

## **БИОГЕРОНТОЛОГИЯ**

УДК 577.24

### **СЕЛЕЗЕНКА: ОНТОГЕНЕЗ И СТАРЕНИЕ**

**Кузнецова Е.П., Линькова Н.С., Дудков А.В., Войцеховская М.А.**

Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН, г. Санкт-Петербург, Россия, e-mail: [ibg@gerontology.ru](mailto:ibg@gerontology.ru)

**В обзоре проанализированы данные морфофункциональных и молекулярных особенностей развития и старения селезенки. С возрастом увеличивается вероятность развития аутоиммунных, эндокринных, инфекционных и раковых заболеваний. Известно, что иммунная система, и, в частности, ее центральный орган – тимус, наиболее подвержены возрастной инволюции. Связи с этим часть функций тимуса при старении организма делегируется селезенке, менее подверженной возрастным изменениям. Кроме того, функциональная активность селезенки при ее старении может быть восстановлена под действием пептидных биорегуляторов. В настоящем обзоре проанализированы данные по развитию и возрастным изменениям селезенки с точки зрения иммунологии. Таким образом, обзор данных по развитию и возрастной инволюции селезенки показал, что указанный орган иммунной системы менее подвержен дистрофии в сравнении с тимусом. Кроме того, структура и функции селезенки могут быть частично восстановлены под действием пептидных биорегуляторов.**

Ключевые слова: старение, селезенка, пептиды, иммуногенез.

### **SPLEEN: ONTOGENESIS AND AGING**

**Kuznecova E.P., Linkova N.S., Dudkov A.V., Wojcehovskaya V.A.**

S.-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology of North-Western Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, S.-Petersburg, Russia, e-mail: [ibg@gerontology.ru](mailto:ibg@gerontology.ru)

**The review is considered morphofunctional and molecular mechanisms of development and aging of spleen. The age increases the risk of autoimmune and endocrine disorders, infectious diseases and cancer. It is known that the immune system, and in particular, its central body - the thymus, the most susceptible age involution. With the tie with that part of the functions of the thymus in aging is delegated to the spleen, less prone to age-related changes. Additionally, the functional activity of the spleen of aging can be reduced under the action of peptide bioregulators. In this review we analyzed the data for the development of age-related changes and the spleen from the point of view of immunology. Thus, review of data on the development and age involution of spleen showed that this organ of the immune system is less susceptible to degeneration compared with the thymus. Furthermore, the structure and function of the spleen could be partially restored by the action of peptide bioregulators.**

Keywords: aging, spleen, peptides, immunogenesis.

## **Введение.**

Известно, что с возрастом увеличивается вероятность развития аутоиммунных, эндокринных, инфекционных и раковых заболеваний. В старении иммунной системы наибольшую роль играет гетерогенная инволюция тимуса. У людей пожилого и старческого возраста значительная часть тимуса замещена жировой и соединительной тканью. При этом инволютивные изменения селезенки изучены недостаточно и вполне вероятно, что при старении часть функций тимуса делегируется селезенке.

В настоящем обзоре проанализированы данные по развитию и возрастным изменениям селезенки с точки зрения иммунологии.

У человека селезенка закладывается на 5-6 неделе эмбрионального развития в толще дорсальной брыжейки, куда мигрируют клетки лимфоидного ряда. В начале развития селезенка представляет собой плотное скопление мезенхимальных клеток, пронизанное первичными кровеносными сосудами. В дальнейшем часть клеток дифференцируется в ретикулярную ткань, которая заселяется стволовыми клетками.

На 7-8 неделе развития в селезенке появляются макрофаги. На 2-4 месяце эмбриогенеза внутрь селезенки, начиная от капсулы, вырастают тяжи, из которых в дальнейшем формируются трабекулы. На 12 неделе развития селезенки в ней впервые появляются В-лимфоциты. В этом же периоде формируются синусоидные капилляры и другие кровеносные сосуды, в сосудистом русле селезенки появляются широкие венозные синусы, разделяющие ее на островки.

На 3-4 месяце внутриутробного развития островки кроветворных клеток располагаются равномерно вокруг артерии (Т-зона), тогда как в конце 4 и в течение 5 месяца происходит концентрация лимфоцитов и макрофагов сбоку от артерии (В-зона). Впоследствии из лимфоцитов формируются периартериальные лимфоидные муфты и лимфоидные узелки.

Процессы миелопоэза в селезенке человека достигают максимального развития на 5 месяце внутриутробного периода, после чего их активность снижается и прекращается к моменту рождения. Основную функцию миелопоэза в антенатальном периоде выполняет красный костный мозг. Одновременно с развитием узелков происходит формирование красной пульпы, которая становится морфологически различимой на 6 месяце внутриутробного развития. На 9 месяце эмбриогенеза в лимфоидных узелках появляются центры размножения иммунных клеток, что свидетельствует об усилении лимфопоэза в селезенке к моменту рождения.

Селезенка покрыта соединительнотканной капсулой и мезотелием. Капсула селезенки состоит из плотной волокнистой соединительной ткани, содержащей фибробласты и многочисленные коллагеновые и эластические волокна, между которыми залегает небольшое количество гладких мышечных клеток.

В трабекулах селезенки человека содержится большое количество эластических волокон и незначительное число гладких мышечных клеток. Строму селезенки составляют ретикулярные клетки и волокна, содержащие коллаген III и IV типов.

Красная пульпа селезенки включает пульпарные тяжи и венозные синусы. Пульпарные тяжи расположены между синусами и представляют собой форменные элементы крови, макрофаги, плазматические клетки, лежащие в петлях ретикулярной соединительной ткани. Здесь плазмциты заканчивают свою дифференцировку и секретируют антитела. В пульпарных тяжах встречаются скопления В- и Т-лимфоцитов, которые могут формировать новые узелки белой пульпы.

Синусы красной пульпы расположены между селезеночными тяжами и являются частью сосудистой системы селезенки. Синусы красной пульпы представляют собой широкие тонкостенные сосуды неправильной формы, выстланные эндотелиальными клетками необычной веретеновидной формы с узкими щелями между ними. Через эти щели в просвет синусов из окружающих тяжей мигрируют форменные элементы крови. Базальная мембрана синусов прерывиста, ее дополняют ретикулярные волокна и отростки ретикулярных клеток [3, 6].

Периартериальные лимфатические влагалища (ПАЛВ) представляют собой скопления лимфоидной ткани вытянутые по ходу пульпарной артерии. ПАЛВ являются Т-зависимой зоной селезенки.

Лимфатические узелки селезенки являются В-зависимой зоной белой пульпы селезенки и представляют собой капсулу из уплощенных ретикулярных клеток, внутри которой находятся скопления Т- и В-лимфоцитов, плазмцитов и макрофагов. Через лимфатический узелок проходит центральная артерия. В лимфатических узелках различают 4 нечетко разграниченные зоны: периартериальную, центр размножения, мантийную и краевую, или маргинальную, зону.

Маргинальная зона узелков селезенки представляет собой переходную область между белой и красной пульпой шириной около 100 мкм. Она состоит из Т- и В-лимфоцитов и единичных макрофагов, окружена краевыми, или маргинальными, синусоидными сосудами с щелевидными порами в стенке.

Периартериальная зона является продолжением ПАЛВ и образована в основном из Т-лимфоцитов, попадающих сюда через гемокапилляры, отходящие от артерии лимфатического узелка. Отростки интердигитирующих клеток вытягиваются на значительное расстояние между окружающими их лимфоцитами и плотно контактируют с ними. Полагают, что дендритные клетки способны адсорбировать антигены и передавать Т-лимфоцитам информацию о состоянии микроокружения, стимулируя их бласт-трансформацию и пролиферацию. Активированные Т-лимфоциты задерживаются в периартериальной зоне в течение 2-3 суток, где они размножаются, а затем мигрируют в синусы краевой зоны через гемокапилляры. Тем же путем попадают в селезенку и В-лимфоциты.

Причина заселения Т- и В-лимфоцитами соответствующих зон недостаточно ясна. В функциональном отношении периартериальная зона является аналогом паракортикальной тимусзависимой зоны лимфатических узлов.

Центр размножения, или герминативный центр узелка, состоит из ретикулярных клеток, пролиферирующих В-лимфобластов и дифференцирующихся плазматических клеток. Кроме того, в центре размножения иммунных клеток селезенки нередко можно обнаружить скопления макрофагов с фагоцитированными лимфоцитами и дендритные клетки. В этих случаях центральная часть узелка выглядит светлой.

Мантийная зона окружает периартериальную зону и центр размножения и состоит из плотно расположенных малых В-лимфоцитов и небольшого количества Т-лимфоцитов, а также содержит плазмциты и макрофаги. Клетки мантийной зоны плотно прилегают друг к другу и расслаиваются циркулярно направленными толстыми ретикулярными волокнами [8].

Установлено, что селезенка человека выполняет иммунную, фильтрационную и депонирующую функции, участвует в процессах гемолиза, синтеза белков и в кроветворении, однако механизмы указанных процессов изучены недостаточно.

Иммунная функция селезенки заключается в утилизации макрофагами вредных веществ и очищении крови от чужеродных агентов. В селезенке разрушаются нерастворимые компоненты клеточного детрита – эндотоксины. Иммунные клетки белой пульпы селезенки человека способны синтезировать специфические антитела в ответ на поступление в кровь чужеродных антигенов [10].

Антигены, приносимые кровью, задерживаются в маргинальной зоне и красной пульпе. Далее они переносятся макрофагами на поверхность антигенпредставляющих

интердигитирующих клеток белой пульпы. Лимфоциты из кровотока оседают в основном в периартериальной зоне (Т-лимфоциты) и в лимфоидных узелках (В-лимфоциты). При первичном иммунном ответе клетки, продуцирующие антитела, появляются сначала в эллипсоидных муфтах, а затем в красной пульпе. При вторичном иммунном ответе формируются центры размножения, где образуются клоны В-лимфоцитов и клетки памяти. Дифференцировка В-лимфоцитов в плазмочиты завершается в красной пульпе. Независимо от вида антигена и способа его введения накопление лимфоцитов в селезенке происходит не столько за счет их пролиферации, сколько за счет притока уже стимулированных антигеном клеток [11, 12, 13].

Кроме того, селезенка принимает участие в обмене железа. Её макрофаги преобразуют железо из разрушенных эритроцитов в трансферин. Также в селезенке гемоглобин преобразуется в билирубин и гемосидерин.

Фильтрационная функция селезенки заключается в контроле циркулирующих клеток крови. Благодаря специфическому строению селезеночных тяжей красной пульпы, селезенка способна задерживать старые и дефектные эритроциты. Селезеночные тяжи имеют в своих стенках щели (шириной в среднем 3 мкм), которые являются непреодолимым препятствием для старых и поврежденных эритроцитов (диаметром 4.5 мкм), утративших способность к деформации. Из жизнеспособных, проходящих через щели эритроцитов макрофаги удаляют паразитов, остатки ядер (тельца Говелла-Жолли) и денатурированный гемоглобин (тельца Гейнца) [5].

Селезенка способна накапливать форменные элементы крови. В норме у человека в ней депонированы от 30 до 50% всех тромбоцитов и часть нейтрофилов, которые могут выбрасываться в периферическое русло при кровотечениях или в ответ на инфекцию [4].

Участие селезенки в обмене белков заключается в том, что она синтезирует альбумин и глобин, а так же имеет большое значение в образовании иммуноглобулинов [7].

Селезенка взрослого человека продуцирует лимфоциты и моноциты. В красной пульпе моноциты задерживаются и дифференцируются в макрофаги. При нарушении нормальных процессов кроветворения в костном мозге селезенка способна вырабатывать форменные элементы крови и становится главным органом экстрамедуллярного гемопоэза.

В пожилом возрасте наблюдается снижение функциональной активности селезенки, что выражается в увеличении числа стареющих эритроцитов в кровеносном русле, что, в свою очередь, является одной из причин недостаточности газообменных процессов в тканях при старении.

Возрастные изменения в селезенке характеризуются как морфологической, так и функциональной картиной инволюции. В старческом возрасте в селезенке наблюдается атрофия белой и красной пульпы, вследствие чего ее трабекулярный аппарат вырисовывается более четко. Количество лимфатических узелков в селезенке и размеры их центров с возрастом уменьшаются. Ретикулярные волокна белой и красной пульпы грубеют и становятся более извилистыми, формируются узловатые утолщения волокон. При возрастной атрофии селезенки количество макрофагов и лимфоцитов в пульпе уменьшается, тогда как число зернистых лейкоцитов и тучных клеток возрастает. Как в старческом, так и в детском возрасте в селезенке обнаруживаются гигантские многоядерные клетки — мегакариоциты. С возрастом в селезенке возрастает число гибнущих эритроцитов, что выражается в увеличении количества железосодержащего пигмента, имеющего межклеточную локализацию [9]. Увеличение в числа таких эритроцитов в кровяном русле, в свою очередь, является одной из причин недостаточности газообменных процессов в тканях при старении. Сходные инволютивные изменения в селезенке наблюдаются и при её ускоренном старении, индуцированном  $\gamma$ -излучением.

Показано, что при исследовании селезенки мышей после облучения в её тканях наблюдалось сокращение площади белой пульпы и атрофия периартериальных муфт. Лимфоидные фолликулы были замещены центральными артериями, окруженными тонким слоем перифолликулярной ретикулярной ткани, в которой обнаруживались единичные скопления распадающихся лимфоцитов, плазматических и ретикулярных клеток. При ускоренном старении в стенках кровеносных сосудов белой пульпы и соединительно-тканых трабекулах наблюдалась отечность, они были частично гомогенизированы за счет плазматического пропитывания. Периферические синусы в селезенке переполнялись кровью, а строма в субкапсулярной зоне была практически оголена. Более чем в 2 раза снизилась клеточность в субкапсулярной зоне, в то время как пролиферативная активность клеток на периферии селезенки возрастала [1].

По данным других исследований показано, что введение экстракта селезенки старых (20 месячных) мышей молодым (2 месячным) животным приводило к ускоренному старению, затрагивающему всю нейроиммуноэндокринную систему.

Кроме того важную роль в процессах старения селезенки играют кейлоны – высокомолекулярные белки, угнетающие пролиферацию иммунных клеток селезенки. С помощью хроматографического анализа из кейлонов были выделены низкомолекулярные пептиды – супрессоры активности иммунных клеток – тафцин и спленин. Предшественник тафцина синтезируется в лимфоцитах селезенки в виде лейконины, который путем ограниченного протеолиза преобразуется в активную форму. Спленин по функциям и структуре напоминает гормон тимуса тимопоэтин, что свидетельствует о сходстве иммунологических процессов, а возможно, и механизмов старения указанных органов. Так, активные центры спленина и тимопоэтина различаются лишь одним аминокислым остатком.

Важную роль в механизмах старения селезенки, подобно другим органам иммунной системы, играет пептидная регуляция [4].

Наиболее выраженный геропротекторный эффект в отношении функциональной активности селезенки оказывает синтетический пептид Т-38 (H-Lys-Glu-Asp-OH, везуген), сконструированный в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН [2].

Геропротекторные свойства пептида Т-38 были изучены на крысах в возрасте 2.5 месяцев, которым после облучения был введен пептид Т-38 [1]. В исследовании селезенки крыс в модели ускоренного старения, индуцированного  $\gamma$ -облучением, были получены следующие эффекты. По сравнению с контрольной группой под действием пептида Т-38 у таких крыс наблюдалось относительное увеличение содержания белой пульпы и появление крупных гемопоэтических островков. Содержание крупных лимфобластов в лимфатических фолликулах и парафолликулярной зоне также повышалось, многие из которых находились в состоянии митотического деления, что косвенно предполагает активацию процессов репаративной регенерации в селезенке. В паренхиме селезенки верифицировались группы PCNA<sup>+</sup> клеток, причем в зонах гемопоза они формировали скопления [1].

Кроме того, известно, что некоторые биогенные амины способны оказывать влияние на свойства клеток микроокружения селезенки, которые, в свою очередь, регулируют активность иммунных клеток в данном органе. Таким образом, пептидные

биорегуляторы играют важную роль в поддержании её функциональной активности при старении.

Приведенные данные свидетельствуют о возможности повышения функциональной активности селезенки и замедлении её старения под действием пептидных биорегуляторов.

Помимо морфофункциональных признаков старения селезенки как органа было показано изменение числа иммунных клеток в ней при старении. Исследование иммунных клеток селезенки CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> и выделяемого ими транскрипционного фактора Foxp3<sup>+</sup> и концентрация интерлейкина-10(IL-10) позволило установить следующие закономерности иммунного старения селезенки. Полученные данные показали, что уровень экспрессии Foxp3<sup>+</sup> и концентрация IL-10 в селезенке старых мышей значительно выше, чем у взрослых животных. При этом число CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> клеток при старении так же возрастало.

#### **Выводы.**

Обзор данных по развитию и возрастной инволюции селезенки показал, что указанный орган иммунной системы менее подвержен дистрофии в сравнении с тимусом. Кроме того, структура и функции селезенки могут быть частично восстановлены под действием пептидных биорегуляторов. Таким образом, при старении иммунной системы селезенка становится важным центром иммуногенеза.

#### Список литературы.

1. Anisimov V.N. Peptide bioregulation of aging: results and prospects / V.N. Anisimov, V.Kh. Khavinson // *Biogerontology*. – 2010. – Vol. 1., P. 139-149.
2. Chun Y.S. Spectrum of primary vascular neoplasms of the spleen / Y.S. Chun, V.G. Robu // *J Clin Oncol*. – 2011. – Vol. 10, N 29. – P. 116-117.
3. Kiss F. Examination of aggregation of various red blood cell populations can be informative in comparison of splenectomy and spleen autotransplantation in animal experiments / F. Kiss [et al.] // *Clin Hemorheol Microcirc*. – 2010. – Vol. 5, N 2-4. – P. 273-280.
4. Maekawa T. Age-dependent and cell-population-restricted LRRK2 expression in normal mouse spleen / T. Maekawa [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2010. – Vol. 392, N 3. – P. 431-435.

5. Megalopoulos A. Splenic artery aneurysm in a cardiac transplant patient: a case report / A. Megalopoulos [et al.] // *Acta Chir Belg.* – 2010. – Vol. 110, N 3. – P. 328-31.
6. Milićević N.M. TNF receptor-1 is required for the formation of splenic compartments during adult, but not embryonic life / N.M. Milićević [et al.] // *J Immunol.* – 2011. – Vol. 186, N 3. – P. 1486-1494.
7. Mustapha Z. Sonographic determination of normal spleen size in an adult African population / Z. Mustapha // *Eur J Radiol.* – 2010. – Vol. 75, N 1. – P. 133-135.
8. Schneider D.A. et al. Dynamics of bovine spleen cell populations during the acute response to *Babesia bovis* infection: an immunohistological study / D.A. Schneider // *Parasite Immunol.* -2011. – Vol. 33, N 1. – P. 34-44.
9. Uckun F.M. Spleen tyrosine kinase as a molecular target for treatment of leukemias and lymphomas / F.M.Uckun, S. Qazi // *Expert Rev Anticancer Ther.* – 2010. – Vol. 10, N 9. – P. 1407-1418.
10. Uddin M.N. Toxic effects of D-galactose on thymus and spleen that resemble aging / M.N. Uddin // *J Immunotoxicol.* – 2010. – Vol. 7, N 3. – P. 165-173.
11. Wang J. Enhanced expression of cyclins and cyclin-dependent kinases in aniline-induced cell proliferation in rat spleen / J.Wang [et al.] // *Toxicol Appl Pharmacol.* – 2010. – Vol. 250, N 2. – P. 213-220.
12. Yamate J. Vasoformative disorder, resembling littoral cell angioma, of the spleen in a geriatric Japanese macaque (*Macaca fuscata*) / J. Yamate // *Vet Pathol.* – 2009. - Vol. 46, N 3. – P. 520-525.
13. Zhao Y. Changes of Foxp3 and IL-10 and TGF-beta in aging of mice / Y. Zhao // *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi.* – 2010. - Vol. 26, N 9. – P. 842-845.

#### References.

1. Anisimov V.N., Khavinson V.Kh. *Biogerontology*, 2010, Vol. 1, pp. 139-149.
2. Chun Y.S., Robu V.G. *J Clin Oncol*, 2011, Vol. 10, no. 29, pp. 116-117.
3. Kiss F. et al. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2010, Vol. 5, no. 2-4, pp. 273-280.
4. Maekawa T. et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, Vol. 392, no. 3, pp. 431-435.
5. Megalopoulos A. et al. *Acta Chir Belg*, 2010, Vol. 110, no. 3, pp. 328-31.
6. Milićević N.M. et al. *J Immunol*, 2011, Vol. 186, no. 3, pp. 1486-1494.
7. Mustapha Z. *Eur J Radiol*, 2010, Vol. 75, no. 1, pp. 133-135.

8. Schneider D.A. et al. *Immunol*, 2011, Vol. 33, no. 1, pp. 34-44.
9. Uckun F.M., Qazi S. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2010, Vol. 10, no. 9, pp. 1407-1418.
10. Uddin M.N. *J Immunotoxicol*, 2010, Vol. 7, no. 3, pp. 165-173.
11. Wang J. et al. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, Vol. 250, no. 2, pp. 213-220.
12. Yamate J. et al. *Vet Pathol*, 2009, Vol. 46, no. 3, pp. 520-525.
13. Zhao Y. et al. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 2010, Vol. 26, no. 9, pp. 842-845.