

© Л. А. Ключева, Э. В. Швецов, Е. Е. Никифорова, 2017
УДК 428:611.23:616.8-008.615:599.323.4

Л. А. Ключева², Э. В. Швецов¹, Е. Е. Никифорова²

КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ ЛИМФОИДНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ СТЕНКИ ТРАХЕИ У КРЫС ВИСТАР С РАЗЛИЧНОЙ ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ЭМОЦИОНАЛЬНОМУ СТРЕССУ

¹ Кафедра анатомии (зав. — канд. мед. наук Е. Н. Галейся), ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова» МЗ РФ; ² кафедра анатомии человека (зав. — проф. В. Н. Николенко), ФГБОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова МЗ РФ

Изучали клеточный состав лимфоидных образований стенки трахеи у устойчивых и неустойчивых к эмоциональному стрессу взрослых крыс-самцов Вистар в норме. После оценки прогностической устойчивости 20 крыс к эмоциональному стрессу (тест «Открытое поле») и исключения амбивалентных животных из эксперимента гистологическими методами исследовали лимфоидные образования стенки трахеи в ее начальном отделе и вблизи бифуркации. Обнаружены количественные различия клеточного состава лимфоидных образований у крыс с различной устойчивостью к эмоциональному стрессу. У крыс, устойчивых к эмоциональному стрессу, плотность расположения клеток лимфоидного ряда на стандартной площади гистологического среза в лимфоидных узелках и скоплениях клеток лимфоидного ряда вблизи желез трахеи выше, чем у неустойчивых к стрессу особей. В собственной пластинке слизистой оболочки она выше у неустойчивых к стрессу крыс. Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что местная иммунная защита стенки трахеи в норме более активна у устойчивых к стрессу особей.

Ключевые слова: трахея, лимфоидные образования, лимфоидные узелки, индивидуальная устойчивость к стрессу

Стресс является этиологическим фактором и звеном патогенеза многих социально значимых заболеваний [14]. Показана связь стресса с иммунодепрессией [13]. При этом устойчивость к эмоциональному стрессу признается индивидуальным генетически детерминированным и в то же время модулируемым свойством [8]. Учитывая тесное взаимодействие нервной, гуморальной и иммунной систем, выявление связи между устойчивостью к эмоциональному стрессу и клеточным составом лимфоидной ткани представляет большой интерес. Такие данные могут стать основой для создания методик повышения адаптационных возможностей организма с целью профилактики как стресс-ассоциированных, так и инфекционных заболеваний. В связи с этим целью нашей работы стало выявление особенностей клеточного состава лимфоидных образований стенки трахеи у устойчивых и неустойчивых к эмоциональному стрессу крыс.

Материал и методы. Исследовали трахею 20 крыс-самцов Вистар массой 250–300 г в возрасте 4–6 мес. Оценка устойчивости крыс к эмоциональному стрессу проводили с помощью теста «Открытое поле» [5]. Тестирование проводили в утреннее время в течение 3 мин. По результатам теста

«Открытое поле» рассчитывали индекс активности (ИА) крыс. Для эксперимента отбирали крыс прогностически устойчивых (ИА от 2,25 до 5,8) и неустойчивых к стрессу (ИА от 0,25 до 0,79) [4], амбивалентные животные исключались. Из 40 протестированных животных для последующего исследования было отобрано 20. Забой осуществляли методом декапитации. При работе с животными учитывали положения приказов Минвуза СССР № 742 от 13.11.84 «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и № 48 от 23.01.85 «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных». Материал забирали в течение 3 мин после декапитации животных, трахею препарировали, выделяли ее начальный отдел и зону вблизи бифуркации. Материал фиксировали в 10 % формалине с последующей стандартной спиртовой проводкой и заливкой в парафин. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5 мкм, которые окрашивали гематоксилином — эозином, азуром II — эозином (для дифференцировки клеток). Подсчет клеток проводили в лимфоидных узелках (верхушка, центральная часть и основание), в скоплениях клеток лимфоидного ряда вблизи желез трахеи, в собственной пластинке слизистой оболочки, а также между клетками покровного эпителия органа на стандартной площади среза, равной 880 мкм², в 10 полях зрения. Полученные результаты обрабатывали статистически (SPSS17). Различия оценивали как значимые при $P \leq 0,05$ (по U-критерию Манна—Уитни).

Сведения об авторах:

Швецов Эдуард Владимирович (e-mail: makurin2006@mail.ru), кафедра анатомии, ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова», 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

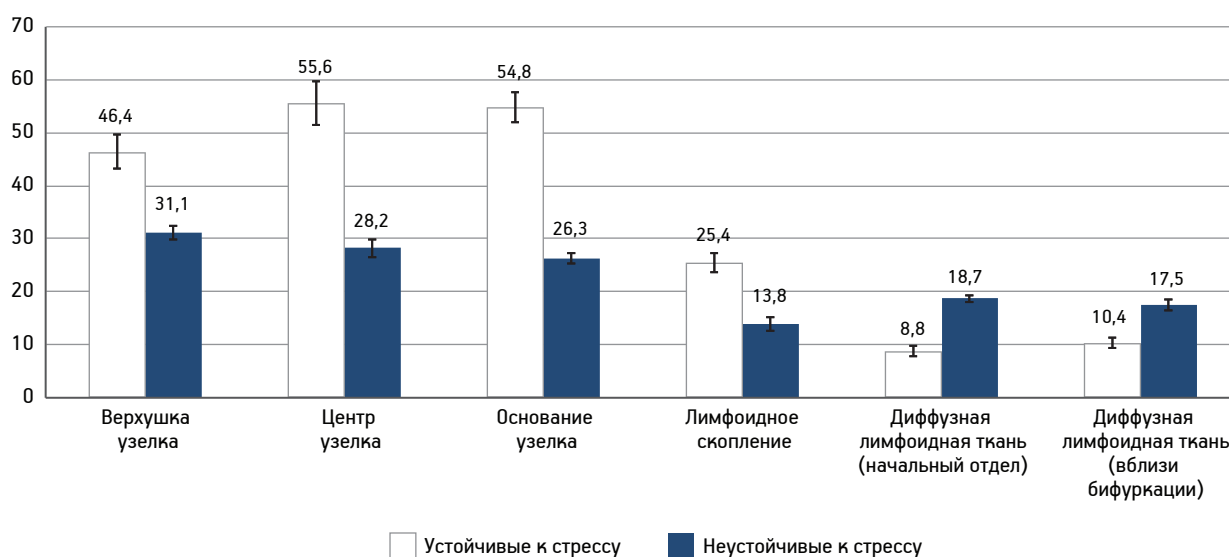
Никифорова Елена Евгеньевна (e-mail: e.nikiforova11@yandex.ru), Ключева Людмила Анатольевна (e-mail: moloko1978@gmail.com), кафедра анатомии человека, ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова», 125009, Москва, ул. Моховая, 11, стр. 1

Результаты исследования. В стенке начального отдела трахеи крыс обнаружены скопления клеток лимфоидного ряда вблизи выводных протоков и концевых отделов желез, а также клетки лимфоидного ряда, диффузно рассеянные в собственной пластинке слизистой оболочки. Вблизи желез у устойчивых к стрессу крыс плотность расположения клеток лимфоидного ряда составляет $25,4 \pm 1,77$ клеток/880 $\mu\text{м}^2$, что в 1,8 раза больше, чем у неустойчивых к стрессу особей ($13,8 \pm 1,3$ клеток) — рисунок. Это связано с большим содержанием в скоплениях средних и малых лимфоцитов ($2,0 \pm 0,42$ и $9,6 \pm 1,4$ клеток/880 $\mu\text{м}^2$ у устойчивых к стрессу особей, что соответственно в 3,3 и 2,7 раза больше, чем у неустойчивых крыс). Кроме того, в отличие от неустойчивых к стрессу крыс, у устойчивых к стрессу в скоплениях присутствуют бласты и большие лимфоциты. Абсолютное количество плазматических клеток в лимфоидных скоплениях значимо не различается у крыс, устойчивых и не устойчивых к эмоциональному стрессу. Вместе с тем у неустойчивых к стрессу животных плазматические клетки преобладают по сравнению с другими клетками, содержащимися в скоплении (33,2%). У устойчивых к стрессу крыс доля плазматических клеток в лимфоидных скоплениях также значительна (16,1%) и уступает лишь доле малых лимфоцитов (37,8%). Абсолютное содержание ретикулярных клеток в лимфоидных скоплениях в 3,7 раза меньше, а фибробластов — в 2,3 раза больше у устойчивых к стрессу животных (соответственно $0,7 \pm 0,15$ и $5,6 \pm 0,39$ клеток).

Плотность расположения клеток лимфоидного ряда в собственной пластинке слизистой оболочки трахеи у устойчивых к стрессу крыс составляет $8,8 \pm 0,96$ клеток/880 $\mu\text{м}^2$, что в 2,1 раза меньше, чем у предрасположенных к стрессу крыс ($18,7 \pm 0,64$ клеток) — см. рисунок. У устойчивых к стрессу крыс здесь отсутствуют большие лимфоциты, а количество средних и малых лимфоцитов соответственно в 4,0 и 3,8 раза меньше, чем у предрасположенных к стрессу животных, и составляет $0,5 \pm 0,22$ и $1,7 \pm 0,47$ клеток/880 $\mu\text{м}^2$ ($P \leq 0,05$). Количество ретикулярных клеток у устойчивых к стрессу животных здесь многократно меньше, чем у неустойчивых (в 36 раз — $0,1 \pm 0,09$ клеток/880 $\mu\text{м}^2$ у устойчивых и $3,6 \pm 0,44$ клеток — у неустойчивых к стрессу крыс). При этом численность деструктивно измененных клеток в собственной пластинке слизистой оболочки органа у устойчивых животных в 12 раз меньше ($0,1 \pm 0,09$ клеток /880 $\mu\text{м}^2$; $P \leq 0,01$).

В составе покровного эпителия слизистой оболочки стенки трахеи в начальном отделе органа выявлено постоянное наличие клеток лимфоидного ряда. Их число у устойчивых к стрессу крыс составляет $1,8 \pm 0,13$ клеток/880 $\mu\text{м}^2$, что в 2,6 раза больше, чем у неустойчивых к стрессу особей ($0,7 \pm 0,21$ клеток).

Вблизи бифуркации трахеи обнаружены лимфоидные узелки. В собственной пластинке слизистой оболочки трахеи так же, как и в начальном отделе органа диффузно рассеяны клетки лимфоидного ряда, однако у бифуркации трахеи скопления этих клеток вблизи желез встречались редко. Лимфоидные узелки в стенке трахеи



Плотность расположения клеток лимфоидного ряда ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) в стенке трахеи у крыс с различной прогностической устойчивостью к эмоциональному стрессу.

По оси ординат — плотность расположения клеток

у крыс в норме не имеют центров размножения и, располагаясь в собственной пластинке слизистой оболочки хрящевой части трахеи, находятся в тесном контакте с эпителиальной выстилкой органа. Над верхушкой лимфоидного узелка эпителий инфильтрирован лимфоцитами, уплощен и не имеет ресничек. Анализ клеточного состава лимфоидных узелков показал, что плотность расположения клеток в них у устойчивых к стрессу крыс значительно выше, чем у неустойчивых особей (в центре — в 2,1 раза, $55,6 \pm 4,16$ клеток/880 мкм² — см. рисунок). Это происходит в основном за счет малых лимфоцитов: в центре число этих клеток составляет $32,0 \pm 3,81$ клеток/880 мкм², что в 2,9 раза превосходит их содержание в аналогичной зоне у предрасположенных к стрессу крыс. Кроме того, у стрессоустойчивых особей число ретикулярных клеток в узелках меньше, а фибробластов — больше, чем у неустойчивых к стрессу крыс: в центре узелков число ретикулярных клеток меньше в 4,62 раза ($0,8 \pm 0,33$ клеток/880 мкм²), а фибробластов — больше в 6,3 раза ($3,8 \pm 0,33$ клеток). Число плазматических клеток в верхушке узелков у устойчивых к стрессу крыс составляет $0,4 \pm 0,19$ клеток/880 мкм², что в 7,2 раза меньше, чем у неустойчивых крыс (в центре и основании узелков у стрессоустойчивых крыс эти клетки отсутствуют).

В собственной пластинке слизистой оболочки трахеи плотность расположения клеток лимфоидного ряда у устойчивых к стрессу крыс составляет $10,4 \pm 1,00$ клеток/880 мкм², что в 1,68 раза меньше ($P \leq 0,05$), чем у предрасположенных к стрессу особей ($17,5 \pm 1,1$ клеток) — см. рисунок. Абсолютное количество малых лимфоцитов у устойчивых особей составляет $3,8 \pm 0,72$ клеток/880 мкм², что в 1,6 раза меньше, чем у неустойчивых к стрессу крыс ($6,3 \pm 0,82$ клеток). Кроме того, у стрессоустойчивых крыс, в отличие от предрасположенных к стрессу, здесь отсутствуют большие лимфоциты, макрофаги, ретикулярные и деструктивно измененные клетки.

Абсолютное содержание клеток лимфоидного ряда между клетками эпителия трахеи вблизи ее бифуркации у устойчивых к стрессу крыс в 7 раз превышает аналогичный показатель в группе предрасположенных к стрессу животных (соответственно $1,4 \pm 0,36$ и $0,2 \pm 0,1$ клеток/880 мкм²).

Обсуждение полученных данных. Модуляция стрессоустойчивости может стать одним из ключевых подходов к профилактике стресс-индуцированных заболеваний. Изучение нормальной структуры лимфоидной ткани трахеи у экспериментальных животных с различной прогностической устойчивостью к эмоцио-

нальному стрессу способно служить основанием к разработке такого подхода. По результатам нашего исследования, клеточный состав лимфоидных образований стенки трахеи у крыс Вистар с различной прогностической устойчивостью к эмоциональному стрессу в количественном отношении неодинаков. Можно предположить, что это связано с различиями в нервной и гуморальной регуляции функций тканей и органов у устойчивых и предрасположенных к эмоциональному стрессу крыс [8]. Выявлено, что у крыс, устойчивых к эмоциональному стрессу, плотность расположения клеток на стандартной площади гистологического среза в лимфоидных узелках и в скоплениях клеток лимфоидного ряда вблизи желез трахеи достоверно выше, чем у неустойчивых к стрессу особей, что связано с большим содержанием малых и средних лимфоцитов. Наши данные согласуются с результатами Е.В.Морозовой [6], которая обнаружила, что у неустойчивых к стрессу крыс плотность расположения клеток в лимфоидных узелках ниже, чем у устойчивых.

J. Bienenstock и R.L. Clancy описали узелковые лимфоидные структуры преимущественно в местах бифуркации воздухоносных путей [11]. По нашим данным, абсолютное число плазматических клеток в верхушке лимфоидных узелков у устойчивых к стрессу крыс в 7,5 раз меньше, чем у неустойчивых особей, а в основании и центре узелков эти клетки у них вовсе отсутствуют. В лимфоидных скоплениях вблизи желез трахеи относительное количество плазматических клеток у устойчивых к стрессу животных в 2 раза меньше, чем у неустойчивых к стрессу, у которых плазматические клетки составляют 33,24 % от общего числа клеток в скоплении. Таким образом, плазматические клетки преобладают в скоплениях у неустойчивых к стрессу крыс. Общее содержание средних и малых лимфоцитов в них составляет 30,41 %.

Ранее клеточный состав лимфоидных скоплений, располагающихся вблизи желез в стенке трахеи крыс, был изучен Д.К.Гармаевой [3], которая утверждает, что в скоплении преобладают малые лимфоциты. В соответствии с полученными нами данными, это верно лишь для устойчивых к стрессу особей. Судя по содержанию малых лимфоцитов и плазматических клеток в лимфоидных структурах стенки трахеи у крыс с различной устойчивостью к эмоциональному стрессу, можно предположить, что у предрасположенных к стрессу крыс более активным является гуморальное, а у устойчивых к стрессу — клеточное звено иммунитета. Известно, что при развитии иммунного ответа по гуморальному типу, связанному

с деятельностью В-системы, в мозговом веществе лимфатических узлов накапливаются плазматические клетки [1, 9].

В собственной пластинке слизистой оболочки трахеи плотность расположения клеток лимфоидного ряда в начальном отделе и вблизи бифуркации соответственно в 2,13 раза и в 1,68 раза выше у неустойчивых к стрессу крыс, чем у устойчивых. В то же время Е.В. Морозова показала, что общее количество клеток лимфоидного ряда в собственной пластинке слизистой оболочки у крыс с различной устойчивостью к стрессу одинаково [6]. Следует отметить, что автор проанализировала лишь относительные показатели клеточного состава (процентное содержание клеток), тогда как мы учитывали абсолютные.

Количество клеток лимфоидного ряда между эпителиоцитами трахеи выше у устойчивых к стрессу животных. Такие различия могут свидетельствовать о более активной реакции на присутствие чужеродных агентов в просвете органа у устойчивых к стрессу особей: большее число клеток лимфоидного ряда в покровном эпителии трахеи свидетельствует об их более активной миграции. Клетки лимфоидного ряда наиболее часто мигрируют именно из собственной пластинки слизистой оболочки, они в первую очередь контактируют с эпителием в целях обеспечения иммунной защиты стенки органа [2], поэтому обеднение собственной пластинки слизистой оболочки основными иммунокомпетентными клетками у устойчивых к стрессу крыс выглядит закономерным. Присутствие здесь у неустойчивых к стрессу крыс малодифференцированных клеток лимфоидного ряда, а также большего количества малых и средних лимфоцитов может свидетельствовать о большей степени антигенной нагрузки на лимфоидные образования собственной пластинки слизистой оболочки. Известно, что антигены, в первую очередь липополисахариды бактериальной стенки, активно влияют на клеточную пролиферацию и дифференцировку в бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани [10]. У неустойчивых к стрессу крыс это может быть связано с малым количеством интраэпителиальных лимфоцитов в стенке трахеи. Кроме того, «первый эшелон иммунитета» в значительной степени обеспечивают химические компоненты слизи и активность мукоцилиарного транспорта, и лишь когда этот барьер становится проницаемым, в слизистой оболочке развиваются воспалительный и иммунный ответы [4]. В настоящее время вопрос о различиях в активности мукоцилиарного транспорта и содержании компонентов слизи у животных с неодинаковой прогностической

устойчивостью к эмоциональному стрессу остается открытым.

Следует отметить, что у неустойчивых к стрессу крыс в лимфоидных скоплениях и лимфоидных узелках трахеи количество ретикулярных клеток выше, чем у стрессоустойчивых особей. Поскольку эти клетки выполняют функцию микроокружения для клеток лимфоидного ряда и являются регуляторами межклеточных взаимодействий [12], следует предположить, что у неустойчивых к стрессу животных клетки лимфоидных образований (в том числе ретикулярные) в норме более значительно вовлечены в иммунные процессы. Возможно, это происходит по причине меньшей «надежности» первой линии защиты стенки органа (меньшего числа интраэпителиальных лимфоцитов) у крыс, неустойчивых к эмоциональному стрессу.

Таким образом, анализ результатов морфологического исследования лимфоидных образований трахеи у крыс с различной устойчивостью к эмоциональному стрессу позволяет предположить, что местная иммунная защита стенки органа более активна у устойчивых к стрессу особей. Это морфологически подтверждается большим содержанием основных иммунокомпетентных клеток и большей пролиферативной активностью в наиболее зрелых в структурном и функциональном отношении образованиях — лимфоидных узелках и скоплениях лимфоидных клеток вблизи желез трахеи у устойчивых к стрессу особей. Кроме того, об активности иммунной защиты у этих животных свидетельствует и более высокое содержание клеток лимфоидного ряда между эпителиоцитами трахеи, что обеспечивает своевременный контакт иммунокомпетентных клеток с антигенами внешней среды, попадающими в трахею вместе с вдыхаемым воздухом. Значительное содержание плазматических клеток в лимфоидных структурах трахеи у неустойчивых к стрессу крыс может свидетельствовать о высокой активности гуморального звена местной иммунной защиты у этих животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аминова Г.Г. Структурно-функциональные разновидности «лимфоидных узелков» органов иммуногенеза и других систем // Морфол. ведомости. 2009. № 3–4. С. 58–62.
2. Аминова Г.Г., Григоренко Д.Е. Слизистая оболочка полых внутренних органов и ее роль в иммунных процессах // Акт. пробл. гуманитарн. и естествен. наук. 2012. № 8. С. 27–31.
3. Гармаева Д.К. Морфологическая характеристика лимфоидных скоплений в стенках бронхов в легких крыс в норме // Морфол. ведомости. 2005. № 3–4. С. 9–12.
4. Караулов А.В., Афанасьев С.С., Алешкин В.А. и др. Микрофлора, колонизационная резистентность слизистых и

- мукозальный иммунитет // Иммунология. 2015. Т. 36, № 5. С. 290–295.
5. Коплик Е.В. Метод определения критерия устойчивости крыс к эмоциональному стрессу // Вестн. новых мед. технол. 2002. Т. 9, № 1. С. 16–18.
 6. Морозова Е.В., Ерофеева Л.М., Коплик Е.В. Морфология и цитоархитектоника лимфоидных образований в стенках трахеи у крыс с различной восприимчивостью к эмоциональному стрессу // Вестн. новых мед. технол. 2007. Т. 10, № 1. С. 29–32.
 7. Пшенникова М.Г., Попкова Е.В., Бондаренко Н.А. Катехоламины, оксид азота и устойчивость к стрессорным повреждениям: влияние адаптации к гипоксии // Росс. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. 2001. № 1. С. 26–32.
 8. Судаков К.В., Умрюхин П.Е. Системные основы эмоционального стресса. М.: Геотар-Медиа, 2010. С. 35–48.
 9. Хаитов Р.М. Иммунология: структура и функции иммунной системы. М.: Геотар-Медиа, 2013.
 10. Bienenstock J., Clancy R.L. Bronchus-associated lymphoid tissues / *Mucosal Immunology*. San Diego: Elsevier Acad. Press, 2005. P. 375–384.
 11. Bienenstock J., Mc Dermott M.R. Bronchus and nasal-associated lymphoid tissues // *Immunological Rev.* 2005. Vol. 206, № 1. P. 22–31.
 12. Herishanu Y., Perez-Galan P., Liu D. et al. The lymph node microenvironment promotes B-cell receptor signaling, NF-kappaB activation, and tumor proliferation in chronic lymphocytic leukemia // *Blood*. 2011. Vol. 117, № 2. P. 563–574.
 13. Marshall G.D. Stress and immunity: bench to bedside approaches continue // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2015. Vol. 115, № 5. P. 333–334.
 14. Steptoe A., Kivimäki M. Stress and cardiovascular disease // *Nat. Rev. Cardiol.* 2012. Vol. 9, № 6. P. 360–370.

Поступила в редакцию 19.12.2016
Получена после доработки 10.02.2017

CELLULAR COMPOSITION OF LYMPHOID STRUCTURES IN THE TRACHEAL WALL OF WISTAR RATS WITH DIFFERENT PROGNOSTIC RESISTANCE TO EMOTIONAL STRESS

L.A.Kliuyeva², E.V.Shvetsov¹, Ye.Ye.Nikiforova²

Cellular composition of lymphoid structures in the tracheal wall was studied under normal conditions in adult male Wistar rats resistant and susceptible to emotional stress. After the evaluation of a predictive resistance to emotional stress performed on 20 rats («Open field» test) and exception of ambivalent animals from the experiment, lymphoid structures of the tracheal wall were examined histologically in the initial portion and near the bifurcation of the organ. Quantitative differences in the cellular composition of lymphoid structures were detected between the rats with different resistance to emotional stress. In rats, resistant to emotional stress, the density of the cells of lymphoid line within the standard area of the histological section was higher in the lymphoid nodules and lymphoid cell aggregates in close proximity to tracheal glands than that one in susceptible animals. In the lamina propria of the mucosa, it was higher in stress-susceptible rats. Thus, the data obtained suggest that the local immune defense of the tracheal wall under normal conditions is more active in stress-resistant animals.

Key words: *trachea, lymphoid structures, lymphoid nodules, individual resistance to stress*

¹ Department of Anatomy, N.I.Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow; ² Department of Human Anatomy, I.M.Sechenov First Moscow State Medical University