in the intact animals (Fig. 9, b).

Adrenal glands. Changes in adrenal gland histological structure in lethally irradiated animals were observed a day later irradiation: sizes of cortical and medullar layers increased and reduced, correspondingly, the organs plethora was observed. In cells the cytoplasm vacuolisation, especially in zona fasciculata, nuclear pycnosis and lysis, blurring of cell edges, hemorrhagic foci, were observed. The noted histological changes were preserved till animal death. Lipid amount in the 1st day after irradiation especially in cells of zona fasciculata was statistically and significantly lower than the control level, but starting to the 3rd day it augmented and to the beginning of mass animal death sharply decreased (10 days) (Fig. 10).

Within the first day after irradiation and CSBM cell transplantation in adrenal glands there was an increase in *zona fasciculata* size due to cell hypertrophy, the organ plethora was observed. Destructive changes in cells of glomerular and fascicular-reticular zones in animals of this group were less manifested, than in lethally irradiated ones, not protected with CSBM cell transplantation within the same observation term. To the 10th–20th days on adrenal cortex there were observed the single cells with pycnotic and lysed nuclei. To the 30th–40th days a histological structure of adrenal cortex normalised. A change in lipid number

с достоверным снижением на 7–10-е сутки (рис. 11, а). Уровень кортикостерона в сыворотке крови у летально облученных и защищенных КСКМ реципиентов в первые трое суток и на 10-е сутки после трансплантации костного мозга увеличивался, а на 5- и 20-е сутки снижался по сравнению с его содержанием у интактных животных. К 90-м суткам уровень гормона был достоверно ниже его значения у интактных животных.

Поджелудочная железа. В первые сутки после летального облучения мышей наиболее выраженные деструктивные изменения отмечались в экзокринной части железы. В стенках сосудов наблюдали набухание эндотелия и пикноз ядер в его клетках, обнаруживались множественные участки микронекрозов. Ацинусы были уменьшены в размерах. Наиболее выраженные деструктивные изменения в ацинарной паренхиме наблюдали на 7-е сутки. В ацинусах в этот период появлялись двоядерные ацинарные клетки. В большинстве островков Лангерганса на 3-и сутки обнаружены расширенные межклеточные пространства, клетки с гипо- и гиперхромными ядрами. Островки были окружены хорошо контурирующейся соединительной тканью. На 7-е сутки после облучения наблюдали островки, потерявшие свои четкие контуры. Уровень сахара и инсулина в крови в первые сутки достоверно снижался в 1,5–2 раза по сравнению с содержанием их у интактных животных. Количество сахара достигало минимального значения на 5–10-е сутки, а инсулина – на 1-е и 3-и сутки. На 5-е

was of wave-like character. The lipid content in cortex cells within the first day statistically and significantly decreased, but augmented to the 3rd one, by achieving this index values in the intact animals. There was a statistically significant augmentation of lipid number in the animals of this group to the 7th day, but their content approached to the level of intact animals to the 10th one. The second maximum of lipid accumulation was to the 20th day, but within the interval between the 30th and 40th days their number reduced. Beginning from the 60th day the sudanophilia in cells enhanced again, by achieving that level in the control animals (Fig. 10).

The corticosterone content in blood serum of lethally irradiated animals was higher than in the intact ones, especially to the 4th–5th days with a statistically significant decrease to the 7th–10th ones (Fig. 11, a). The corticosterone level in blood serum of lethally irradiated and CSBM-protected recipients during first three days and to the 10th one after bone marrow transplantation augmented, but to the 5th and 20th ones decreased compared to its content in the intact animals. By the 90th day the hormone level was statistically and significantly lower, than its values in the intact animals.

Pancreas. During first day after mice lethal irradiation the most pronounced destructive changes were noted in an exocrine part of gland. The endothelium swelling and nuclear pycnosis in its cells were seen in vessel walls, the numerous sites of micronecroses were revealed. The acini were diminished in size. The most pronounced destructive changes in acinar

parenchyma were observed to the 7th day. In the acini within this period the binuclear acinar cells appeared. In the majority of Langerhans islets to the 3rd day there were found out the extended intercellular spaces, cells with hypo- and hyperchromic nuclei. The islets were surrounded with well-contoured connective tissue. To the 7th day after irradiation the islets, lost their distinct contours, were seen. The sugar and insulin levels in blood within the first day was 1.5–2 times statistically and significantly decreased compared to their content in the intact animals. The sugar and insulin amounts achieved the minimum value to the 5th–10th and 1st–3rd days, correspondingly. To the 5th day the insulin amount enhanced, but without reaching its level in the intact animals (Fig. 11, b).

In the lethally irradiated CSBM-protected animals during first three days the histological changes of acinar tissue were similar to those in the

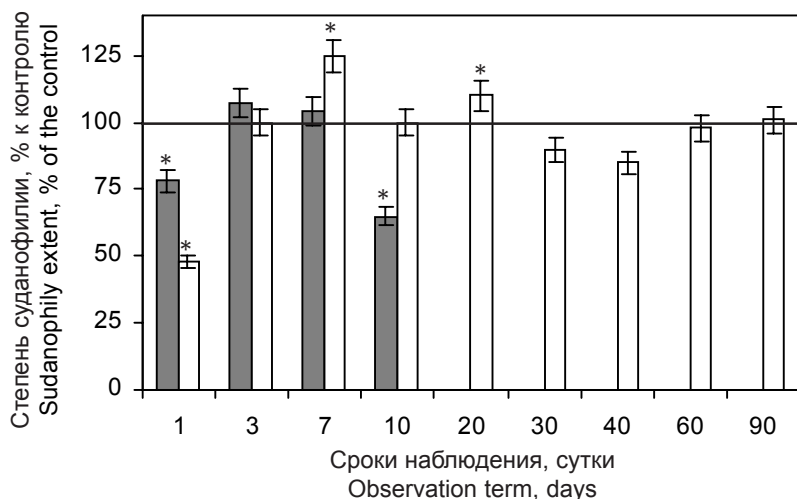


Рис. 10. Степень суданофилии в надпочечниках летально облученных мышей в разные сроки после трансплантации КСКМ: ■ – летально облученные животные; □ – летально облученные животные, защищенные КСКМ; линия – контроль; * – статистически достоверные различия с контрольной группой ($P < 0,05$).

Fig. 10. Sudanophily extent in adrenal glands of lethally irradiated mice within different terms after SCBM cell transplantation: ■ – lethally irradiated animals; □ – SCBM protected lethally irradiated animals; solid line is control value; * – data with statistically significant differences with the control group ($P < 0.05$).

сутки количество инсулина повышалось, но не достигало его уровня у интактных животных (рис. 11, б).

У летально облученных животных, защищенных КСКМ, на протяжении первых 3-х суток гистологические изменения ацинарной ткани были аналогичны изменениям у летально облученных животных, начиная с 3-х суток, в островках Лангерганса появлялись единичные митотически делящиеся клетки. На 7-е сутки в ацинарной ткани наблюдали двуядерные клетки. В инсулярных островках видимые гистологические изменения не отмечены до конца наблюдений (90 суток). На 10–20-е сутки в экзокринной ткани еще встречались единичные двуядерные ацинарные клетки, а к 40–90-м суткам гистологическое строение экзокринной части поджелудочной железы частично нормализовалось.

Уровень сахара и инсулина в крови 2-й группы животных на протяжении первых суток достоверно снижался. Количество сахара на 5-е сутки и количество инсулина на 7-е сутки повышалось, достигая их значения у интактных животных. Уровень сахара снижался на 10-, 20- и 30-е сутки, а уровень инсулина снижался только на 30-е сутки. Начиная с 40-х суток, содержание сахара в крови нормализовалось и не изменялось до конца наблюдения (90 суток), а уровень инсулина достоверно увеличивался на 40- и 90-е сутки (рис. 11, в).

Представленные результаты свидетельствуют о том, что степень радиочувствительности структур эндокринных органов различна. Так, экзокринная ткань поджелудочной железы страдает больше, чем эндокринная; в гипофизе (аденогипофизе) нарушается соотношение хромофильных и хромофобных клеток, а также ядерно-цитоплазматическое отношение в этих клетках в сторону уменьшения значения этого показателя (таблица); в надпочечниках наиболее выраженные повреждения отмечаются в корковом слое. Для всех органов характерны кровоизлияния, появления очагов некроза, изменение морфологии клеток, особенно их ядер.

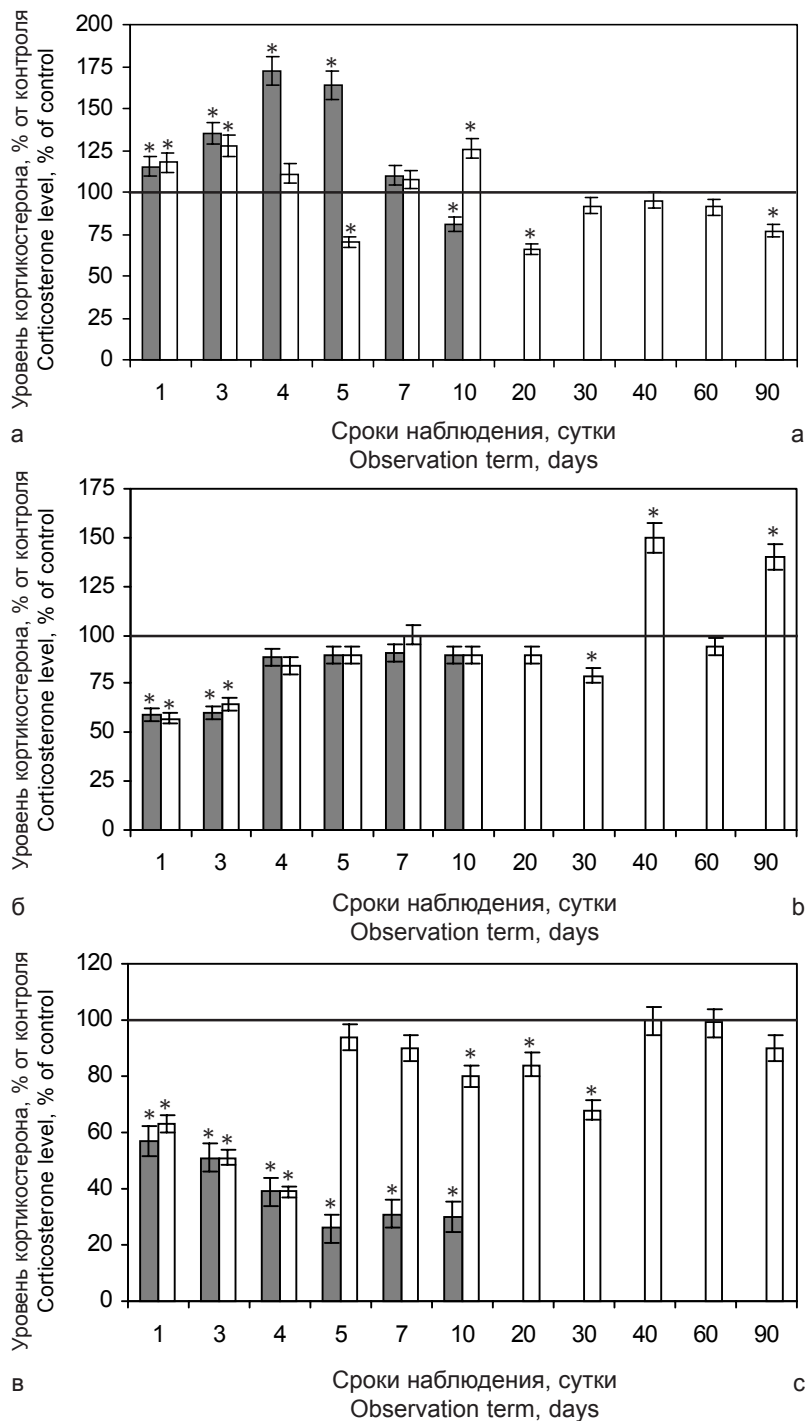


Рис. 11. Содержание кортикостерона (а), инсулина (б) и сахара (в) в сыворотке крови летально облученных мышей в разные сроки после трансплантации КСКМ: ■ – летально облученные животные; □ – летально облученные животные, защищенные КСКМ; линия – контроль; * – статистически достоверные различия с контрольной группой ($P < 0,05$).

Fig. 11. Content of corticosterone (a), insulin (b) and sugar (c) in blood serum of lethally irradiated mice within different terms after SCBM cell transplantation: ■ – lethally irradiated animals; □ – SCBM protected lethally irradiated animals; solid line is control value; * – data with statistically significant differences with the control group ($P < 0.05$).

lethally irradiated ones, starting from the 3rd day in the Langerhans islets the single mitotically dividing cells, appeared. To the 7th day the binuclear cells were

В результате трансплантации КСКМ летально облученные реципиенты выживали, у них отмечалось восстановление морфофункциональных свойств органов лимфомиелоидного комплекса, что способствовало развитию репаративных процессов в эндокринных органах. Активность течения репаративных процессов в разных структурах эндокринных органов отличается. Так, структура экзокринной ткани поджелудочной железы начинает восстанавливаться позже, чем эндокринной, и даже через 3 месяца полностью не восстанавливается. Гистологическое строение эндокринных органов начинает восстанавливаться с появления в них морфологически сохранных клеток, секретирующих гормоны в гипофизе, щитовидной железе, надпочечниках и поджелудочной железе, а также с появления пролиферирующих клеток. В щитовидной железе обнаруживаются группы межфолликулярных клеток, из которых впоследствии будут формироваться новые фолликулы. Процессы кровообращения в эндокринных органах нормализуются, исчезают очаги некроза. Динамика изменения уровня гормонов в периферической крови животных, защищенных КСКМ, носит волнообразный характер. Однако уровень гормонов (кортикостерона, T_3 , T_4 , инсулина) не достигает значений контрольной группы.

Учитывая важную роль нейроэндокринной регуляции процессов гемопоэза и иммуногенеза, можно допустить, что причинами задержки процесса полного восстановления морфофункциональных свойств органов лимфомиелоидного комплекса являются замедление процессов восстановления морфофункциональных свойств органов нейроэндокринной системы и нарушение гормонального статуса организма.

Таким образом, приведенные результаты свидетельствуют о том, что скорость и полнота восстановления морфофункциональных свойств органов лимфомиелоидного комплекса находятся в зависимости от скорости и полноты восстановления морфофункциональных свойств органов нейроэндокринной системы. В свою очередь биологически активные вещества, монокины, пептиды, продуцируемые клетками органов лимфомиелоидного комплекса, также принимают активное участие в регуляции процессов гистогенеза и продукции гормонов в нейроэндокринных органах [10].

Можно допустить, что на ранних стадиях филогенеза разные коммитированные стволовые клетки при миграции могут оседать в различных участках тела эмбриона, но генетически коммитированные клетки формируют только те органы или ткани, где находится родственное микроокружение [5]. Остальные стволовые коммитированные клетки,

determined in an acinar tissue. No visible histological changes were seen until observation end in the insular islets (90th day). To the 10th–20th days the single binuclear acinar cells were met in an exocrine tissue, but to the 40th–90th ones a histological structure of exocrine part of pancreas was partially normalised.

Sugar and insulin levels in blood of the 2nd group of animals during the first day statistically and significantly reduced. Sugar amount to the 5th day and that of insulin to the 7th one augmented, by achieving their values in the intact animals. Sugar level reduced to the 10th, 20th and 30th days, but that of insulin diminished only to the 30th one. Starting from the 40th day the sugar content in blood normalised and remained unchanged until the observation end (90th day), but the insulin level statistically and significantly increased to the 40th and 90th days (Fig. 11, c).

The presented findings testify to the fact, that the radiosensitivity extent in structures of endocrine organs is different. Thus, an exocrine tissue of pancreas suffers more than an endocrine one; in hypophysis (adenohypophysis) the ratio of chromophilic and chromophobic cells is impaired, as well as the nucleus-cytoplasm ratio in these cells is changed towards reduction of this index value (Table). In adrenal glands the most pronounced damages are seen in a cortical layer. The haemorrhages, appearance of necrosis foci, change in cell morphology, especially in their nuclei, are typical for all organs.

The CSBM cell transplantation resulted in a survival of lethally irradiated recipient, along with a recovery of morphofunctional properties of lymphomyeloid organs, furthering to the reparative process development in the endocrine organs. The activity of reparative process proceeding in various structures of endocrine organs is different. Thus, the structure of pancreas exocrine tissue begins to recover later, than the endocrine one, being not completely recovered 3 months later. Histological structure of endocrine organs is recovered starting from the appearance in them of morphologically integral cells, secreting hormones in hypophysis, thyroid and adrenal glands, pancreas, as well as from an uprising of proliferating cells. The groups of interfollicular cells, from which the new follicles will be formed in future, are found out in thyroid gland. Blood circulation in endocrine organs normalises, the necrosis foci disappear. The dynamics of change in hormone level in peripheral blood of CSBM cell protected animals is of wave-like character. However the level of hormones (corticosterone, T_3 , T_4 , insulin) does not achieve the control group's values.

Taking into account an important role of neuroendocrine regulation of hemopoiesis and immunogenesis processes, we may assume the slowing down

попавшие туда, где нет условий для их дифференцировки и созревания, находятся в покоящемся состоянии [5]. Когда гетерогенные суспензии популяций стволовых клеток вводятся в организм реципиента, эти клетки, мигрируя в кровяном русле, могут попадать в родственное микроокружение, способствующее реализации ими специфических функций [5]. В этой связи можно предположить, что в суспензиях миелокариоцитов наряду со стволовыми кроветворными клетками находятся и коммитированные стволовые некроветворные клетки, которые могут принимать участие в процессах гистогенеза эндокринных органов и способствуют восстановлению их морфофункциональных свойств.

Исходя из вышеизложенного, можно допустить, что причиной возникновения реакции “трансплантат против хозяина” (РТПХ) при трансплантации аллогенных стволовых клеток может быть не только развитие иммунной реакции аллогенных иммунокомпетентных лимфоцитов донора против клеток реципиента, но также и отторжение трансплантата стволовых клеток. При этом не восстанавливаются кроветворная и иммунокомпетентная системы реципиента, в результате чего не восстанавливаются и морфофункциональные свойства эндокринных органов и, как следствие, может развиваться гипопитарная кахексия, которая имеет сходную клиническую картину с синдромом РТПХ.

Выводы

Полученные результаты обосновывают необходимость специфической стимуляции процессов репарации эндокринных органов у летально облученных животных и человека с помощью комбинированного введения стволовых кроветворных и некроветворных клеток, находящихся в суспензии криоконсервированных миелокариоцитов и суспензии клеток, полученных из тканей эндокринных органов эмбрионов и трупного материала.

Литература

1. *Абдулкадыров К.М., Шабалин В.Н.* Трансплантация костного мозга.– Л.: Медицина, 1976. – 136 с.
2. *Автандилов Г.Г.* Морфометрия в патологии. – М.: Медицина, 1973.– 248 с.
3. *Бутото Н.В.* Трансплантация костного мозга при лучевых поражениях.– Л.: Медицина, 1970.– 191 с.
4. *Гомеостаз* / Под ред. П.Д. Горизонтова. – М.: Медицина, 1981.– 576 с.
5. *Кухарчук А.Л., Радченко В.В., Сирман В.М.* Стволовые клетки: эксперимент, теория, клиника. Эмбриональные, мезенхимальные, нейральные и гемопоэтические стволовые клетки.– Чернівці, 2004.– 505 с.

in recovery of morphofunctional properties of neuroendocrine organs and disorder in organism's hormonal status to be the causes of delaying in a complete recovery of morphofunctional properties of lymphomyeloid organs.

Thus, the mentioned findings testify to the fact that the rate and completeness of the recovery of morphological properties of lymphomyeloid organs are dependent on those for neuroendocrine organs. In their turn, biologically active substances, monokines, peptides, produced by cells of lymphomyeloid organs, take an active part in regulating histogenesis and hormone production in neuroendocrine organs as well [10].

We may assume, that at early stages of phylogenesis, different committed stem cells during migration may be settled in different sites of embryo body, but genetically committed cells form only those organs or tissues, where an affined microenvironment is located [5]. The rest committed stem cells, if occurring the place with no conditions for their differentiation and maturation, remain in a quiescent state [5]. When the heterogeneous suspensions of stem cell populations are introduced into recipient's organism, these cells, by migrating within blood channel, may find an affined microenvironment, furthering to the realisation by them of specific functions [5]. In this connection we may suggest that in myelokaryocyte suspensions together with the stem hemopoietic cells are also located the committed stem hemopoietic cells, which may participate in endocrine organ histogenesis and contribute to recovery of their morphofunctional properties.

Proceeding from the mentioned above, we may suggest that not only the development of immune response of donor's allogenic immune competent lymphocytes versus recipient's cells, but the rejection of stem cell transplant as well may be the causes for GVH-disease occurrence during allogenic stem cell transplantation. At the same time the hemopoietic and immune competent systems of a recipient are not recovered, resulting in recovery failure of morphofunctional properties of endocrine organs as well, and as a consequence, the hypophyseal cachexia may develop, having the similar picture with GVH-syndrome.

Conclusions

The results obtained substantiate the necessity of a specific stimulation of reparative processes of endocrine organs in the lethally irradiated animals and humans using a combined introduction of stem hemopoietic and non-hemopoietic cells, being in suspension of cryopreserved myelokaryocytes and that of cells, derived from tissue of embryonic endocrine organs and cadaver material.

6. *Лакин Г.Ф.* Биометрия.– М.: Высш. школа, 1990.– 352 с.
7. *Лищук В.А., Лорд Б., Павлович-Кантера В. и др.* Гомеостаз и регуляция физиологических систем организма.– Новосибирск, 1992.– 152 с.
8. *Луппа Х.* Основы гистохимии: Пер. с нем.– М.: Мир, 1980.– 127 с.
9. *Райцис А.Б., Устинова А.О.* Метод определения уровня сахара в крови // Лаб. дело. – 1965. – № 1. – С. 33-36.
10. *Румянцев А.Г., Масчан А.А.* Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у детей: Руководство для врачей.– М., 2003.– 912 с.
11. *Цуцаева А.А., Гольцев А.Н., Попов Н.Н. и др.* Кримоиммунология.– Киев: Наук. думка, 1988.– 176 с.
12. *Цуцаева А.А., Кудокотцева О.В., Лобасенко Н.П., Щеглов А.В.* Характер и динамика восстановления морфофункциональной активности макрофагов у облученных реципиентов после миелотрансплантации // Гематология и трансфузиология.– 1999.– №5.– С. 13–15.
13. *Astaldi G., Verga L.* The glycogen content of the cells of lymphatic leukemia // Acta Haematol.– 1957.– Vol. 17, N3.– P. 129–135.
14. *Cui Y.Z., Hisha H., Yang G.X. et al.* Optimal protocol for total body irradiation for allogeneic bone marrow transplantation in mice // Bone Marrow Transplant.– 2002.– Vol. 30, N12.– P. 843–849.
15. *Down J.D., Tarbell N.J., Thames H.D., Mauch P.M.* Syngenic and allogeneic bone marrow engraftment after total body irradiation: dependence on dose, dose rate and fractionation // Blood.– 1991.– Vol. 77, N11.– P. 661–669.
16. *Hancock S.L., McDougall J.R., Constine L.S.* Thyroid abnormalities after therapeutic external radiation // Int. J. Radiation Oncol. Biol. Phys.– 1995.– Vol. 31, N7.– P. 1165–1170.
17. *Higgi K.E., Burns G.F., Hayhoe F.G.J.* Identification of the hairy cells of leukaemic reticuloendotheliosis by an esterase method // Brit. J. Haemat.– 1978.– Vol. 38, N8. – P. 99–105.
18. *Jerne N.K., Nordin A.A.* Plaque formation in agar by single antibody producing cells // Science.– 1963.– Vol. 140, N3565.– P. 405.
19. *Jereczek-Fossa B.A., Alterio D., Jassem J. et al.* Radiotherapy-induced thyroid disorders // Cancer Treat. Rev.– 2004.– Vol. 30, N2.– P. 369–384.
20. *Kubota C., Shinohara T., Hinohara T. et al.* Changes in hypothalamic-pituitary function following bone marrow transplantation in children // Acta Paediatr. Jpn.– 1994.– Vol. 36, N1.– P. 37–43.
21. *Kuznetsky R.D., Trobaugh F.E.Jr., Adler S.S.* An immunologic comparison between bone marrow and spleen-derived pluripotent hemopoietic stem cells (CFU-S) of mouse: effect of rabbit anti-mouse brain serum // Biomedicine.– 1978.– Vol. 29, N6.– P. 191–193.
22. *Li C.Y., Yam L.T., Lam K.W.* Acid phosphatase isoenzyme in human leukocytes in normal and pathologic conditions // J. Histochem. Cytochem.– 1970.– Vol. 18, N1.– P. 473–481.
23. *Nakagawa Y., Mori K., Hoshikawa S. et al.* Development of subclinical hyperthyroidism due to Graves' disease in a hypothyroid woman who had undergone hemithyroidectomy for adenomatous goiter and radiotherapy for nasopharyngeal cancer // Endocr. J.– 2007.– Vol. 54, N1.– P. 35–37.
24. *Szydlo R., Goldman J., Klein J. et al.* Results for allogeneic bone marrow transplants for leukemia using donors other than HLA-identical siblings // J. Clin. Oncol.– 1997.– Vol. 15, N1.– P. 1767–1777.
25. *Tsukada T., Katayama N., Masuya M. et al.* Intensive chemotherapy followed by autologous bone marrow transplantation for a patient having wide-spread embryonal carcinoma in the central nervous system // Jpn. J. Clin. Oncol.– 1989.– Vol. 19, N1.– P. 67–71.

References

1. *Abdulkadyrov K.M., Shabalin V.N.* Bone marrow transplantation.– Leningrad: Meditsina, 1976.– 136 p.
2. *Avtandilov G.G.* Morphometry in pathology.– Moscow: Meditsina, 1973.– 248 p.
3. *Butomo N.V.* Bone marrow transplantation at radiation damages.– Leningrad: Meditsina, 1970.– 191 p.
4. *Homeostasis* / Ed. by P.D. Gorizontov.– Moscow: Meditsina, 1981.– 576 p.
5. *Kukharchuk A.P., Radchenko V.V., Sirman V.M.* Stem cells: experiment, theory, clinics. Embryonic, mesenchymal, neural and hemopoietic stem cells.– Chernovtsy, 2004.– 505 p.
6. *Lakin G.F.* Biometry.– Moscow: Vysshaya shkola, 1990.– 352 p.
7. *Lischuk V.A., Lord B., Pavlovich-Kantera V. et al.* Homeostasis and regulation of physiological systems of organism.– Novosibirsk, 1992.– 152 p.
8. *Luppa Kh.* Basics of histochemistry: Transl. from German.– Moscow: Mir, 1980.– 127 p.
9. *Raysis A.B., Ustinova A.O.* Method to determine sugar level in blood // Lab. delo.– 1965.– N1.– P. 33–36.
10. *Rumyantsev A.G., Maschan A.A.* Transplantation of hemopoietic stem cells in children: Manual for physicians.– Moscow, 2003.– 912 p.
11. *Tsutsayeva A.A., Goltsev A.N., Popov N.N. et al.* Cryoimmunology.– Kiev: Naukova dumka, 1988.– 176 p.
12. *Tsutsayeva A.A., Kudokotseva O.V., Lobasenko N.P., Shcheglov A.V.* Character and dynamics of recovery of morphofunctional activity of macrophages in irradiated recipients after myelotransplantation // Gematologiya i Tranfuziologiya.– 1999.– N5.– P. 13–15.
13. *Astaldi G., Verga L.* The glycogen content of the cells of lymphatic leukemia // Acta Haematol.– 1957.– Vol. 17, N3.– P. 129–135.
14. *Cui Y.Z., Hisha H., Yang G.X. et al.* Optimal protocol for total body irradiation for allogeneic bone marrow transplantation in mice // Bone Marrow Transplant.– 2002.– Vol. 30, N12.– P. 843–849.
15. *Down J.D., Tarbell N.J., Thames H.D., Mauch P.M.* Syngenic and allogeneic bone marrow engraftment after total body irradiation: dependence on dose, dose rate and fractionation // Blood.– 1991.– Vol. 77, N11.– P. 661–669.
16. *Hancock S.L., McDougall J.R., Constine L.S.* Thyroid abnormalities after therapeutic external radiation // Int. J. Radiation Oncol. Biol. Phys.– 1995.– Vol. 31, N7.– P. 1165–1170.
17. *Higgi K.E., Burns G.F., Hayhoe F.G.J.* Identification of the hairy cells of leukaemic reticuloendotheliosis by an esterase method // Brit. J. Haemat.– 1978.– Vol. 38, N8. – P. 99–105.
18. *Jerne N.K., Nordin A.A.* Plaque formation in agar by single antibody producing cells // Science.– 1963.– Vol. 140, N3565.– P. 405.
19. *Jereczek-Fossa B.A., Alterio D., Jassem J. et al.* Radiotherapy-induced thyroid disorders // Cancer Treat. Rev.– 2004.– Vol. 30, N2.– P. 369–384.
20. *Kubota C., Shinohara T., Hinohara T. et al.* Changes in hypothalamic-pituitary function following bone marrow transplantation in children // Acta Paediatr. Jpn.– 1994.– Vol. 36, N1.– P. 37–43.
21. *Kuznetsky R.D., Trobaugh F.E.Jr., Adler S.S.* An immunologic comparison between bone marrow and spleen-derived pluripotent hemopoietic stem cells (CFU-S) of mouse: effect of rabbit anti-mouse brain serum // Biomedicine.– 1978.– Vol. 29, N6.– P. 191–193.
22. *Li C.Y., Yam L.T., Lam K.W.* Acid phosphatase isoenzyme in human leukocytes in normal and pathologic conditions // J. Histochem. Cytochem.– 1970.– Vol. 18, N1.– P. 473–481.

26. *Truner S.L., Tiver K.W., Boyages S.C.* Thyroid dysfunction following radiotherapy for head and neck cancer // *Int. J. Radiation Oncol. Biol. Phys.*– 1995.– Vol. 31, N2.– P. 279–283.
27. *Weissler M.C., Berry B.W.* Thyroid-stimulating hormone levels after radiotherapy and combined therapy for head and neck cancer // *Head. Neck.*– 1991.– Vol. 13, N1.– P. 420–423.
23. *Nakagawa Y., Mori K., Hoshikawa S. et al.* Development of subclinical hyperthyroidism due to Graves' disease in a hypothyroid woman who had undergone hemithyroidectomy for adenomatous goiter and radiotherapy for nasopharyngeal cancer // *Endocr. J.*– 2007.– Vol. 54, N1.– P. 35–37.
24. *Szydlo R., Goldman J., Klein J. et al.* Results for allogeneic bone marrow transplants for leukemia using donors other than HLA-identical siblings // *J. Clin. Oncol.*– 1997.– Vol. 15, N1.– P. 1767–1777.
25. *Tsukada T., Katayama N., Masuya M. et al.* Intensive chemotherapy followed by autologous bone marrow transplantation for a patient having wide-spread embryonal carcinoma in the central nervous system // *Jpn. J. Clin. Oncol.*– 1989.– Vol. 19, N1.– P. 67–71.
26. *Truner S.L., Tiver K.W., Boyages S.C.* Thyroid dysfunction following radiotherapy for head and neck cancer // *Int. J. Radiation Oncol. Biol. Phys.*– 1995.– Vol. 31, N2.– P. 279–283.
27. *Weissler M.C., Berry B.W.* Thyroid-stimulating hormone levels after radiotherapy and combined therapy for head and neck cancer // *Head. Neck.*– 1991.– Vol. 13, N1.– P. 420–423.

Поступила 01.07.2008
Рецензент Е.П. Жуликова

Accepted in 01.07.2008