

© Коллектив авторов, 2010
УДК 611.438:616.831-005.1:599.323.4

С.П.Сергеева, Л.М.Ерофеева, М.Р. Сапин и Е.В. Коплик

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТИМУСА КРЫС ВИСТАР В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВНУТРИМОЗГОВОГО КРОВОИЗЛИЯНИЯ

Кафедра гистологии, цитологии, эмбриологии (зав. — проф. Л.М. Ерофеева) Московского медико-стоматологического университета, e-mail: svetlanapalna@mail.ru, gistology@mail.ru

Целью исследования было изучение структуры тимуса у 108 крыс Вистар с различной прогностической устойчивостью к эмоциональному стрессу в условиях экспериментально моделируемого внутримозгового кровоизлияния. Показано, что при внутримозговом кровоизлиянии в тимусе происходят изменения, связанные как со стереотипным ответом на стресс, так и с развитием иммунного ответа на повреждение ткани мозга: отмечалось уменьшение относительной массы тимуса, корково-мозгового индекса, увеличение объемных долей капсулы и соединительнотканых перегородок. Отмечена реакция сосудистого русла: стаз, диapedез, периваскулярные отеки. Данные изменения наиболее выражены у предрасположенных к эмоциональному стрессу крыс.

Ключевые слова: тимус, стресс, внутримозговое кровоизлияние, крысы Вистар.

Использование в качестве методологической основы теории функциональных систем П.К. Анохина [1] и концепции адаптационных процессов Ф.З. Меерсона [3] позволяет рассматривать внутримозговое кровоизлияние (ВМК) как частный случай стресса. Следовательно, определенное место в его патогенезе занимают неспецифические адаптивные реакции, которые развиваются за счет активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечникового комплекса, и могут приводить к иммуносупрессии за счет ослабления Т-клеточного звена иммунитета [7]. Животные с разной прогностической устойчивостью к эмоциональному стрессу характеризуются различной степенью изменения органов иммунной системы, в том числе тимуса, в ответ на стресс [4]. При развитии кровоизлияния нарушается гемато-энцефалический барьер, и белки поврежденных тканей попадают в кровь [6], что вызывает ответ иммунной системы.

Настоящее исследование направлено на изучение структуры тимуса у крыс с разной прогностической устойчивостью к эмоциональному стрессу в условиях экспериментально моделируемого ВМК.

Материал и методика. Эксперименты проведены на крысах-самцах Вистар массой 270 ± 30 г. Эти животные, исходя из их индивидуально-типологических особенностей поведения в тесте «открытое поле» и прогностической оценки их устойчивости к стрессу, были разделены на группы: прогностически устойчивые и не устойчивые (предрасположенные) к эмоциональному стрессу (УЭС и ПЭС соответственно), а также амбивалентные [2]. В работе использовали прогностически УЭС- и ПЭС-крыс, всего 108 животных. Каждая из первых двух групп случайным образом была раз-

бита на несколько подгрупп: 1-я — контрольная; у животных из 2-й подгруппы моделировали ВМК, животных 3-й подгруппы перед операцией по моделированию ВМК подвергали эмоциональному стрессорному воздействию, используя модель агрессивно-конфликтного поведения при 24-часовой фиксации крыс за хвосты [5]. ВМК моделировали введением 60 мкл аутокрови по стереотаксическим координатам, соответствующим левому хвостатому ядру. Метод обезболивания при операции и выведении из опыта: наркотизация раствором гексахлорала (400 мг/кг) внутривентрально. На 1-, 3- и 7-е сутки после операции у животных извлекали тимус, измеряли его массу. Гистологические срезы тимуса окрашивали по стандартной методике гематоксилином и эозином, пикрофуксинном, азуром II — эозином, толудиновым синим. Измерение относительных площадей структурных компонентов тимуса (соответствующих объемным долям) проводили на 3 срезах каждого органа с использованием морфометрической сетки. На одном срезе выполняли 10 измерений. Затем определяли отношения площадей различных структурных компонентов к площади среза.

Результаты исследования. Как показало исследование коэффициентов массы тимуса, ВМК является стрессорным воздействием, причем прогностически УЭС-крысы реагируют меньшим изменением массы тимуса по сравнению с ПЭС-крысами. Анализ коэффициентов массы тимуса у крыс, перенесших стрессорное воздействие перед ВМК, показал, что у УЭС-животных значительно снижалась масса тимуса. У ПЭС-крыс наблюдалось значимое изменение массы тимуса на протяжении 7 сут (исключение составляла масса тимуса в первые 24 ч) (таблица).

При микроскопическом исследовании тимуса крыс экспериментальных групп было обнаружено утолщение капсулы и междольковых перегородок, причем оно более выражено во все сроки после ВМК у ПЭС-крыс в группе, подвергавшейся

Изменение относительной массы тимуса крыс с экспериментальным внутримозговым кровоизлиянием и с различной устойчивостью к эмоциональному стрессу (ЭС) (мг/100 г массы тела)

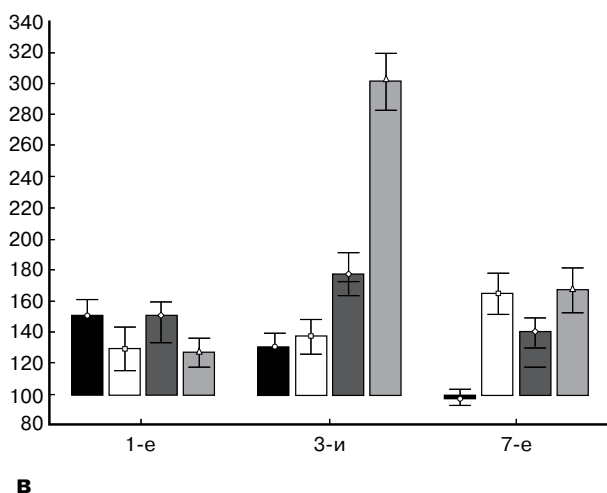
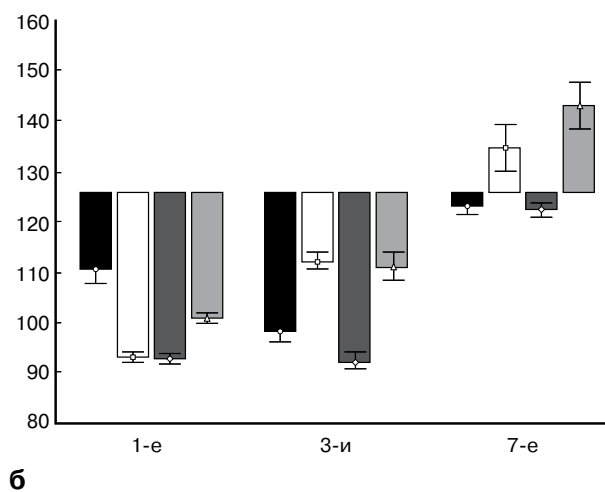
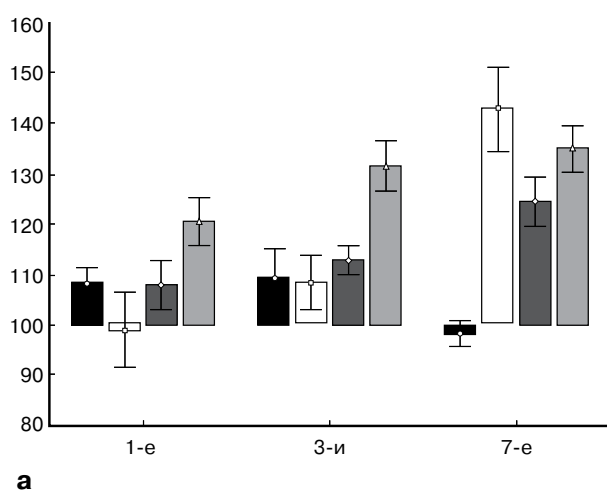
Группы животных	Контроль	Время после операции (сут)		
		1-е	3-и	7-е
Устойчивые	140±5	89,9±2,6**	86±3**	94±9*
Предрасположенные	120±5	52±5**	78±7**	88,1±2,8*
Устойчивые +ЭС	111±6	54±9**	43±4**	56±6**
Предрасположенные + ЭС	100±4	96±5	42,3±2,1**	76±4**

Примечание. Различия по сравнению с контролем значимы при $P<0,05$ (*), при $P<0,01$ (**).

воздействию эмоционального стресса перед операцией по моделированию ВМК. Объемная доля капсулы и перегородок составляла на 1-е сутки $9,5\pm0,4$, на 3-и сутки — $10,4\pm0,4$, на 7-е сутки — $10,7\pm0,4$ мкм³/мкм³, что было выше уровня контроля на 120, 132 и 135% соответственно. Значительные изменения объемной доли капсулы и перегородок отмечались также на 7-е сутки после ВМК у ПЭС-животных, не подвергавшихся стрессированию перед моделированием ВМК. Она была на 143% больше, чем в соответствующей

группе контроля (рисунок, а). Капсула выглядела отеочной, соединительнотканые волокна ее были набухшие и расслоены. Междольковые перегородки были утолщенными, отеочными, инфильтрированными лимфоцитами. В междольковой соединительной ткани отмечалось повышенное содержание тучных клеток.

В тимусе крыс после экспериментального ВМК выявлены изменения в соотношении коркового и мозгового вещества, что наиболее наглядно отражают изменения корково-мозгового индекса



- Активные, нестрессированные
- ◆ Пассивные, нестрессированные
- Активные, стрессированные
- △ Пассивные, стрессированные

Изменение объемных долей капсулы и междольковой соединительной ткани (а), корково-мозгового индекса (б) и объемных долей сосудов коркового вещества (в) тимуса крыс на гистологическом срезе в разные сроки после экспериментального внутримозгового кровоизлияния.

По оси абсцисс — сроки после операции (сут); по оси ординат — амплитуда величин относительно соответствующих контролей (принятых за 100%). Вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки.

(см. рисунок, б). На 1-е сутки он падал наиболее выраженно в группе УЭС-животных с ВМК после стрессорного воздействия (на 57% и был равен $1,02 \pm 0,05$) и в группе ПЭС-животных с ВМК (на 57% и был равен $1,05 \pm 0,04$). Указанные изменения происходили как за счет уменьшения объемной доли коркового вещества, так и за счет увеличения доли мозгового вещества. В некоторых случаях было отмечено стирание границ между корковым и мозговым веществом, и в одном случае — инверсия коркового и мозгового вещества (ПЭС-крыса). Наиболее значительное уменьшение объемной доли коркового вещества было отмечено у ПЭС-животных, подвергавшихся перед ВМК стрессорному воздействию: она составляла на 1-е сутки — $44,2 \pm 1,1$ мкм³/мкм³, на 3-и сутки — $41,7 \pm 1,3$ мкм³/мкм³, что соответственно на 28 и 32% меньше контрольных показателей, а на 7-е сутки значимо не отличалась от показателя в группе контроля ($58,3 \pm 0,7$ мкм³/мкм³).

Объемная доля мозгового вещества значимо увеличивалась на 1-е и 3-и сутки во всех экспериментальных группах и к 7-м суткам не отличалась от уровня показателей группы контроля. Наиболее выраженные изменения на 1-е сутки после ВМК отмечались в группе ПЭС-животных (на 179% выше значений контрольной группы), на 3-и сутки — в группе УЭС стрессированных животных (на 172% выше значений контрольной группы). В мозговом веществе отмечалось изменение объемной доли тимусных телец: оно значимо уменьшалось у ПЭС-животных во все сроки эксперимента и увеличивалось на 3-и сутки у УЭС-крыс.

В тимусе были отмечены полнокровие сосудов, стаз капилляров, отеки, периваскулярные отеки. Также отмечались обширные диапедезные кровоизлияния в корковом и мозговом веществе. У групп УЭС-животных максимальное увеличение объемной доли сосудов коркового вещества выявлено на 1-е сутки эксперимента и составляло $4,8 \pm 0,3$ мкм³/мкм³ у нестрессированных и $4,7 \pm 0,3$ мкм³/мкм³ — у стрессированных, что на 151% больше показателей контрольной группы. На 3-и сутки показатели в этих группах уменьшались на 21%, но все равно были значимо выше контрольных значений. К 7-м суткам у групп УЭС-животных показатели объемной доли сосудов коркового вещества возвращались к норме, тогда как у ПЭС-животных они увеличивались на 165 и 167% от уровня контрольной группы (см. рисунок, в). Объемная доля сосудов мозгового вещества также увеличивалась. Наибольшей она была на 3-и сутки у нестрессированных перед операцией по модели-

рованию ВМК УЭС-крыс ($4,1 \pm 0,4$ мкм³/мкм³) и у ПЭС-крыс ($2,3 \pm 0,2$ мкм³/мкм³).

Обсуждение полученных данных. После экспериментального ВМК в тимусе крыс Вистар выявлены увеличение размеров капсулы и междольковых перегородок, расширение и полнокровие сосудов коркового и мозгового вещества, уменьшение корково-мозгового индекса. Отмечены различия выраженности указанных изменений в зависимости от поведения крыс в тесте «открытое поле», а также от наличия стрессорного воздействия (модель агрессивного-конфликтного поведения при 24-часовой фиксации крыс за хвосты). Результаты исследования позволяют сделать вывод, что при ВМК в тимусе имеют место изменения, связанные как со стереотипным ответом на стресс, так и с иммунными механизмами. Полученные нами результаты соответствуют данным о том, что животные с разной прогностической устойчивостью к эмоциональному стрессу имеют существенные различия в содержании катехоламинов, ряда нейропептидов в ткани мозга, характеризуются различной степенью изменения иммунных органов, в том числе тимуса, в ответ на стресс [4, 8], а также данным авторов о развитии иммунного ответа на поврежденные ткани мозга после инсульта [6]. Это позволяет рассматривать острое нарушение мозгового кровообращения как модель стресса и иммунизации нейроспецифическими белками.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анохин П.К. Очерки физиологии функциональных систем. М., Медицина, 1975.
2. Коплик Е.В., Салиева Р.М. и Горбунова А.В. Тест «открытого поля» как прогностический критерий устойчивости крыс линии Вистар к эмоциональному стрессу. Журн. высш. нервн. деят., 1995, т. 45, вып. 4, с. 775–781.
3. Меерсон Ф.З. Адаптационные реакции поврежденного организма. В кн.: Физиология адаптационных процессов. М., Наука, 1986, с. 482–490.
4. Судаков К.В. Индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу. М., Горизонт, 1998.
5. Юматов Е.А. Центральные нейрхимические механизмы устойчивости к эмоциональному стрессу: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1986.
6. Chamorro A. and Hallenbeck J. The harms and benefits of inflammatory and immune responses in vascular disease. Stroke, 2006, v. 37, p. 291–293.
7. Dirnagl U., Klehmet J., Braun J. et al. Stroke-induced immunodepression. Stroke, 2007, v. 38, p. 770–773.
8. Gee J.M., Kalil A., Shea C., Becker K.J. Lymphocytes. Potential mediators of postischemic injury and neuroprotection. Stroke, 2007, v. 38, p. 783–788.

Поступила в редакцию 21.08.09
Получена после доработки 19.12.09

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF WISTAR RAT THYMUS IN EXPERIMENTAL INTRACEREBRAL HEMORRHAGE

S.P. Sergeyeva, L.M. Yerofeyeva, M.R. Sapin and Ye.V. Koplik

The purpose of the present investigation was to study thymus structure in 108 Wistar rats possessing different prognostic resistance to an emotional stress under the conditions of experimentally modeled intracerebral hemorrhage. It was demonstrated that after the intracerebral hemorrhage, the thymus underwent

changes that were associated with both the stereotyped response to stress and the development of an immune response against the damaged brain tissue: relative thymus mass and the cortico-medullary index were shown to decrease, while the volumetric fractions of the capsule and connective tissue septa were increased. The reaction of the vascular bed included stasis, diapedesis and perivascular edema. These changes were more expressed in the rats predisposed to an emotional stress.

Key words: *thymus, stress, intracerebral hemorrhage, Wistar rats.*

Department of Histology, Cytology and Embryology, Moscow State Medico-Stomatological University

© Е.А. Иванова, Е.В. Коплик, 2010
УДК 612.015:611.342.018:599.323.4

Е.А. Иванова и Е.В. Коплик¹

ИЗМЕНЕНИЯ ЛИМФОИДНЫХ СТРУКТУР ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ У КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПЕПТИДА, ВЫЗЫВАЮЩЕГО ДЕЛЬТА-СОН, И ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ОСТРОГО ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА

Кафедра анатомии человека (зав. — академик РАМН проф. М.Р. Сапин) Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова; ¹ лаборатория физиологии эмоций (зав. — д-р мед. наук С.С. Перцев) Научно-исследовательского института нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, Москва; e-mail: elena.al.ivanova@gmail.com

Исследовали влияние пептида, вызывающего дельта-сон (ПВДС), на лимфоидные образования тонкой кишки. Объектом исследования служили 42 крысы-самцы Вистар, которых предварительно тестировали в «открытом поле». По результатам теста крыс разделили на поведенчески активных (прогностически устойчивых к воздействию стресса) и пассивных (неустойчивых к воздействию стресса) животных. В качестве стрессорного воздействия использовали иммобилизацию животных в боксах с электрическим раздражением области спинки в течение 1 ч. Внутривентрикулярное введение ПВДС крысам приводило к снижению количества эозинофилов у животных всех экспериментальных групп. У активных крыс в контрольной группе после введения ПВДС наблюдали увеличение численности малых и средних лимфоцитов в большей степени, чем у пассивных крыс. После острого стрессорного воздействия у поведенчески активных крыс увеличивалось количество клеток лимфоидного ряда, в основном за счет малых и средних лимфоцитов. У группы пассивных крыс после стресса и инъекции ПВДС отмечали увеличение количества плазматических клеток во всех исследуемых структурах слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки.

Ключевые слова: *двенадцатиперстная кишка, клетки лимфоидного ряда; пептид, вызывающий дельта-сон, острый эмоциональный стресс.*

Одним из перспективных направлений в разработке мероприятий по повышению индивидуальной устойчивости организма к негативным последствиям стрессорных воздействий является применение стресс-протективных веществ, в частности, пептида, вызывающего дельта-сон (ПВДС) [1, 3, 5, 12, 13].

К.В. Судаков и соавт. [10] первыми описали увеличение выживаемости крыс на фоне ПВДС в условиях сильного стрессорного воздействия.

Однако роль ПВДС в системных механизмах реализации эмоционального стресса, его участие в формировании индивидуальной устойчивости к стрессорным факторам в периферических органах иммунной системы, в частности, в лимфоидной ткани кишки, мало изучены.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния ПВДС на лимфоидные образования двенадцатиперстной кишки крыс Вистар с учетом