

© И.А. Кутырев, С.В. Пронина, 2010
УДК 611.342-018:599.323.4

И.А. Кутырев¹ и С.В. Пронина²

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА ТУЧНЫХ КЛЕТОК ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ СИРИЙСКОГО ХОМЯЧКА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ДИФИЛЛОБОТРИОЗЕ

¹ Лаборатория паразитологии и экологии гидробионтов (зав. — проф. Н.М. Пронин) Института общей и экспериментальной биологии СО РАН; ² кафедра нормальной анатомии и физиологии человека (зав. — доц. Э.А. Алексеева) Бурятского государственного университета, г. Улан-Удэ, e-mail: sankaar@mail.ru

Проведено морфометрическое исследование реакции тучных клеток (ТК) собственной пластинки двенадцатиперстной кишки сирийского хомячка (n=12) при экспериментальном заражении лентецом чаечным (*Diphyllobothrium dendriticum*). Выявлено, что инвазия приводит к значительному увеличению абсолютного количества ТК, изменению соотношения численности их функциональных групп, усилению анафилактической дегрануляции ТК, усилению миграции предшественников ТК и ускорению их дифференцировки.

Ключевые слова: двенадцатиперстная кишка, тучные клетки, дифиллоботриоз.

Известно, что изгнание кишечных гельминтов из организма хозяина связано с увеличением численности и усилением активности различных типов клеток, включая тучные клетки (ТК), бокаловидные клетки, эозинофильные и базофильные гранулоциты [11, 12]. Наличие биологически активных веществ в гранулах ТК, которые выделяются при их активации, обуславливает их важную патогенетическую роль во многих заболеваниях. На поверхности ТК имеются рецепторы IgE, вследствие чего эти клетки чувствительны к антигенным воздействиям. Связывание IgE с рецепторами на плазмолемме ТК приводит к активизации биохимических процессов в клетке и выделению биологически активных аминов, вызывающих расширение сосудов и повышение их проницаемости, отек и развитие воспалительной реакции. Поэтому состояние функциональной активности ТК в органе может служить показателем выраженности аллергических реакций при инвазии паразитами. Выраженность реакции ТК кишечника хозяина в ответ на гельминтозную инвазию неодинакова у разных хозяев, т.е. является видоспецифичной [9, 14].

Бассейн оз. Байкал относится к числу эндемичных регионов, в которых цестодозы по своему эпидемиологическому и эпизоотическому значению выходят на первый план среди остальных гельминтозов. В частности, это относится к дифиллоботриозу, вызываемому лентецом чаечным *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda: Pseudophyllidae). Известно, что лентец при инвазии у сирийских хомячков локализуется в тощей кишке, вызывая изменение активности ТК слизистой оболочки [5]. Однако остается открытым вопрос, почему лентец не заселяет двенадцати-

перстную кишку, и какова тучноклеточная реакция в этом отделе тонкой кишки.

В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение влияния лентеца чаечного на содержание и функциональную активность ТК двенадцатиперстной кишки дефинитивного хозяина на экспериментальной модели «*D. dendriticum* — сирийский хомячок».

Материал и методы. Работа проведена на сирийских хомячках мужского пола в возрасте 3 мес средней массой 70 г в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Подопытные животные (n=12) были заражены перорально живыми плероцеркоиды лентеца чаечного, полученными от байкальского омуля — облигатного дополнительного хозяина *D. dendriticum* в оз. Байкал. Интенсивность заражения составила 2–7 паразитов, что соответствует легкой тяжести инвазии. Контрольную группу (n=5) не заражали паразитами. Умерщвляли животных путем декапитации. После заражения сирийских хомячков лентецом чаечным на 7–8-е сутки гельминты начинают продуцировать яйца, на 14–16-е сутки происходит отхождение паразитов из организма. Поскольку наибольшее сопротивление организма хозяина наблюдается именно в период приживления и полового созревания паразита, то для оценки тучноклеточной реакции на инвазию гельминтов материал брали на 3-и сутки после заражения (начальный период инвазии) и 8-е сутки (пик инвазионного процесса). *D. dendriticum* является кишечным паразитом. Поэтому для оценки взаимоотношений в системе «паразит—хозяин» нами были исследованы характеристики ТК слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки. Для световой микроскопии кусочки органов размером 0,5×0,5 см фиксировали 10% нейтральным формалином. Содержание ТК изучали на парафиновых срезах толщиной 4–6 мкм, окрашенных 0,5% водным раствором толуидинового синего [4]. Согласно рекомендованной методике [3], в собственной пластинке слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки под микроскопом MC-300A (Micros, Австрия) (об. 40, ок. 10) в одном поле зрения, площадью 0,16 мм² у 5 животных

контрольной группы, у 6 — на 3-и сутки после заражения, у 6 — на 8-е сутки после заражения на 5 препаратах от каждого животного подсчитывали количество ТК. Определяли абсолютное и относительное содержание ТК с различной степенью насыщенности гранулами (темные, светлые и очень светлые клетки), а также с различной степенью дегрануляции (слабо, умеренно и сильно дегранулированные клетки). Полученные данные подвергали статистической обработке с использованием пакета программ «Statistica» для непараметрических данных (Mann—Whitney U-тест). Различия считали значимыми при $P \leq 0,05$.

Результаты исследования. У сирийских хомячков ТК собственной пластинки двенадцатиперстной кишки располагаются только в нижней трети ворсинки и между криптами. Изменений в распределении ТК в зависимости от продолжительности инвазии обнаружено не было. Однако при инвазии паразитов наблюдались изменения абсолютного количества ТК, степени насыщенности ТК гранулами и степени их дегрануляции.

У хомячков, зараженных лентецом чаечным, абсолютное количество ТК в собственной пластинке двенадцатиперстной кишки увеличивается на 3-и сутки в 5 раз и на 8-е сутки инвазии — в 6,4 раза (таблица).

При инвазии изменяются абсолютные и относительные количественные показатели различных популяций ТК. Так, абсолютное количество темных клеток (молодых, богатых гранулами) увеличивается в 3 раза на 3-и сутки и почти в 5 раз — на 8-е сутки после заражения, светлых — в 12,5 и 15,6 раза соответственно. Особенно сильно возрастает абсолютное количество очень светлых ТК (в 47,6 — на 3-и сутки и в 64,7 раза — на 8-е сутки). Относительное содержание светлых и очень светлых ТК также увеличивается, при этом светлых — в 2 раза как на 3-и, так и на 8-е сутки после заражения, а очень светлых — в 23,6 раза на 3-и сутки и в 15,2 — на 8-е сутки. В то же время, относительное содержание темных ТК снижается в 1,4 и 1,7 раза соответственно.

Содержание тучных клеток (ТК) в собственной пластинке слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки у интактных золотистых хомячков и при инвазии *D. dendriticum* ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Группы ТК	Контроль	Срок от момента заражения, сутки	
		3-и	8-е
Все ТК, АК	1,41±0,20	7,0±0,5*	9,3±0,6*,**
ТК, различающиеся по насыщенности гранулами:			
темные:			
АК	1,11±0,17	3,4±0,4*	5,4±0,5*,**
доля, %	83±5	50±4*	55±4*
светлые:			
АК	0,20±0,07	2,5±0,3*	3,1±0,3*
доля, %	16±5	35±4*	35±3*
очень светлые:			
АК	0,017±0,017	1,10±0,22*	0,80±0,18*
доля, %	0,6±0,6	14,8±2,7*	9,5±2,5*
ТК, различающиеся по степени дегрануляции:			
слабо дегранулированные:			
АК	0,97±0,16	2,91±0,29*	4,1±0,4*,**
доля, %	73±6	45±4*	45±3*
умеренно дегранулированные:			
АК	0,41±0,08	2,5±0,3*	3,6±0,3*,**
доля, %	26±6	35±4*	39,0±2,9*
сильно дегранулированные:			
АК	0,017±0,017	1,7±0,3*	1,61±0,24*
доля, %	1,4±1,4	20±4*	16,1±2,4*

Примечание. АК — абсолютное количество ТК в одном поле зрения при об. 40, ок. 10.

* Различия по сравнению с контролем значимы при $P < 0,05$.

** Различия по сравнению с показателями на 3-и сутки инвазии значимы при $P < 0,05$.

У зараженных особей меняется и функциональная активность ТК, показателем которой является степень дегрануляции. Абсолютное количество слабо дегранулированных ТК увеличивается в 3 раза на 3-и сутки и в 4,2 раза — на 8-е сутки после заражения, умеренно дегранулированных — в 6,3 и в 9 раз, а сильно дегранулированных — в 94 и 100 раз соответственно. Относительное содержание слабо дегранулированных ТК снижается в 1,5 раза как на 3-и, так и на 8-е сутки после заражения, а умеренно дегранулированных — повышается в 1,3 и 1,4 раза, сильно дегранулированных — в 13,5 и 17 раз соответственно.

Выявлена также зависимость содержания ТК от продолжительности инвазии. Так, абсолютное количество ТК на 8-е сутки инвазии по сравнению с таковым на 3-и сутки значимо увеличивается — в 1,3 раза. В группе ТК, различных по степени насыщенности гранулами, этот прирост происходит за счет темных ТК (абсолютное их количество увеличивается в 1,5 раза); а в группе ТК различных по степени дегрануляции — за счет слабо и умеренно дегранулированных клеток (относительное их содержание увеличивается в 1,4 раза). При инвазии лентецом обнаружено увеличение содержания интраэпителиальных лимфоцитов в ворсинках двенадцатиперстной кишки. Так, на 100 эпителиоцитов на 3-и сутки после заражения в среднем приходилось 11,7, а на 8-е сутки — 12,1 лимфоцитов (в контроле — 3,4).

Обсуждение полученных данных. У лабораторных грызунов существуют две разновидности ТК: ТК соединительной ткани (ТКСТ) и ТК слизистых оболочек (ТКСО). ТК собственной пластинки слизистой оболочки кишки относятся к ТКСО [10]. Развитие ТКСО зависит от факторов, продуцируемых Т-лимфоцитами. Число этих ТК существенно увеличивается при Т-зависимых иммунных реакциях, в частности, на некоторых кишечных паразитов [7]. Установленное значительное увеличение абсолютного количества ТК в собственной пластинке слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки зараженных хомячков подтверждает данный факт и свидетельствует о том, что ТК играют важную роль при дифиллобтриозной инвазии у сирийского хомячка. Кроме того, определена возможная взаимосвязь между количеством Т-лимфоцитов и функциональной активностью ТК. Известно, что интраэпителиальные лимфоциты пищеварительного тракта представлены исключительно Т-лимфоцитами [6]. Таким образом, изменение функциональной активности ТК двенадцатиперстной кишки хомяч-

ков при заражении может быть обусловлено медиаторами, продуцируемыми Т-лимфоцитами.

ТК играют положительную роль в антипаразитарном иммунитете: антигены гельминтов, перекрестно «сшивая» соседние молекулы IgE, связанные с высокоаффинными рецепторами на плазмолемме ТК, стимулируют их дегрануляцию. Секретируемые в результате дегрануляции медиаторы усиливают воспалительную реакцию, направленную на изгнание гельминтов из просвета кишечника [2, 6]. Полученные результаты для модели «сирийский хомячок — *D. dendriticum*» подтверждают данное положение. Значительное увеличение числа ТК с низкой степенью насыщенности гранулами у зараженных хомячков связано с увеличением дегрануляции. Поскольку гранулы этих клеток высвобождаются в межклеточное пространство путем экзоцитоза, то последующее выделение накопленных в них продуктов приводит к снижению интенсивности насыщенности гранулами [1]. Следовательно, увеличение числа ТК со значительной степенью дегрануляции означает, что при инвазии *D. dendriticum* усиливается анафилактическая дегрануляция ТК [1].

Увеличение числа ТК с высокой степенью насыщенности гранулами и малой степенью дегрануляции, наблюдающееся с 3-х по 8-е сутки, вероятно, означает, что в данный период продолжается миграция предшественников ТК из кровеносного русла в ткани кишечника хомячков, где и происходит их окончательная дифференцировка [13]. Это связано с тем, что к 8-м суткам паразит, достигая больших размеров и половой зрелости, усиливает иммуногенное воздействие на хозяина, вызывая активизацию защитных реакций.

В тощей кишке хомячков при инвазии лентеца чаечного также происходит увеличение числа ТК, однако содержание отдельных функциональных групп ТК увеличивается от 2 до 8 раз [5]. В то же время в двенадцатиперстной кишке это увеличение достигает 64–100 раз. Следовательно, в двенадцатиперстной кишке хомячков, по сравнению с тощей кишкой, происходит намного более сильная активизация иммунного ответа. Вероятно, с этим связана преимущественная локализация лентеца чаечного в тощей кишке, где паразит встречает наименьшее сопротивление со стороны организма хозяина. Кроме того, известно, что гельминты обладают различными механизмами подавления иммунного ответа со стороны организма хозяина [8]. Поэтому другим объяснением более выраженной тучноклеточной реакции в двенадцатиперстной кишке может быть подавление иммунного ответа лентецом чаечным в тканях тощей кишки.

Таким образом, основываясь на результатах собственного исследования и данных других авторов [5], можно сделать заключение, что ТК слизистой оболочки пищеварительного тракта играют важную роль в ответной защитной реакции организма необлигатного дефинитивного хозяина (хомячка) против лентеца чаечного. Инвазия лентецом чаечным приводит к значительному увеличению абсолютного количества ТК в собственной пластинке слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки зараженных хомячков, изменению соотношения численности их функциональных групп, усилению анафилактической дегрануляции этих клеток и высвобождению биологически активных веществ; усилению миграции предшественников ТК и ускорению их дифференцировки.

Авторы выражают благодарность д-ру биол. наук Н.М. Пронину, канд. биол. наук О.Е. Мазур, Л.В. Толочко и А.С. Фоминой (Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН) за помощь в проведении эксперимента.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 08-04-98035).

ЛИТЕРАТУРА

1. Быков В.Л. Секреторные механизмы и секреторные продукты тучных клеток. Морфология, 1999, т. 115, вып. 2, с. 64–70.
2. Константинова Т.Н. и Беляев А.Е. Трихинеллёзы. М., Изд-во Российской медицинской академии последипломного образования, 1996.
3. Линднер Д.П., Поберий И.А., Розкин М.Я. и Ефимов В.С. Морфометрический анализ популяции тучных клеток. Арх. пат., 1980, т. 42, № 4, с. 60–64.
4. Микроскопическая техника: Руководство. Под ред. Д.С. Саркисова и Ю.Л. Перова. М., Медицина. 1996.
5. Пронина С.В., Пронин Н.М., Качина Е.А. и Комарова Е.В. Функциональная активность тучных клеток слизистой тонкого кишечника золотистого хомяка при экспериментальном заражении лентецом *Dipyllobothrium dendriticum* Nitsch., 1824. В кн.: Актуальные вопросы инвазионной и инфекционной патологии животных. Улан-Удэ, Изд-во БГСХА, 2008, с. 92–95.
6. Ройт А., Бростофф Дж. и Мейл Д. Иммунология. М., Мир, 2000.
7. Galli S.J. New insights into «the riddle of the mast cell». Microenvironmental regulation of mast cell development and phenotypic heterogeneity. Lab. Invest., 1990, v. 62, № 1, p. 5–33.
8. Hewitson J.P., Grainger J.R. and Maizels R.M. Helminth immunoregulation: The role of parasite secreted proteins in modulating host immunity. Mol. Biochem. Parasit., 2009, v. 167, № 1, p. 1–11.
9. Ishih A., Nishikawa T. and Nishimura M. Beige (bg) rat: its usefulness for examining the relationship of mastocytosis to worm loss shown in DA strain infected with *Hymenolepis diminuta*. Transplant. Proc., 1995, v. 27, p. 1546–1547.
10. Metcalfe D., Baram D. and Mekori Y. Mast cells. Physiol. Rev., 1997, v. 77, p. 1033–1079.
11. Miller H.R.P. Immunopathology of gastrointestinal nematode infestation and expulsion. Curr. Opin. Gastroenterol., 1993, v. 9, p. 986–993.
12. Rothwell T.L.W. Immune expulsion of parasitic nematodes from the alimentary tract. Int. J. Parasitol., 1989, v. 19, p. 139–168.
13. Siramarao P., Anderson W., Wolitzky B.A. and Broide D.H. Mouse bone marrow-derived mast cells roll on P-selectin under conditions of flow in vivo. Lab. Invest., 1996, v. 74, p. 634–643.
14. Watanabe N., Nawa Y., Okamoto K. and Kobayashi A. Expulsion of *Hymenolepis nana* from mice with congenital deficiencies of IgE or of mast cell development. Parasite Immunol., 1994, v. 16, p. 137–144.

Поступила в редакцию 06.07.09

Получена после доработки 16.11.09

CHANGES OF MAST CELL COMPOSITION IN HAMSTER DUODENUM IN EXPERIMENTAL DIPHYLLOBOTHRIOSIS

I.A. Kutyrev and S.V. Pronina

The morphometric investigation was performed to study the reaction of mast cells (MC) in mucosal lamina propria of hamster duodenum to experimental infection with tapeworm *Dipyllobothrium dendriticum*. The invasion was found to result in a significant increase of MC cells absolute content, changes in the proportions of their functional groups, increased anaphylactic MC degranulation, enhanced MC precursor migration and their accelerated differentiation.

Key words: *duodenum, mast cells, dipyllobothriosis.*

Laboratory of Parasitology and Ecology of Aquatic Species, Institute of General and Experimental Biology, RAS SB, Ulan-Ude; Department of Normal Human Anatomy and Physiology, Buryat State University, Ulan-Ude