

УДК 591.44:57.044
© Сікора В.З., 2012

УРАЗЛИВІСТЬ ОРГАНІВ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ГРИЗУНІВ ДО ЕКСПОЗИЦІЇ ТОКСИКАНТІВ ПРОТЯГОМ ОНТОГЕНЕЗУ

Сікора В.З.

Медицинський інститут Сумського державного університету

Сікора В.З. Уразливість органів імунної системи гризунів до експозиції токсикантів протягом онтогенезу // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 2. – С. 133-136.

Імунна система гризунів, як і людей, розвивається з популяції поліпотентних гемопоетичних стовбурових клітин, які походять у ранні терміни вагітності з недетермінованих мезенхімних стовбурових клітин у спланхноплеві зародка. Ця популяція клітин дає початок всім клітинам крові. Ця стаття надає короткий огляд гемопоєзу у гризунів та гіпотезу про терміни, коли органи імунної системи є найбільш уразливими до впливу хімічних чинників.

Ключові слова: імунна система, токсиканти, онтогенез

Сікора В.З. Уязвимость органов иммунной системы грызунов к экспозиции токсикантов в онтогенезе // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, № 2. – С. 133-136.

Иммунная система грызунов, как и людей, развивается из популяции полипотентных гемопоэтических стволовых клеток, которые вырабатываются в раннем периоде беременности из недетерминированных мезенхимных стволовых клеток во внутризародышевой спланхноплеуре. Эта ранняя популяция клеток дает начало всей клеточной родословной циркулирующей крови. Эта статья представляет собой краткий обзор гемопоэза грызунов и рабочую гипотезу о критических периодах уязвимости органов иммунной системы к токсическому воздействию химической экспозиции.

Ключевые слова: иммунная система, токсиканты, онтогенез

Sikora V.Z. The vulnerability of organs of rodent immune system to toxicants during ontogeny // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, № 2. – С. 133-136.

The immune system of rodents, like that in humans, develops from a population of pluripotential hematopoietic stem cells that are generated early in gestation from uncommitted mesenchymal stem cells in the intraembryonic splanchnopleure. This early population gives rise to all circulating blood cell lineages. This review presents an overview of developmental hematopoiesis and a working hypothesis of critical developmental windows of vulnerability of this developmental system to toxic insult by chemical exposure.

Key words: the immune system, toxicant's, ontogenesis

Розвиток органів імунної системи гризунів до та після народження є динамічним процесом, який полягає у постійному диференціюванні стовбурових клітин з обмеженими потенціями до мієлоїдних (вроджений імунітет) або лімфоїдних (придбаний імунітет) клітин [2, 20]. Стовбурові клітини дають початок до формування пулу прогеніторів, яким властиво безперервне оновлення імунокомпетентних клітин, що мають короткий термін життя. Це досить швидко оновлення забезпечує необхідний спектр імунної відповіді для ефективних реакцій придбаного імунітету. Нездатність створити достатню вроджену кількість імунних клонотипів, необхідних для ефективної клоноальної селекції лімфоцитів може привести до імунодефіциту [15, 21].

Становлення цих популяцій лімфоїдних клітин-попередників у ембріогенезі ссавців відбувається у відповідній послідовності, яка включає в себе: 1. появу в ембріональних тканинах, що розвиваються, гемопоетичних клітин; 2. міграцію цих клітин з мезенхіми до ембріональних печінки та селезінки та 3. дислокацію клітин до кісткового мозку та тимусу у більш пізні терміни гестації [8].

Тільки кістковий мозок та тимус спроможні забезпечити унікальні умови мікрооточення, що необхідні для розвитку імунокомпетентних клітин [4, 12, 19, 27]. Ця встановлена послідовність

еволюційних подій привела до створення гіпотези про те, що у процесі розвитку імунної системи існує низка періодів, коли її органи найбільшою мірою є чутливими до експозиції хімічних речовин [10, 25]. Зараз ця гіпотеза перевіряється. Її потрібно враховувати при проектуванні експериментів для прогнозування результатів імунотоксичної дії хімікатів, що розповсюджені у навколишньому середовищі.

Зараз є важливим розуміння того, що оновлення імунокомпетентних клітин протягом постнатального періоду життя залежить від диференціювання стовбурових клітин та збільшення кількості клітин-попередників у кістковому мозку, а також те, що цей процес суттєво відрізняється у неонатальному віці, молодих та старих тварин [14, 24].

Тому періоди життя, коли імунна система є максимально чутливою до дії різних факторів навколишнього середовища, не обмежуються тільки періодом розвитку *in utero*. Сучасне розуміння розвитку органів імунної системи сформувалося переважно завдяки дослідом на мишах. Завдяки цьому інформація у цій статті, головним чином, торкається розвитку імунної системи цих тварин. Про розвиток імунокомпетентних клітин у щурів відомо депо менше, та загальні уявлення та терміни розвитку органів як у щурів, так і у людей, подібні до таких у мишей.

Виникнення гемопоетичних стовбурових

клітин (ГСК). ГСК – це популяція мультипотентних стовбурових клітин, які зберігають можливість до самооновлення та можуть диференціюватися для формування всіх підкласів лімфоцитів, що приймають участь в імунних реакціях. У мишей ГСК вперше з'являються у внутрішньозародковій спланхноплевральній мезенхімі, що оточує серце (аорто-гонадо-мезонефрос) приблизно на 8-й день гестації [11, 23]. Такі ж клітини знаходяться і у кров'яних осередках жовточного мішка. Кровоносна система ембріону формується на 8,5 добу гестації, проте, досі невідомо, коли саме відбувається обмін клітинами між внутрішньозародковими тканинами та позазародковими утвореннями.

Останні дослідження вказують на те, що саме клітини з внутрішньозародкових гемопоетичних тканин є джерелом формування імунокомпетентних клітин у гризунів [9].

Цей початковий етап розвитку мезенхімних клітин завершується міграцією ГСК на нові внутрішньозародкові анатомічні ділянки, що підтримують їх подальше диференціювання. Диференціювання ГСК для формування субпопуляцій стовбурових клітин з обмеженими потенціями у мишей відбувається не раніше, ніж на 10 день гестації [3].

Гемопоез у ембріональній печінці. У мишей на 10 день гестації ГСК мігрують з передньої ділянки аорто-гонадо-мезонефросу до ембріональної печінки, де відбувається формування більш диференційованих стовбурових клітин з обмеженими потенціями та клітин-попередників, які визначаються по потенціалу формування колоній *in vitro* у відповідь на специфічну цитокінову стимуляцію. Ембріональна печінка продовжує розвиватися як первинний гемопоетичний орган протягом усієї вагітності [6]. Для неї характерною ознакою є поява та швидке збільшення кількості клітин-попередників всіх типів лейкоцитів. З цієї причини, механістичне вивчення нормального та порушеного розвитку лімфопоезу пов'язане саме з цим органом. Таким чином, вивчення хімічного впливу на розвиток органів імунної системи повинно включати вивчення токсичних наслідків на розвиток ембріональної печінки. Цікаво відмітити, що швидке утворення клітин-попередників у ембріональній печінці не супроводжується остаточним диференціюванням у імунокомпетентні клітини [5]. Дійсно, у мишей зрілі лімфоцити в печінці можна спостерігати тільки на 18 день гестації та після початку гемопоезу в ембріональному кістковому мозку.

Гемопоез у селезінці. ГСК та гемопоетичні клітини попередники з обмеженими можливостями до диференціювання містяться у ембріональній селезінці починаючи з 13 дня гестації. Селезінка продовжує зберігати обмежений запас гемопоетичних клітин для постнатального періоду життя та підтримувати розвиток мієлоїдних та еритроїдних клітин, особливо у випадку, коли пошкоджено кістковий мозок [13].

Проте, у селезінці мишей лімфопоез неможливий після народження при будь-яких експериментальних умовах досліду. Ці дослідження доводять, що мікрооточення кісткового мозку є унікальним для продукції попередників лімфоцитів.

Розвиток тимусу. У мишей зачаток тимусу розвивається з епітеліо третього та четвертого глоткових карманів на 10-й день гестації, а колонізується ГСК вже на 11-й день [22]. Поліпотентні ГСК можна спостерігати в тимусі протягом всього терміну вагітності. Проте, більшість клітин диференціюються у мікрооточенні тимусу для утворення незрілих тимоцитів, які залучені до секреції спеціальних білків поверхні клітин - CD3, CD4, CD8 Т-клітинні рецептори [7]. Як і у випадку з іншими гемопоетичними клітинами, незрілі тимоцити утворюють колонії *in vitro*, коли зазнають впливу цитокінів ІЛ-7 та скітлігана [26]. Тимоцити, що розвиваються, ініціюють експресію рецептору Т-клітин та зазнають негативної селекції, в результаті чого видаляються аутореактивні клітини і, в кінці кінців, мігрують з тимусу експресуючи низку лініеспецифічних мембранних глікопротеїнів, які зумовлюють фенотип та функцію цих клітин. Продукція тимоцитів з віком слабшає, особливо після досягнення статевої зрілості у всіх хребетних. Тому при досягненні 1 року у мишей продукція тимоцитів різко знижується [16, 18].

Становлення кісткового мозку, як гемопоетичного органу. Вирішальним етапом в ембріональному розвитку гемопоезу, що необхідний для розвитку імунної системи, є формування на 17,5 день гестації у мишей кістково-мозкової порожнини, куди мігрують гемопоетичні клітини [17]. Порожня кістково-мозкова порожнина колонізується ГСК, що походять від клітин аорто-гонадо-мезонефросу. Кількість цих поліпотентних клітин збільшується для утворення первинних гемопоетичних запасів стовбурових клітин. Не зовсім зрозуміло, чи дійсно клітини з обмеженими потенціями та клітини-попередники, що були вироблені у ембріональній печінці, мігрують до кісткового мозку. Останній швидко починає виконувати гемопоетичну функцію після 18 дня ембріонального розвитку мишей та зберігає її протягом усього постнатального життя [1].

«Уразливі» періоди ембріонального розвитку органів імунної системи. В ембріональному періоді розвитку мишей можна виділити три головні терміни у становленні гемопоетичної системи, коли остання є найбільш чутливою до пошкоджуючої дії токсикантів. Період з 7,5 до 10,5 дня гестації включає в себе розвиток ГСК із недиференційованих мезенхімних клітин. Експозиція ембріону токсичними дозами хімікатів у цей термін може привести до порушення формування стовбурових клітин, відхиленнями у продукції всіх ліній гемопоетичного диференціювання. На 10,5-16,5 день гестації відбувається міграція стовбурових клітин до ем-

бріональних печінки та тимусу, диференціювання стовбурових клітин з обмеженими потенціями та збільшення кількості клітин-попередників лейкоцитів для кожної лінії диференціювання. Протягом цього терміну органи імунної системи найбільш чутливі до чинників, що переривають міграцію клітин, адгезію та проліферацію. Найважливішою подією ембріонального розвитку, починаючи з 17 дня гестації до народження, є становлення кісткового мозку у якості важливого гемопоетичного органу. Для здійснення цієї важливої події у розвитку імунної системи необхідними умовами є міграція стовбурових клітин, кальцифікація хрящових моделей кісток та реконструкція тканин, що скостеніли. Більш того, формування гемопоетичного мікрооточення кісткового мозку є унікальним процесом, який необхідний для нормальної постнатальної продукції лімфоцитів, нейтрофілів та моноцитів. У ці терміни органи імунної системи також можуть зазнавати значних уражень з боку токсичних чинників.

Гемопоетичне мікросередовище. Протягом останніх років питанню щодо мікросередовища кісткового мозку приділялося багато уваги. Фібробластні стромальні клітини кісткового мозку виробляють значну кількість цитокінів, які регулюють гемопоез та є необхідними для становлення довготривалих культур *in vitro*. Відсутність або порушення функції стовбурових клітин приводе до недостатності гемопоетичних клітин до виживання, проліферації та диференціювання для формування функціональних імунокомпетентних клітин. Розглядалася також роль макрофагів та ендотеліальних клітин в процесах регуляції гемопоезу. Регулююча роль гемопоетичного мікросередовища кісткового мозку у підтримці постійної продукції попередників лімфоцитів, необхідних для сталої імунної активності привела до створення припущення про те, що вплив токсичних хімікатів може впливати на продукцію гемолімфоїдних клітин шляхом руйнування клітин мікросередовища. Ця форма непрямої гемотоксичності викликає значний інтерес і сьогодні знаходиться під ретельним спостереженням багатьох лабораторій.

«Уразливі» періоди постнатального розвитку органів імунної системи. Розуміння послідовності розвитку клітин та тканин незрілої імунної системи дозволило створити експериментальну модель для визначення імунотоксичності хімічних сполук. Ця модель розділена на 5 критичних періодів потенційної уразливості. У ембріона – це період формування ембріональної печінки, як первинного гемопоетичного органу, і період становлення та колонізації кісткового мозку та тимусу, як кінцевих гемопоетичних органів протягом останнього тижня гестації. У постнатальному періоді у гризунів критичними періодами розвитку органів імунної системи є період перинатального імунодефіциту та наступний період, під час якого відбуваються зрілі

імунні реакції, що формують функціональний пул захисних клітин пам'яті.

Ці п'ять термінів ембріональної та постнатальної уразливості до дії токсикантів зовнішнього середовища зумовлюють формування та функцію як гемопоетичних тканин, так і вторинних лімфоїдних органів, які можуть бути дуже чутливими до окремих чинників. Механістичні дослідження, направлені на більш ретельне вивчення гострої токсичності на розвиток органів імунної системи під час вагітності повинні обмежувати експозицію хімічних чинників у вказані терміни для того, щоб провести оцінку токсичності на відповідних ділянках тканин, що базуються на цій моделі.

Як згадувалося раніше, розвиток імунної системи не припиняється після народження. Мієлоїдні та лімфоїдні клітини продовжують вироблятися з проліферативних клітин-попередників у кістковому мозку та тимусі. Зрілі імунокомпетентні клітини залишають ці первинні лімфоїдні органи та мігрують через кров до вторинних лімфоїдних органів (селезінка, лімфатичні вузли та лімфоїдна тканина, асоційована зі слизовими оболонками). Крім того, плазматичні клітини, В-лімфоцити, що виробляють антитіла містяться у кістковому мозку. З цієї причини кістковий мозок є первинною анатомічною ділянкою як для новоутворених, так і зрілих В-лімфоцитів.

Розуміння впливу імунотоксичних сполук на імунореактивні тканини ускладнюється тим, що однакові клітини можуть мати різну чутливість до токсичних сполук в залежності від їх анатомічного розташування (мікрооточення) під час експозиції.

Відновлення клітин та вторинне заселення лімфоїдних тканин. Імунна система є унікальною у можливості відновлюватися після токсичного ураження. Чисельні дослідження показали швидке відновлення імунореактивних клітин після цитотоксичної терапії та спроможність гемопоетичних клітин відновлюватися після втрати крові. З цієї причини, вплив токсикантів не завжди приводе до імунотоксичності. Проте, основна шкода популяціям стовбурових клітин може бути не виявленою звичайними методами дослідження, під час яких проводиться підрахунок кількості клітин. Тому, можливо, слід розробити низку аналізів для повного оцінювання токсичного впливу на органи імунної системи.

ЛІТЕРАТУРА:

1. A transient definitive erythroid lineage with unique regulation of the β -globin locus in the mammalian embryo / Kathleen E. McGrath, J.M. Frame, G.J. Fromm [et al.] // *Blood*. – 2011. – Vol.117. – P. 4600 - 4608.
2. Bleul C.C. BMP signaling is required for normal thymus development / C.C. Bleul, T. Boehm // *J. Immunol*. – 2005. – Vol.175. – P. 5213 - 5221.
3. Bone marrow-derived human hematopoietic stem cells engraft nod/scid mice and traffic

- appropriately to an inflammatory stimulus in the joint / N.H. Chang, R.D. Inman, J.E. Dick [et al.] // *J. Rheumatol.* – 2010. – Vol.37. – P. 496 - 502.
4. Bone marrow-derived il-13 α 1-positive thymic progenitors are restricted to the myeloid lineage / Cara L. Haymaker, F.B. Guloglu, J.A. Cascio [et al.] // *J. Immunol.* – 2012. – Vol.188. – P. 3208 - 3216.
5. Canonical BMP signaling is dispensable for hematopoietic stem cell function in both adult and fetal liver hematopoiesis, but essential to preserve colon architecture / S. Singbrant, G. Karlsson, M. Ehinger [et al.] // *Blood.* – 2010. – Vol.115. – P. 4689 - 4698.
6. Chou S. Fetal liver hepatic progenitors are supportive stromal cells for hematopoietic stem cells / S. Chou, H.F. Lodish // *PNAS.* – 2010. – Vol.107. – P. 7799 - 7804.
7. Cutting edge: spontaneous development of il-17-producing T_H17 cells in the thymus occurs via a tgf- β 1-dependent mechanism / J.-su Do, P.J. Fink, L. Li [et al.] // *J. Immunol.* – 2010. – Vol.184. – P. 1675 - 1679.
8. Development of autoimmunity against transcriptionally unrepressed target antigen in the thymus of aire-deficient mice / N. Kuroda, T. Mitani, N. Takeda [et al.] // *J. Immunol.* – 2005. – Vol.174. – P. 1862 - 1870.
9. Dykstra B. Clonal analysis reveals multiple functional defects of aged murine hematopoietic stem cells / B. Dykstra, S. Olthof, J. Schreuder [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2011. – Vol.208. – P. 2691 - 2703.
10. Elmore S.A. Enhanced histopathology of the immune system: a review and update / S.A. Elmore // *Toxicol. Pathol.* – 2012. – Vol.40. – P. 148 - 156.
11. Evi1 is essential for hematopoietic stem cell self-renewal, and its expression marks hematopoietic cells with long-term multilineage repopulating activity / K. Kataoka, T. Sato, A. Yoshimi [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2011. – Vol.208. – P. 2403 - 2416.
12. Identical, similar or different? Learning about immunomodulatory function of mesenchymal stem cells isolated from various mouse tissues: bone marrow, spleen, thymus and aorta wall / B. Hegyi, B. Sági, J. Kovács [et al.] // *Int. Immunol.* – 2010. – Vol.22. – P. 551 - 559.
13. Jeanson N.T. Vitamin D receptor deletion leads to increased hematopoietic stem and progenitor cells residing in the spleen / Nathaniel T. Jeanson, D.T. Scadden // *Blood.* – 2010. – Vol.116. – P. 4126 - 4129.
14. Jeong J.-O. Malignant tumor formation after transplantation of short-term cultured bone marrow mesenchymal stem cells in experimental myocardial infarction and diabetic neuropathy / J.-O. Jeong, J.W. Han, J.-M. Kim [et al.] // *Circ. Res.* – 2011. – Vol.108. – P. 1340 - 1347.
15. Laronne-Bar-On A. Increased regulatory versus effector t cell development is associated with thymus atrophy in mouse models of multiple myeloma / A. Laronne-Bar-On, D. Zipori, N. Haran-Ghera // *J. Immunol.* – 2008. – Vol.181. – P. 3714 - 3724.
16. Overexpression of Foxn1 attenuates age-associated thymic involution and prevents the expansion of peripheral CD4 memory T cells / E.C. Zook, P.A. Krishack, S. Zhang [et al.] // *Blood.* – 2011. – Vol.118. – P. 5723 - 5731.
17. Phenotypically identical hemopoietic stem cells isolated from different regions of bone marrow have different biologic potential / J. Grassinger, D.N. Haylock, B. Williams [et al.] // *Blood.* – 2010. – Vol.116. – P. 3185 - 3196.
18. Rode I. Regenerative capacity of adult cortical thymic epithelial cells / I. Rode, T. Boehm // *PNAS.* – 2012. – Vol.109. – P. 3463 - 3468.
19. Role of reduced intensity conditioning in T-cell and B-cell immune reconstitution after HLA-identical bone marrow transplantation in ADA-SCID / C. Cancrini, F. Ferrua, A. Scarselli [et al.] // *Haematologica.* – 2010. – Vol.95. – P. 1778 - 1782.
20. Severe defect in thymic development in an insertional mutant mouse model / E. Assarsson, B.J. Chambers, K. Högstrand [et al.] // *J. Immunol.* – 2007. – Vol.178. – P. 5018 - 5027.
21. Seymour R. Abnormal lymphoid organ development in immunodeficient mutant mice / R. Seymour, J.P. Sundberg, H.H. Esch // *Veterinary Pathology.* – 2006. – Vol.43. – P. 401 - 423.
22. Sinclair C. The long-term survival potential of mature t lymphocytes is programmed during development in the thymus / C. Sinclair, M.Saini, I.S. van der Loeff [et al.] // *Sci. Signal.* – 2011. – Vol.4. – P. 77.
23. Stem cell factor consistently improves thymopoiesis after experimental transplantation of murine or human hematopoietic stem cells in immunodeficient mice / E.J. Wils, E.J.C. Rombouts, I.van Mourik [et al.] // *J. Immunol.* – 2011. – Vol.187. – P. 2974 - 2981.
24. T-lymphoid differentiation potential measured in vitro is higher in CD34+CD38⁻/lo hematopoietic stem cells from umbilical cord blood than from bone marrow and is an intrinsic property of the cells / M. De Smedt, G. Leclercq, B. Vandeckerckhove [et al.] // *Haematologica.* – 2011. – Vol.96. – P. 646 - 654.
25. Ward J.M. Differentiation of rodent immune and hematopoietic system reactive lesions from neoplasias / J.M. Ward, J.E. Rehg, H.C. Morse // *Toxicol. Pathol.* – 2012. – Vol.40. – P. 425 - 434.
26. Wnt4 regulates thymic cellularity through the expansion of thymic epithelial cells and early thymic progenitors / Krista M. Heinonen, J.R. Vanegas, S. Brochu [et al.] // *Blood.* – 2011. – Vol.118. – P. 5163 - 5173.
27. Xiao S. T cell development from kit-negative progenitors in the foxn1 Δ/Δ mutant thymus / S. Xiao, D. Su, N.R. Manley // *J. Immunol.* – 2008. – Vol.180. – P. 914 - 921.

Надійшла 14.02.2012 р.

Рецензент: проф. С.А.Кашенко