

© Д.Е.Григоренко, Г.Г.Аминова, К.А.Васянина, 2013
УДК 611.428:612.766:599.323.4

Д.Е.Григоренко¹, Г.Г.Аминова¹ и К.А.Васянина²

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ОРГАНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ КРЫС ПОСЛЕ ГИПОКИНЕЗИИ И В ПЕРИОД АДАПТАЦИИ

¹ Лаборатория функциональной анатомии (зав. — академик РАМН проф. М.Р.Сапин), Научно-исследовательский институт морфологии человека РАМН, Москва; ² кафедра анатомии человека (зав. — академик РАМН проф. М.Р.Сапин), 1-й Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова

С помощью количественных методов изучена перестройка цитоархитектоники морфофункциональных зон в групповых лимфоидных узелках (ГЛУ) и в брыжеечных лимфатических узлах (БЛУ) у 30 крыс после 30-суточного воздействия гипокинезии и в период реабилитации (спустя 30 сут после окончания гипокинезии). Установлено, что после гипокинезии в герминативных центрах лимфоидных узелков в ГЛУ сохраняется лимфоцитопоз, в межузелковой зоне увеличивается доля молодых форм клеток и появляются плазматические клетки. В аналогичных структурных зонах БЛУ отмечено полное подавление лимфоцитопоза и созревания Т-лимфоцитов. В период реабилитации восстановление показателей цитоархитектоники более выражено в ГЛУ, чем в БЛУ. Однако количественные показатели их клеточного состава не достигают значений, отмеченных в группе интактных животных.

Ключевые слова: *групповые лимфоидные узелки, брыжеечные лимфатические узлы, гипокинезия, реабилитация*

Гипокинезия в современном обществе является серьезной медицинской и социальной проблемой [4]; особую роль она играет также в условиях невесомости при космическом полете [2, 5]. Известно, что при этом происходит перераспределение крови и изменение давления жидких сред в организме, снижение весовой нагрузки на опорные структуры, мышечную систему и изменение регуляции нейроэндокринной системы [1, 4, 6]. Комплекс подобных нарушений сопровождается изменением различных физиологических функций в организме [6, 10]. Реакция органов иммуногенеза в условиях гипокинезии изучена недостаточно [3, 8]. Остается открытым вопрос о восстановлении строения и функционального состояния органов иммуногенеза в отдаленный период после окончания воздействия гипокинезии. Вместе с тем, известно, что именно состояние иммунной системы характеризует и обеспечивает стабильное функционирование организма при воздействии различных внешних факторов [7, 8, 12]. В связи с этим целью данного исследования явилось изучение особенностей реакции клеточного состава морфофункциональных зон в групповых лимфоидных узелках (ГЛУ) подвздошной кишки и в брыжеечных лимфатических узлах (БЛУ) у

крыс при моделировании 30-суточного воздействия гипокинезии и в период реабилитации.

Материал и методы. Эксперимент проводился на базе Института медико-биологических проблем РАН РФ. Объектом исследования служили половозрелые крысы-самцы 3-месячного возраста массой 250–300 г. Изучены интактные животные, животные после 30-суточной гипокинезии и в период реабилитации, т.е. спустя 30 сут после окончания воздействия гипокинезии (по 10 крыс в группе). Гипокинезию моделировали при помощи мягкой фиксации хвоста животного поролоновыми зажимами (во избежание некроза) к подвижной основе на протяжении всей длины клетки под углом в 45°. Задние лапки крыс находились выше уровня пола на 1 см. С помощью передних лапок животные могли передвигаться по клетке, свободно пользоваться водой и пищей. Интактные и экспериментальные животные были выведены из опыта методом декапитации. При проведении эксперимента соблюдали «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденные МЗ РФ, № 755 от 12.08.1977 г.

Участки подвздошной кишки с ГЛУ, а также БЛУ фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и заливали в парафин. Гистологические срезы органов толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван-Гизону. В ГЛУ и в БЛУ анализировали цитоархитектонику в герминативных центрах (ГЦ) лимфоидных узелков. Изучали также клеточный состав в межузелковой зоне ГЛУ и в паракортикальной зоне БЛУ. Анализ полного клеточного состава в структурных зонах изучаемых органов проводили на стан-

Сведения об авторах:

Григоренко Дина Ефремовна (e-mail: dinagrigorenko@yahoo.com), *Аминова Гульшат Гареевна* (e-mail: Lab-funkanat@yandex.ru), лаборатория функциональной анатомии, Научно-исследовательский институт морфологии человека РАМН, 117418, Москва, ул. Цюрупы, 3;

Васянина Карина Асхабовна (e-mail: gar-karina@yandex.ru), кафедра анатомии человека, 1-й Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

дартной площади гистологического среза, равной 880 мкм² [11]. Количественные результаты клеточного состава обрабатывали статистически с помощью программного обеспечения «Statistica 6.0» и «Excel». Значимость различий показателей средних величин оценивали при $P \leq 0,95$.

Результаты исследования. У интактных крыс ГЛУ в стенке подвздошной кишки состоят из отдельных лимфоидных узелков с широкими ГЦ, разделенными между собой меж-узелковыми зонами. В ГЦ основную долю клеток составляют малодифференцированные клетки (34,88%, *рис. 1*), среди которых преобладают большие лимфоциты (19,95%). Выявлены также клетки с фигурами митоза (4,27%). Содержание лимфоцитов (средних и малых) в 1,6 раза меньше, чем молодых форм клеток (бластов и больших лимфоцитов). Встречаются плазматические клетки в основном зрелые (антителопродуцирующие) (4,61%). В ГЦ деструктивно измененные и разрушенные клетки составляют 12,48% (*см. рис. 1*), вдвое меньше содержится макрофагов (6,30%).

Межузелковая зона у интактных крыс характеризуется максимальным накоплением лимфоцитов — 80,00% (средних и малых лимфоцитов, *рис. 2*). Среди клеток лимфоидного ряда присутствуют малодифференцированные клетки (бласты и большие лимфоциты), на долю которых приходится 1,79%. Деструкция клеток в межузелковых зонах, по сравнению с ГЦ, отмечается в 1,5 раза реже, содержание макрофагов — меньше в 2,7 раза.

После 30-суточной гипокинезии в ГЦ в ГЛУ (*см. рис. 1*) число малодифференцированных клеток уменьшается в 3,3 раза, лимфоцитов в 1,3 раза и плазматических клеток — в 4,1 раза. Клетки с фигурами митоза встречаются в 8,7 раза реже, чем у интактных крыс. В ГЦ узелков резко усиливается деструкция клеток (в 2,2 раза), при этом вдвое увеличивается количество макрофагов (до 12,63%).

В межузелковых зонах ГЛУ у крыс при воздействии гипокинезии отмечаются несколько иные изменения: увеличивается количество малодифференцированных форм клеток (в 1,7 раза), появляются плазматические клетки (1,73%) и эозинофилы (5,0%). В этот же период в межузелковых зонах, как и в ГЦ, резко увеличивается количество деструктивно измененных и разрушенных клеток (в 2,6 раза, *см. рис. 2*) и макрофагов (в 2,2 раза).

В период реабилитации, т.е. спустя 30 сут после окончания воздействия гипокинезии, в ГЦ и межузелковых зонах ГЛУ практически в равной степени увеличивается доля бластов (в 3,0 и 2,8 раза соответственно). В ГЦ узелков в 4,6 раза возрастает число клеток с фигурами митоза, в межузелковых зонах доля лимфоцитов увеличивается в 1,4 раза (*см. рис. 2*). В изучаемых структурах ГЛУ вдвое уменьшается содержание деструктивно измененных и разрушенных клеток (*см. рис. 1, 2*), при этом в ГЦ узелков и межузелковых зонах в равной степени уменьшается число макрофагов (в 1,5 и 1,7 раза соответственно).

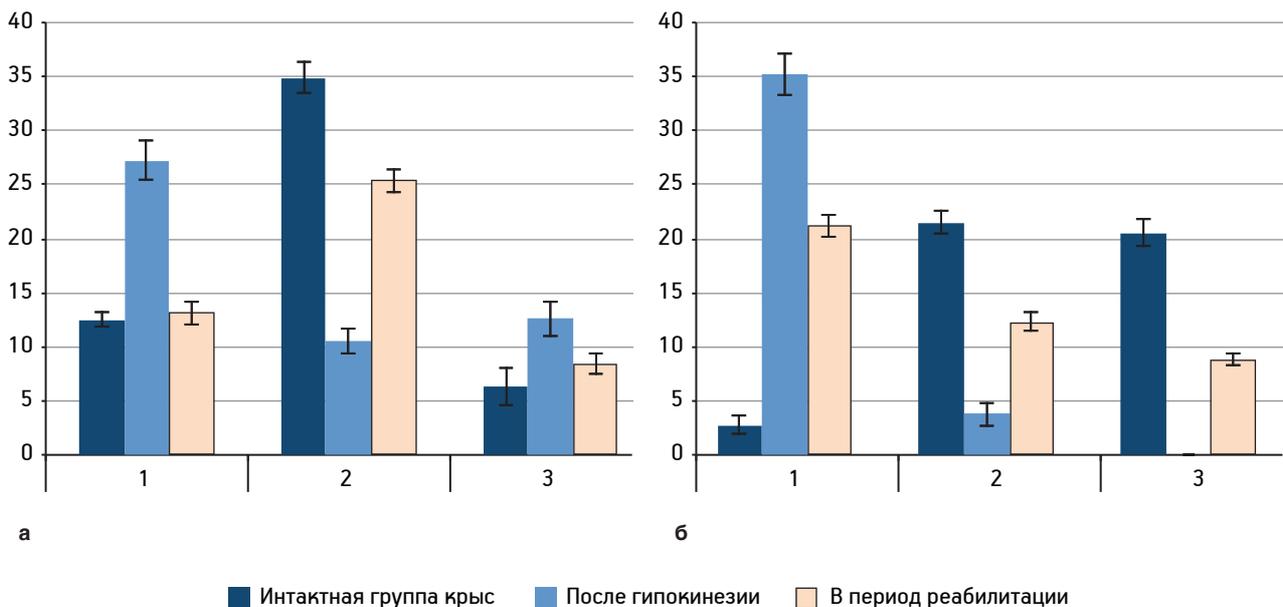


Рис. 1. Относительное содержание клеток в герминативных центрах групповых лимфоидных узелков (а) и в брыжеечных лимфатических узлах (б).

По оси абсцисс: 1 — деструктивно измененные клетки; 2 — молодые клетки; 3 — макрофаги; по оси ординат — исследованный показатель (%). Вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки

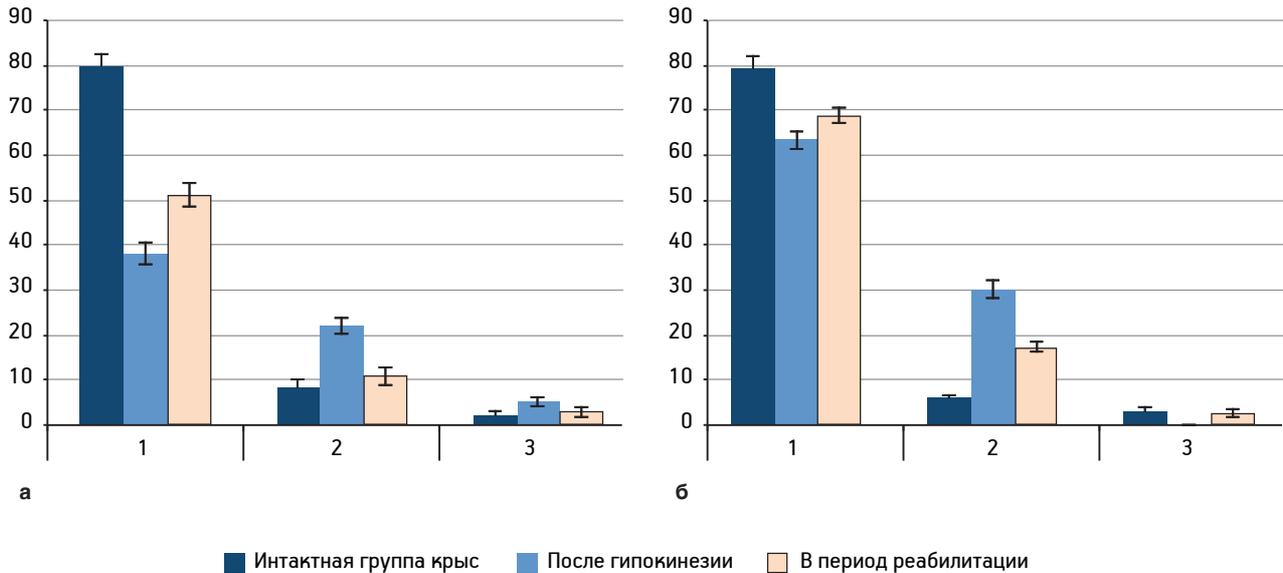


Рис. 2. Относительное содержание клеток в межузелковой зоне групповых лимфоидных узлов (а) и в паракортикальной зоне брыжеечных лимфатических узлов (б).

По оси абсцисс: 1 — лимфоциты; 2 — деструктивно измененные клетки; 3 — макрофаги; по оси ординат — исследуемый показатель (%). Вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки

По сравнению с действием гипокинезии отмечается уменьшение количества эозинофилов в межузелковых зонах (в 5,1 раза), однако некоторая часть их (в пределах 1%) в период реабилитации сохраняются.

В БЛУ у интактных крыс крупные ГЦ лимфоидных узлов образованы клетками лимфоидного ряда различной степени зрелости. Среди них преобладают лимфоциты (средние и малые), которые составляют 38,7% и малодифференцированные клетки — 21,5% (см. рис. 1). Плазматические клетки единичны (0,7%), в ГЦ выявлены также 2,7% клеток с фигурами митоза. Значительную долю клеток в ГЦ составляют макрофаги (20,5%), и только 2,7% клеток относятся к деструктивно измененным и разрушенным клеткам.

Паракортикальная зона в БЛУ у интактных крыс насыщена в основном лимфоцитами (до 79,4%, см. рис. 2). Практически в равном количестве присутствуют малодифференцированные и плазматические клетки (3,7 и 3,0% соответственно), деструктивно измененные и разрушенные клетки составляют 6,0%, макрофаги — 2,9%.

После воздействия гипокинезии в ГЦ лимфоидных узлов в БЛУ число деструктивно измененных клеток увеличено в 12,6 раза. Резко уменьшается число малодифференцированных клеток (в 5,6 раза) и особенно blast (в 9,7 раза). Исчезают клетки с фигурами митоза и макрофаги. При этом содержание лимфоцитов (малых и средних) и плазмобластов остается на уровне значений у интактных животных (различия незначимы).

В паракортикальной зоне БЛУ после действия гипокинезии исчезают молодые формы клеток, плазматические клетки и макрофаги. Доля лимфоцитов снижается в 1,2 раза при увеличении числа деструктивно измененных клеток в 5,0 раз (см. рис. 2).

Через 30 сут после окончания действия гипокинезии, в период реабилитации, в ГЦ лимфоидных узлов и паракортикальной зоне БЛУ уменьшается число деструктивно измененных клеток (в 1,6–1,7 раза). В ГЦ в 4,1 раза увеличивается число молодых форм клеток, которые обнаружены также в паракортикальной зоне (3,19%). В ГЦ появляются клетки с фигурами митоза (2,46%) и макрофаги (8,86%), а в паракортикальной зоне выявлены макрофаги (2,70%), исчезающие после действия гипокинезии. Сохраняются эозинофилы (0,62%).

Обсуждение полученных данных. Результаты эксперимента выявили значительную перестройку цитоархитектоники в морфофункциональных зонах как в ГЛУ подвздошной кишки, так и в БЛУ под воздействием гипокинезии. Основной эффект заключается, прежде всего, в усилении деструкции клеток лимфоидного ряда. Наиболее интенсивной — в ГЦ лимфоидных узлов в БЛУ (в 12,6 раза) и в аналогичной структуре ГЛУ — в 2,2 раза. В ГЦ лимфоидных узлов в БЛУ при гипокинезии выявлено практически полное подавление лимфоцитопоэза [7–9], что подтверждается исчезновением клеток с фигурами митоза, резким уменьшением числа молодых

форм клеток. В противоположность этому, в ГЦ лимфоидных узелков ГЛУ, несмотря на высокий уровень деструкции клеток, уменьшение числа молодых форм клеток и клеток с фигурами митоза (в 3,3–8,7 раза), значительная часть этих клеток сохраняются и после действия гипокинезии. Полученные результаты свидетельствуют, что при гипокинезии наиболее уязвимыми являются ГЦ БЛУ, когда практически подавляется их функция. Однако в ГЛУ после действия гипокинезии сохраняются бласттрансформация клеток, лимфоцитопоз и осуществляется созревание В-лимфоцитов, ответственных за гуморальный иммунитет [13, 14].

При действии гипокинезии выявлен различный характер перестройки клеточного состава в Т-зависимых зонах исследованных органов: в паракортикальной зоне БЛУ на фоне 5-кратного увеличения числа деструктивно измененных клеток происходит резкое подавление лимфоцитопоза и угнетение функционального состояния этой зоны, когда исчезают клетки с фигурами митоза и молодые формы клеток. Аналогичная реакция на гипокинезию отмечена в паховых лимфатических узлах у обезьян [3, 8]. Нами установлено, что в междузелковых зонах ГЛУ при гипокинезии деструкция клеток усиливается всего в 1,2 раза, при этом резко (в 1,7 раза) увеличивается доля молодых форм клеток и появляются плазматические клетки, что можно расценивать как признак компенсаторной реакции, направленной на поддержание клеточного и гуморального иммунитета в органе.

В результате эксперимента установлено, что в период реабилитации, т.е. спустя 30 сут после окончания действия гипокинезии, в ГЛУ и БЛУ отмечаются процессы восстановления межклеточных взаимоотношений. Одним из факторов, способствующих восстановительным процессам, можно считать резкое снижение деструкции клеток. Выявлено, что в период реабилитации в ГЦ ГЛУ процессы деструкции клеток уменьшаются в большей степени, чем в БЛУ (в 2,1 и 1,6 раза соответственно). При этом в ГЦ лимфоидных узелков ГЛУ резко увеличивается содержание клеток с фигурами митоза и малодифференцированных клеток. В БЛУ эти изменения слабо выражены — появляются только единичные клетки с фигурами митоза, отсутствующие после действия гипокинезии, увеличивается число молодых форм клеток. Полученные результаты свидетельствуют, что в период реабилитации в изучаемых органах происходит неравномерное усиление функциональной активности ГЦ в лимфоидных узелках, в них вос-

становливаются процессы лимфоцитопоза, которые более выражены в ГЛУ, чем в БЛУ.

Также по-разному осуществляются восстановительные процессы в период реабилитации в зонах созревания и накопления Т-лимфоцитов в исследованных органах. Установлено, что при равном снижении числа деструктивно измененных клеток в изучаемых зонах (в 1,7 раза) доля малых лимфоцитов в междузелковых зонах увеличивается в 1,4 раза, тогда как в паракортикальной зоне их содержание остается на уровне, отмеченном после действия гипокинезии. При этом в междузелковых зонах резко увеличивается доля бластов (в 2,8 раза), тогда как в паракортикальной зоне эти клетки единичны (3,2%). В целом, полученные данные свидетельствуют об активации процессов бласттрансформации клеток и увеличении количества лимфоцитов в период реабилитации во всех изученных зонах ГЛУ и БЛУ. Установлено, что в период реабилитации восстановительные процессы более активно осуществляются в междузелковых зонах ГЛУ, чем в паракортикальной зоне БЛУ.

В период реабилитации активность деструкции клеток в ГЦ лимфоидных узелков в ГЛУ снижается до уровня показателей у интактных животных, тогда как в этой зоне в БЛУ она значительно превышает показатели у контрольных животных (в 7,7 раза). Содержание молодых форм клеток в ГЦ лимфоидных узелков в изучаемых органах остается в 1,7–2,0 раза более низким, чем в интактной группе. Сходная картина наблюдается в Т-зависимых зонах изучаемых органов. В период реабилитации в междузелковых зонах в ГЛУ и паракортикальной зоне БЛУ активность деструкции клеток все еще превышает показатели у интактных животных (в 1,3 и 2,8 раза соответственно). При этом содержание лимфоцитов не достигает того уровня, который был отмечен в группе интактных животных. Полученные результаты о динамике лимфоидных клеток указывают на слабую функциональную активность лимфоидной ткани в ГЛУ и БЛУ после реабилитации [3, 4].

В заключение следует отметить, что гипокинезия оказывает угнетающее действие на функциональное состояние ГЛУ и БЛУ. При этом отмечается различная степень структурных изменений в аналогичных морфофункциональных зонах в изучаемых органах. Полученные данные позволяют полагать, что морфофункциональные зоны в ГЛУ более устойчивы к воздействию гипокинезии, чем в БЛУ. Возможно, это связано с адаптацией ГЛУ к постоянному воздействию перистальтики кишки, в отличие от БЛУ, фиксированных в

корне брыжейки. В период реабилитации полного восстановления цитоархитектоники в структурах изучаемых органов не происходит. Учитывая характер реакции лимфатической системы организма, можно полагать, что воздействие гипокинезии приводит к функциональной недостаточности всех органов иммуногенеза и возможности развития иммунодефицитного состояния, что подтверждается данными литературы [8, 12].

ЛИТЕРАТУРА

1. Володина А.В. Влияние невесомости на ультраструктуру микрососудов скелетных мышц. В кн.: Материалы II Рос. конф. по патофизиол. с междунар. участием «Патофизиология органов и систем. Типовые патологические процессы». М., Издательский дом «Русский врач», 2000, с. 334.
2. Газенко О.Г. Предвидение в рождении научных идей. Там же. 2000, с. 334–335.
3. Григоренко Д.Е., Ерофеева Л.М. и Корольков В.И. Паховые лимфатические узлы обезьян при действии гипокинезии. В кн.: Сб. науч. трудов «VII Всерос. конф. по патологии клетки». М., Медицина для всех, 2005, с. 41–42.
4. Коваленко Е.А. О проблеме гипокинезии в современной медицине. В кн.: Материалы II Рос. конф. по патофизиологии с междунар. участием «Патофизиология органов и систем. Типовые патологические процессы». М., Издательский дом «Русский врач», 2000, с. 336.
5. Козловская И.Б. Механизмы влияния невесомости на системы управления жизнеобеспечения организма. В кн.: Тез. докл. Междунар. конф. «Авиация и космонавтика». М., Изд-во ГНЦ Института медико-биологических проблем, 2002, с. 10–15.
6. Ларина И.М. Космический полет и регуляция метаболизма у человека. М., Наука, 2004.
7. Петров Р.В. Иммунология и иммуногенетика. М., Медицина, 1976.
8. Сапин М.Р. и Никитюк Д.Б. Иммунная система, стресс и иммунодефицит. М., АПП «Джангар», 2000.
9. Серов В.В. и Шехтер Б.А. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология). М., Медицина, 1981.
10. Стельникова И.Г. Надпочечники при адаптации организма к двигательным нагрузкам и гипокинезии (экспериментально-морфологическое исследование): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2007.
11. Стефанов С.Б. Морфометрическая сетка случайного шага как средство ускоренного измерения морфогенеза. Цитология, 1974. т. 16, № 5, с. 785–787.
12. Хаитов Р.М. и Пинегин Б.В. Иммунодефициты: диагностика и иммунотерапия. Лечащий врач, 1999, № 2–3, с. 63–72.
13. Gray D. Understanding germinal centres. Res. Immunol., 1991, v. 142, № 3, p. 236–242.
14. Lin Y-S., Jonson G.D., Gordon J. and MacLennan I.C. Germinal centres in T-cell-dependent antibody responses. Immunol. Today, 1992, v. 13, № 1, p. 17–21.

Поступила в редакцию 28.05.2013

MORPHO FUNCTIONAL STATE OF THE PERIPHERAL ORGANS OF THE IMMUNE SYSTEM IN RATS AFTER THE HYPOKINESIA AND IN THE PERIOD OF REHABILITATION

*D.Ye.Grigorenko, G.G.Aminova and K.A.Vasyanina**

Using the quantitative methods, the remodeling of the cytoarchitectonics of the morpho-functional zones in the grouped lymphoid nodules (GLN) or Peyer's patches and in the mesenteric lymph nodes (MLN) were studied in 30 rats after 30-day-long exposure to hypokinesia and during the period of rehabilitation (30 days after hypokinesia discontinuation). It was found that following the hypokinesia the germinal centers in lymphoid nodules in GLN retained the lymphocytopoiesis, while in the internodular zone the proportion of immature cells was increased and plasma cells appeared. In the similar structural zones of MLN, the complete suppression of lymphocytopoiesis and T-cell maturation was noted. During the rehabilitation period, the cytoarchitectonic indexes recovery was more pronounced in GLN than in MLN. However, the quantitative parameters of their cellular composition did not reach the values found in the group of intact of animals.

Key words: *grouped lymphoid nodules, mesenteric lymph nodes, hypokinesia, rehabilitation*

Laboratory of Functional Anatomy, RAMS Institute of Morphology, Moscow, * Department of Human Anatomy, I.M. Sechenov First Moscow Medical University