

- патологии (люминесцентно-гистохимическое исследование). Морфология, 2008, т. 133, вып. 4, с. 41–45.
11. Самосюк И. З. и Лысенюк В. П. Акупунктура. Медицинская энциклопедия, 2-е изд. М., АСТ-ПРЕССКНИГА, 2004.
 12. Сысоева Л.А. Люминесцентно-гистохимическая характеристика ранней реакции моноаминсодержащих структур селезенки на антигенное воздействие: Автореф. дис. ...канд. мед. наук. М., 1987.
 13. Connor T.J. Methylenedioxymethamphetamine (MDMA, «Ecstasy»): a stressor on the immune system. Immunology, 2004, v. 111, № 4, p. 357–367.
 14. Eugen-Olsen J., Afzelius P., Andersen L. et al. Serotonin modulates immune function in T cells from HIV-seropositive subjects. Clin. Immunol. Immunopathol., 1997, v. 84, p. 115–121.
 15. Falck B., Hillarp N.A., Thieme G. et al. Fluorescence of catecholamines and related compounds of condensed with formaldehyde. Histochem. Cytochem., 1962, v. 10, p. 348–354.
 16. Stefulj J., Cicin-Saint L., Schauenstein K. et al. Serotonin and immune response effect of the amine on in vitro proliferation of rat lymphocytes. Neuroimmunomodulation, 2001, v. 9, p. 103–108.

Поступила в редакцию 14.10.08
Получена после доработки 07.03.10

REACTION OF MONOAMINE-CONTAINING STRUCTURES OF RAT SPLEEN TO ACUPUNCTURE

Ye.A. Guryanova, Ye.V. Liubovtseva, O.S. Krotkova, L.A. Liubovtseva and O.V. Ivanova

Using the method of luminescent microscopy, the catecholamine (CA) and serotonin (S) content was examined in spleen structures, and the interrelations between them were traced in rats before and 15 minutes, 1, 2 and 4 hours after the acupuncture in LI 4 and GV 14 points. It was found that after acupuncture, neurotransmitter content in splenic red and white pulp was changed already in 15 minutes. The changes of CA and S content in granular luminescent cells (GLC) of the germinal centers of spleen lymphoid nodules had a wavy character. At the same time, the correlations between monoamine content in the central arteriole wall and in germinal center GLCs, as well as that one between GLCs and germinal center lymphocytes, became strong positive. The data obtained suggest the presence of an immune-stimulating component in acupuncture, which became apparent during the first hour and persisted for 4 hours after a single acupuncture in GV 14 and LI 4 points.

Key words: *spleen, serotonin, catecholamines, luminescent microscopy, acupuncture*

Department of Histology, Cytology and Embryology, I.N. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary

© А.С. Фомина, С.В. Пронина, 2010
УДК 611.438:616-002.9:598.422

А.С. Фомина¹ и С.В. Пронина²

РЕАКЦИЯ ЭОЗИНОФИЛОВ ТИМУСА И БУРСЫ СЕРЕБРИСТОЙ ЧАЙКИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЗАРАЖЕНИИ ЛЕНТЕЦОМ ЧАЕЧНЫМ

¹ Лаборатория паразитологии и экологии гидробионтов (зав. — проф. Н.М. Пронин), Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН; ² кафедра анатомии и физиологии (зав. — канд. мед. наук Э.А. Алексеева), медицинский факультет, Бурятский государственный университет, г. Улан-Удэ, e-mail: anafoma@mail.ru

Методами световой микроскопии исследовали топографию, количественные и качественные изменения (степень дегрануляции и содержание катионных белков) эозинофилов в тимусе и бурсе 36 птенцов серебристой чайки через 2 нед после экспериментальной инвазии лентецом чаечным. В тимусе эозинофилы располагаются в трабекулах, преимущественно вблизи сосудов, тимусных телец и непосредственно в них, в бурсе — в межузловом пространстве. Относительное содержание эозинофилов при средней интенсивности инвазии птиц по сравнению с контролем увеличивается: в тимусе — в 3,8 раза, в бурсе — в 2,5 раза; при высокой интенсивности инвазии птиц: в тимусе — в 4 раза и в бурсе — в 1,2 раза.

Ключевые слова: эозинофилы, тимус, тимусные тельца, бурса, дифиллоботриоз.

Эозинофилы являются клетками-эффекторами и участвуют в защитных реакциях, взаимодействуя с базофилами, тучными клетками, макрофагами, лимфоцитами, IgE и системой комплемента [6]. Они участвуют в аллергических реакциях и противогельминтном иммунитете, являются важным фактором поддержания тканевого гомеостаза. В связи с этим большое значение

в патогенезе различных гельминтозов придается оценке изменения количества эозинофилов и их функционального состояния в периферической крови и органах непосредственной локализации гельминтов. Сведения о количественных и качественных изменениях эозинофилов в органах гемопоэза и иммунной защиты животных при гельминтозах единичны [13].

Целью настоящей работы явилось исследование особенностей реакции эозинофилов в центральных органах иммунопоэза (тимусе и бурсе) серебристой чайки при инвазии лентецом чаечным. Выбор объекта исследования определен следующим. Лентец чаечный имеет эпидемиологическое значение, поскольку на имагинальной фазе, кроме рыбоядных птиц (при абсолютной доминирующей роли серебристой чайки в байкальском природном очаге), может паразитировать у человека и домашних плотоядных животных.

Материал и методы. Объектом исследования служили 36 птенцов обоего пола серебристой чайки — *Larus argentatus mongolicus* (Suskin, 1925), которые в возрасте 3–5 сут были отловлены из колонии на острове Малый Калтыгей Чивыркуйского залива оз. Байкал. Птиц содержали в садках на полевом стационаре ИОЭБ СО РАН «Монахово». Экспериментальное заражение птенцов лентецом чаечным — *Diphyllbothrium dendriticum* (Nitsch, 1824) проводили скормливанием плероцеркоидов, выделенных от байкальского омуля, в дозе по 10, 20 и 30 экземпляров на одну птицу. Тимус и бурсу для исследования брали после декапитации, которую производили через 2 нед после заражения. Это связано с тем, что гельминт в организме хозяина достигает половозрелости на 12-е сутки, после чего подвергается резорбции и элиминации организмом хозяина. Все эксперименты проведены согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных». Птиц после взятия органов и фиксации (10% нейтральным формалином и жидкостью Карнуа) исследовали на зараженность гельминтами. Для сравнительного анализа изменений в органах птенцы были разделены на три группы: незараженные (6 чаек) и по 15 чаек со средней (1–5 экз.) и сильной (7–28 экз.) зараженностью лентецом чаечным. Парафиновые срезы органов толщиной 3–5 мкм окрашивали гематоксилином Эрлиха с докраской эозином, по методу Маллори, азуром II—эозином по Романовскому. Отпечатки окрашивали азуром II—эозином по Романовскому—Гимза. Гистометрические исследования проводили общепринятыми методами [1]. Клетки подсчитывали в случайно выбранных 5 срезах из разных отделов органов. На отпечатках определяли относительное количество различных клеточных форм под световым микроскопом МС 300А (Micros, Австрия). Определяли среднее количество эозинофилов в поле зрения микроскопа при увеличении в 1000 раз на площади 1 мм². Неферментативный катионный белок в эозинофилах выявляли методом с бромфеноловым синим [2]. Для количественного выражения содержания катионного белка рассчитывали средний цитохимический коэффициент (СЦК), результаты выражали в условных единицах [2]. Показателем усиления цитотоксичности эозинофилов может быть повышение их дегрануляции [4]. В связи с этим, об активности клеток судили по степени их дегрануляции, разделив клетки условно на три группы: клетки с сильной, средней и слабой дегрануляцией. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программы «Statistica» для непараметрических данных (Mann – Whitney U-тест) при $P \leq 0,05$, $P \leq 0,001$.

Результаты исследования. В тимусе эозинофилы располагаются в трабекулах,

преимущественно в мозговом веществе, где они концентрируются вблизи кровеносных сосудов тимусных телец и непосредственно в них. Часто среди эозинофилов, концентрирующихся около тимусных телец, находятся нейтрофильные гранулоциты (псевдоэозинофилы). Они отличаются овальной формой гранул и так же, как эозинофилы, окрашиваются оксифильно по методу Маллори. Форма клеток — сферическая (диаметр $10,8 \pm 0,5$ мкм) либо эллипсоидная (диаметр $10,7 \pm 0,5 \times 13,2 \pm 0,5$ мкм). Ядра в эозинофилах тимуса могут быть сегментированные и несегментированные.

В бурсе эозинофилы располагаются в основном в межузелковых пространствах. Лишь при средней интенсивности инвазии отмечаются единичные клетки в мантии лимфоидных узелков. Размером, формой гранул и характером окраски эозинофилы бursы не отличаются от таковых тимуса. Однако в бурсе преобладают эозинофилы с несегментированными ядрами, они богаче гранулами по сравнению с клетками тимуса.

Относительное содержание эозинофилов в тимусе и бурсе у птиц, зараженных лентецом чаечным, значимо выше по сравнению с таковым у незараженных чаек (табл. 1). В то же время, при инвазии лентецом наблюдается значимое снижение СЦК, отражающего содержание катионного белка (табл. 2).

В тимусе незараженных птенцов преобладают эозинофилы со слабой дегрануляцией. Содержание клеток со средней и сильной дегрануляцией в тимусе зараженных особей значимо выше по сравнению с таковым у незараженных птиц (табл. 3). Бурса зараженных птиц по содержанию эозинофилов со слабой и средней дегрануляцией значимо не отличается от бursы интактных особей. Содержание эозинофилов с сильной дегрануляцией в бурсе птиц со средней интенсивностью инвазии снижено в 1,6 раза по сравнению с таковым у интактных птиц, а у сильно зараженных особей они вообще не выявлены (см. табл. 3).

Таблица 1

Содержание эозинофилов на срезах тимуса и бursы серебристой чайки при разной интенсивности инвазии лентецом чаечным ($\bar{x} \pm \bar{s}$, %)

Группа	Тимус	Бурса
Интактные	$0,6 \pm 0,3$	$1,8 \pm 0,8$
Птицы со слабой интенсивностью инвазии	$2,31 \pm 0,14^*$	$4,4 \pm 0,7^*$
Птицы с сильной интенсивностью инвазии	$2,49 \pm 0,17^*$	$2,0 \pm 0,7^*$

Здесь и в табл. 2 и 3: * различия значимы по сравнению с контролем при $P \leq 0,05$; ** при $P \leq 0,001$.

Таблица 2

Содержание внутриклеточного катионного белка (СЦК) эозинофилов тимуса и бursы серебристой чайки в норме и при инвазии лентецом чаечным ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, усл. ед.)

Группа птиц	Тимус	Бурса
Интakтные	2,67±0,16	2,43±0,11
Зараженные	1,98±0,16*	2,21±0,14*

Примечание. СЦК — средний цитохимический коэффициент катионных белков рассчитан для одной клетки на отпечатках органов по L. Karlow (1955).

Обсуждение полученных данных. Концентрация эозинофилов вблизи и внутри тимусных телец дает основание рассматривать их во взаимосвязи с функцией этих структур. Существует точка зрения, что тельца выполняют фагоцитарную функцию и функцию хранения антигена [9], осуществляют сегрегирование антигена из других иммунокомпетентных клеток [10]. Увеличение размеров и числа тимусных телец отмечается при острых и инфекционных процессах [11]. В последние годы роль тимусных телец и мозгового вещества тимуса все чаще связывают с функцией активации регуляторных клеток — Treg [14]. Известно, что в пределах тимусных телец эпителиальные клетки экспрессируют стромальный лимфопоэтин и интерлейкин-7, которые необходимы для активации дендритных клеток. Активированные дендритные клетки стимулируют дифференцировку Т-лимфоцитов в направлении Treg [14], активация которых происходит в присутствии интерлейкина-4 [8], синтезируемого эозинофилами [7]. Возможно, этим и объясняется повышение их количества и функциональной активности вблизи и внутри тимусных телец в дольках тимуса чайки при инвазии лентецом.

Совместное расположение эозинофилов и нейтрофилов связано, по-видимому, с хемотаксической функцией эозинофилов. Известно, что главный основной белок эозинофилов активирует функцию нейтрофилов, отмечено также повышение уровня токсической функции нейтрофилов

при взаимодействии пероксидазы эозинофилов с клетками-мишенями [6].

Снижение содержания катионного белка в эозинофилах тимуса и бursы, возможно, связано с тем, что часть эозинофилов этих органов являются иммигрантами из очага воспаления (тонкой кишки), где они его выделили, поскольку катионный белок обладает токсичностью для бактерий и гельминтов [2]. Миграция эозинофилов из очага воспаления в иммунокомпетентный орган описана в литературе: при заражении крыс стронгилидами наблюдали миграцию эозинофилов из очага воспаления (легкого) в лимфатический узел [12].

Полученные нами результаты свидетельствуют о значительном увеличении относительного содержания эозинофилов в тимусе серебристой чайки при инвазии лентецом чаечным. Так, в тимусе относительное содержание эозинофилов при средней интенсивности инвазии лентецом чаечным увеличивается в 3,8 раза, а при высокой — более чем в 4 раза. В бурсе у зараженных птиц содержание эозинофилов также увеличивается при средней интенсивности инвазии в 2,5 раза, при высокой — в 1,2 раза. При инвазии лентецом чаечным повышается и активность эозинофилов. В тимусе содержание клеток со средней дегрануляцией при средней интенсивности инвазии увеличивается в 3 раза, при высокой — в 7 раз. Возрастает и содержание клеток с сильной дегрануляцией: при средней интенсивности инвазии — в 2,7 раза, при высокой — в 8 раз. Бурса зараженных птиц значимо отличается от таковой интактных особей только содержанием сильно дегранулированных эозинофилов, и это отличие имеет противоположную направленность по сравнению со сдвигом в тимусе.

При инвазии серебристой чайки лентецом чаечным ранее наблюдали эозинофилию в слизистой оболочке тонкой кишки (орган локализации паразита) [5], изменение реакции эозинофилов периферической крови [3]. Результаты этих

Таблица 3

Содержание эозинофилов с разной степенью дегрануляции в тимусе и бурсе серебристой чайки в норме и при разной интенсивности инвазии лентецом чаечным ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)¹

Группа птенцов	Степень дегрануляции					
	Слабая		Средняя		Сильная	
	Тимус	Бурса	Тимус	Бурса	Тимус	Бурса
Интakтные	2,7±0,8	0,07±0,03	0,81±0,21	0,25±0,09	0,52±0,27	0,21±0,10
Птицы со средней интенсивностью инвазии	1,96±0,27	0,14±0,04	2,4±0,3*	0,27±0,09	1,41±0,27**	0,13±0,06*
Птицы с высокой интенсивностью инвазии	2,6±0,4	0,14±0,06	5,6±1,0*	0,50±0,12	4,2±0,8**	0

¹ Абсолютное содержание эозинофилов в одном поле зрения на отпечатках органов при увеличении в 1000 раз.

исследований, как и наши данные, свидетельствуют об активном участии эозинофилов в патогенезе дифиллоботриоза, вызываемого лентецом чаечным у облигатного дефинитивного хозяина серебристой чайки.

Полученные результаты дополняют имеющиеся данные о патогенезе дифиллоботриоза, вызываемого лентецом чаечным. Количественные и качественные изменения эозинофилов в тимусе и бурсе серебристой чайки при дифиллоботриозе подтверждают имеющиеся данные о значительной роли эозинофилов в противопаразитарном иммунитете. Топография и взаимодействие эозинофилов с тимусными тельцами дают основание полагать, что они могут участвовать в регуляции дифференцировки Т-лимфоцитов в центральных органах иммунной защиты птиц.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 08-04-98035_Сибирь_а и проекта «Инновационные и научные исследования Бурятского государственного университета, 2007».

Авторы благодарят заведующего лабораторией паразитологии и экологии гидробионтов ИОЭБ СО РАН д-ра биол. наук Н.М. Пронина и сотрудников ИОЭБ СО РАН канд. биол. наук И.А. Кутырева, канд. биол. наук О.Е. Мазур, Л.В. Толочко за помощь в организации и проведении эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. М., Медицина, 1990.
2. Лабораторные методы исследования в клинике. Под ред. В.В. Меньшикова. М., Медицина, 1987.
3. Мазур О.Е., Пронин Н.М. и Толочко Л.В. Гематологические и иммунологические характеристики птенцов серебристой чайки (*Larus argentatus*) при экспериментальном заражении *Diphyllbothrium dendriticum* (Ctstoda: Pseudophyllidae). Изв. РАН, серия биол., 2007, № 4, с. 420–427.
4. Озерецковская Н.Н. Органная патология в острой стадии тканевых гельминтозов: роль эозинофилии крови и тканей, иммуноглобулинемии Е, G4 и факторов, индуцирующих иммунный ответ. Медицинская паразитология, 2000, № 3, с. 3–8.
5. Пронина С.В., Мазур О.Е., Пронин Н.М. и др. Патоморфология органов пищеварительной системы дефинитивных хозяев при инвазии лентецом чаечным *Diphyllbothrium dendriticum* в эксперименте. Вестн. Бурятск. гос. акад. им. В.Р. Филиппова, 2009, № 3(16), с. 14–19.
6. Фрейдлин И.С. и Тотолян А.А. Клетки иммунной системы. СПб., Наука, 2001, т. 5, Эозинофилы.
7. Akuthota P., Wang H.B., Spencer L.A. and Weller P.E. Immunoregulatory roles of eosinophils: a new look at a familiar cell. Clin. Exp. Allergy., 2008, v. 38, № 8, p. 1254–1263.
8. Bayer A.L. and Malek T.R. The role of IL-2 in the development and peripheral homeostasis of naturally CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory occurring T cells. In: Regulatory Tcells and Clinical Application, Chapter4, New York, Springer Science + Business Media, 2008, p. 57–76.
9. Blau J.N. A phagocytic function of Hassall's corpuscles. Nature, 1965, v. 208, p. 564–567
10. Blau J.N. and Veall N. The uptake and localization of proteins, Evans Blue and carbon black in the normal and pathological thymus of the guinea-pig. Immunology, 1967, v. 12), p. 363–372.
11. Bodey B., Siegel S.E. and Kaiser H. Immunological aspects of neoplasia — the role of the thymus. New York, Kluwer Acad. Publ., 2004.
12. van Rijt L., Vos N., Hijdra D. et al. Airway eosinophils accumulate in the mediastinal lymph nodes but lack antigen-presenting potential for naïve T cells. J. Immunol. 2003, v. 173, p. 3372–3378.
13. Wang H.B., Jhiran I., Matthaek K. and Weller P. Airway eosinophils allergic inflammation recruited professional antigen-presenting cells. J. Immunol., 2007, v. 179, p. 7585–7592.
14. Watanabe N., Wang H., Lee N.K. et al. Hassall's corpuscles instruct dendritic cells to induce CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in human thymus. Nature, 2005, v. 436, p. 1181–1185.

Поступила в редакцию 16.02.10

Получена после доработки 26.06.10

THE REACTION OF THE BURSA AND THYMUS EOSINOPHILS IN THE HERRING GULL AFTER THE EXPERIMENTAL INFECTION WITH GULL-TAPEWORM

A.S. Fomina and S.V. Pronina

Using the methods of light microscopy, eosinophil topography, quantitative and qualitative changes (degranulation level of and a cationic protein content) were studied in the thymus and bursa of 36 herring gull nestlings *Larus argentatus mongolicus* (Suskin, 1925) 2 weeks after experimental infestation with gull-tapeworm *Diphyllbothrium dendriticum* (Nitsch, 1824). Eosinophils in the thymus were located in trabecules, mainly close to the blood vessels, thymic (Hassall's) corpuscles and also directly inside them, while in the bursa they were found within the internodular space. As compared with the control bird counts, relative eosinophil count in the birds with an average invasion intensity was increased 3.8 times in the thymus and 2.5 times in the bursa. In birds with high invasion intensity, these counts were increased 4 times in the thymus and 1.2 times in the bursa.

Key words: eosinophils, thymus, thymic corpuscles, bursa, diphyllbothriasis

Laboratory of Parasitology and Hydrobiont Ecology, RAS SB Institute of General and Experimental Biology; Department of Anatomy and Physiology, Medical Faculty, Buryat State University, Ulan-Ude