

© Коллектив авторов, 2011
УДК 611.428:611.383:612.76:599.323.4

К.А. Гарунова, Д.Е. Григоренко и Г.Г. Аминова

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БРЫЖЕЕЧНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГИПОКИНЕЗИИ

Лаборатория функциональной анатомии (руков. — академик РАМН проф. М.Р. Сапин),
Научно-исследовательский институт морфологии человека РАМН, Москва

С помощью гистологических методов исследовали качественные и количественные изменения клеточного состава брыжеечных лимфатических узлов 20 самцов крыс Вистар после экспериментальной 30-суточной гипокинезии, а также 10 крыс спустя 1 мес после окончания ограничения подвижности. Установлено, что гипокинезия приводит к массовой гибели клеток лимфоидного ряда в структурных зонах органа, подавлению процессов лимфоцитопоеза, сокращению числа плазматических клеток и макрофагов, что свидетельствует об ослаблении иммунных реакций. Через 30 сут после окончания гипокинезии отмечаются процессы перестройки клеточного состава в брыжеечных лимфатических узлах, направленной на восстановление их функциональной активности, однако полного восстановления цитоархитектоники в структурных зонах лимфатических узелков не происходит.

Ключевые слова: лимфатический узел, лимфоцитопоез, деструкция клеток, гипокинезия

Известно, что органы иммуногенеза являются лабильными структурами, реагирующими на разнообразнейшие воздействия [2, 6]. Вместе с тем, остается не изученной реакция периферических органов иммунной системы на гипокинезию, которая широко распространена в современном обществе и является важным медицинским и социальным фактором. Особую роль этот фактор играет в условиях космического полета при невесомости [5, 9]. В связи с этим целью данного исследования явилось изучение цитоархитектоники лимфатических узлов при моделировании гипокинезии и в процессе восстановления после нее.

Материал и методы. Объектом исследования были половозрелые крысы-самцы Вистар 3-месячного возраста массой 250–300 г. Гипокинезию моделировали при помощи мягкой фиксации хвоста крысы поролоновыми зажимами (во избежание некроза) к подвижной основе, достигая положения крысы под углом в 45°, при этом задние конечности крыс приподнимались на 1 см выше уровня пола. С помощью передних конечностей животные могли передвигаться по клетке, свободно пользоваться водой и пищей. 20 животных находились в таком положении в течение 30 сут, 10 из них выведены из эксперимента сразу после окончания действия гипокинезии, остальные 10 животных — спустя 30 сут восстановления. Третья группа состояла из 10 интактных животных. Крыс выводили из опыта методом декапитации (гильотиной). При проведении эксперимента соблюдали «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденные МЗ СССР, № 755 от 12.08.1977 г. Брыжеечные лимфатические узлы фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали азуром II-эозином, гематоксилином-эозином и по Ван-Гизону. Клеточный состав герминативных центров лимфоидных узелков, паракортикальной зоны, моз-

говых тяжей и мозговых синусов исследовали на стандартной площади срезов, равной 880 мкм², с помощью сетки С.Б. Стефанова. Статистическая обработка результатов проведена по программе «Statistica 6.0», анализ результатов — с использованием средней арифметической, ошибки средней, критерия Стьюдента. Значимыми считали различия при $P \leq 0,05$. Эксперимент выполнен на базе Института медико-биологических проблем РАН.

Результаты исследования. В брыжеечных лимфатических узлах крыс после 30-суточной гипокинезии в герминативных центрах лимфоидных узелков исчезают клетки с картинами митозов (таблица). По сравнению с интактной группой крыс во всех структурных зонах органа в 2,6–5,6 раза уменьшается число малодифференцированных клеток (бластов и больших лимфоцитов). В паракортикальной зоне и в мозговых синусах они полностью исчезают (см. таблицу). По-разному изменяется содержание малых лимфоцитов. В паракортикальной зоне и в мозговых синусах их число снижается соответственно в 1,2 и 1,6 раза. В мозговых тяжах количество лимфоцитов после действия гипокинезии увеличивается (в 7,5 раза). Усиливается деструкция клеток, особенно в герминативных центрах лимфоидных узелков (в 12,8 раза выше по сравнению с таковой в интактной группе). Большое количество клеток, находящихся в состоянии деструкции, скапливается в мозговых синусах (до 7,8 клеток на стандартной площади среза). В меньшей степени разрушающиеся клетки обнаруживаются в паракортикальной зоне. Наряду с этим, в паренхиме брыжеечного лимфатического узла исчезают макрофаги. В мозговых синусах их доля умень-

шается в 10,7 раза (с 7,8 до 0,8 клеток в абсолютном выражении). Весьма значительно влияние гипокинезии отражается на содержании плазматических клеток, характеризующих состояние гуморального иммунитета в органе. У интактных крыс в мозговых тяжах насчитывается более 70% плазматических клеток (до 13,4 клетки на исследуемой площади среза). После 30-суточной гипокинезии их присутствие в мозговых тяжах

сокращается в 71 раз, т.е. они практически исчезают. В мозговых синусах доля этих клеток также уменьшается (в 9,4 раза). В паракортикальной зоне плазматические клетки не выявлены. На 30-е сутки эксперимента в мозговых синусах появляются гранулоциты (2,8%).

Спустя 30 сут после окончания гипокинезии, отмечаются морфологические признаки, свидетельствующие о процессах восстановления функ-

Клеточный состав структурных компонентов брыжеечных лимфатических узлов крыс после 30-суточной гипокинезии и через 30 сут после ее окончания ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, %)

Исследованная зона	Клетки	Сроки эксперимента		
		Интактные	Через 30 сут гипокинезии	Через 30 сут после окончания гипокинезии
Герминативный центр лимфоидных узлов	Бласты	11,3±0,8	1,16±0,03*	1,50±0,03*
	Большие лимфоциты	10,2±0,7	2,6±0,3*	10,8±0,5
	Клетки с картинами митозов	2,7±0,3	0	2,46±0,11
	Малые лимфоциты	20,5±1,4	20,1±1,1	18,7±0,8
	Плазмобласты	0,70±0,03	0,77±0,08	0
	Плазмоциты	0	0	0
	Макрофаги	20,5±1,3	0	8,86±0,21*
	Деструктивно измененные	2,7±0,3	35,2±2,2*	21,2±1,1*
Паракортикальная зона	Бласты	1,70±0,05	0	1,37±0,04*
	Большие лимфоциты	2,00±0,06	0	1,82±0,03
	Клетки с картинами митозов	0	0	0
	Малые лимфоциты	54±3	43,7±2,0*	41,7±2,4*
	Плазмобласты	2,56±0,04	0	0
	Плазмоциты	0,470±0,020	0	0
	Макрофаги	2,94±0,04	0	2,70±0,21
	Деструктивно измененные	6,0±0,3	30,1±2,2*	17,2±0,7*
Мозговые тяжи	Бласты	1,05±0,06	0,400±0,010*	0,93±0,12
	Большие лимфоциты	1,23±0,04	1,72±0,03*	1,05±0,04
	Клетки с картинами митозов	0	0	1,46±0,12*
	Малые лимфоциты	6,2±0,4	34,7±2,3*	35,2±2,0*
	Плазмобласты	5,3±0,3	0,300±0,010*	0
	Плазмоциты	72,8±2,2	0,80±0,04*	6,5±0,3*
	Макрофаги	1,42±0,06	0	8,1±0,3*
	Деструктивно измененные	4,2±0,7	35,2±2,1*	10,0±0,6*
Мозговые синусы	Бласты	1,78±0,03	0	0
	Большие лимфоциты	0,66±0,04	0	0
	Клетки с картинами митозов	0	0	0
	Малые лимфоциты	42,5±2,1	25,1±1,1*	30,0±1,3*
	Плазмобласты	0,560±0,020	0,510±0,020	2,00±0,03*
	Плазмоциты	4,80±0,23	0,510±0,020*	4,0±0,3
	Макрофаги	38,9±2,5	3,63±0,20*	6,0±0,3*
	Деструктивно измененные	3,1±0,8	32,7±2,3*	20,0±0,8*

* Различия значимы при $P \leq 0,05$ по сравнению с интактной группой.

циональной активности лимфатических узлов крыс. В герминативных центрах лимфоидных узелков и в мозговых тяжах появляются клетки с картинами митозов, содержание которых достигает исходных значений (см. таблицу). В этих же зонах доля малодифференцированных клеток увеличивается соответственно в 3,2 и 2,3 раза. Малодифференцированные клетки появляются также в паракортикальной зоне. В мозговых тяжах и в мозговых синусах увеличивается число плазматических клеток, соответственно в 8,0 и в 5,8 раза, главным образом, за счет плазмочитов (см. таблицу). Суммарная доля лимфоцитов в паракортикальной зоне и в мозговых тяжах остается сниженной — на уровне показателей 30-суточной гипокинезии (см. таблицу). В структурных зонах лимфатического узла значительно ослабевают процессы разрушения клеток (в 1,6–3,5 раза). Появляются макрофаги, их доля в мозговых тяжах превышает интактные показатели в 5,6 раза, но в мозговых синусах, напротив, уменьшается в 6,4 раза. Наряду с этим, в паракортикальной зоне и в мозговом веществе лимфатического узла сохраняются клетки гранулоцитарного ряда, среди которых преобладают эозинофилы (0,62 и 3,48% соответственно).

Обсуждение полученных данных. Результаты эксперимента показали, что воздействие 30-суточной гипокинезии на организм крыс характеризуется, в первую очередь, резким усилением распада клеток и подавлением пролиферации в брыжеечных лимфатических узлах. Это приводит к уменьшению количественных показателей всех клеток лимфоидного ряда и замедлению процессов формирования плазматических клеток, что является морфологическим признаком ослабления гуморального иммунитета [2, 7]. Учитывая системный характер реакции лимфатических узлов организма, можно предположить развитие функциональной недостаточности всех органов иммуногенеза в условиях гипокинезии [10, 11]. Полученные результаты согласуются с имеющимися данными литературы об изменениях лимфоидной ткани в стенках пищеварительного тракта крыс и в паховых лимфатических узлах у обезьян при гипокинезии [1, 3, 4]. Выявленное нами и другими авторами уменьшение содержания малодифференцированных клеток и клеток с картинами митозов в условиях гипокинезии может быть связано с гибелью клеток, ослаблением лимфоцитопоэтической функции исследуемых узлов, а также ограничением поступления клеток по сосудам в паренхиму органа [12].

Исходя из полученных результатов, встает закономерный вопрос о возможности развития

обратных процессов — восстановления кооперации клеток в лимфатических узлах крыс после гипокинезии. Установлено, что в отдаленный период, спустя 30 сут после прекращения гипокинезии, резко ослабляются процессы разрушения клеток. Появляются морфологические признаки усиления лимфоцитопоэза: значительно увеличивается число малодифференцированных клеток и клеток с картинами митозов. В мозговых тяжах и синусах увеличивается доля плазматических клеток, что свидетельствует о процессах восстановления гуморального иммунитета [2]. Наряду с уменьшением деструктивных процессов, резко возрастает число макрофагов. Вместе с тем, в исследуемых лимфатических узлах сохраняются гранулоциты с преобладанием эозинофилов, что связано, видимо, с продолжающимся поступлением антигенов [8]. Показано, что через 30 сут после окончания действия гипокинезии полного восстановления цитоархитектоники в структурных зонах лимфатических узлов не происходит. Этот период соответствует незавершенной реадaptации к вновь активизировавшейся двигательной активности животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березина Е.В., Ерофеева Л.М. и Краснов И.Б. Лимфоидная ткань в стенках желудка при гиподинамии. *Морфология*, 2008, т. 133, вып. 4, с. 58.
2. Бородин Ю.И., Григорьев В.Н., Летягин А.Ю. и др. Функциональная морфология иммунной системы, Новосибирск, Наука, 1987.
3. Григоренко Д.Е. и Ганиева А.И. Особенности распределения лимфоидной ткани в разных отделах слепой кишки интактной группы крыс и после действия гипокинезии. В кн.: Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии. Сб. науч. трудов НИИ МЧ РАМН. М., 2010, с. 51–55.
4. Ерофеева Л.М., Сапин М.Р., Корольков В.И. и Кротов В.П. Сравнительное изучение действия гипокинезии и водной иммерсии на морфологию паховых лимфатических узлов обезьян. *Морфология*, 2007, т. 131, вып. 3, с. 68–69.
5. Константинова И.В. Система иммунитета в экстремальных условиях. Проблемы космической биологии. М., Наука, 1988, т. 59.
6. Сапин М.Р. и Никитюк Д.Б. Иммунная система, стресс и иммунодефицит. М., АПП Джангар, 2000.
7. Сапин М.Р. и Этинген Л.Е. Иммунная система человека. М., Медицина, 1996.
8. Серов В.В. и Шехтер А.Б. Соединительная ткань. М., Медицина, 1981.
9. Смирнов К.В. Пищеварение и гипокинезия. М., Медицина, 1990.
10. Труфакин В.А. и Шмаков А.Н. Иммунная система и ее регуляторная роль в процессах пролиферации и дифференцировки в организме. *Вестн. АМН СССР*, 1991, № 2, с. 23–29.
11. Хаитов Р.М. и Пинегин Б.В. Иммунодефициты: диагностика и иммунотерапия. *Лечащий врач*, 1999, № 2–3, с. 63–72.

12. Vaček A., Michurina T. and Serova L.V. Decrease in the number of progenitors of erythrocytes, granulocytes and macrophages in bone marrow of rats after a 14-day flight on board the Cosmos -2044 Biosatellite. *Folia Biol.*, 1991, v. 37, p. 35–41.

Поступила в редакцию 24.08.10

MORPHOLOGICAL PECULIARITIES OF MESENTERIC LYMPH NODES IN HYPOKINESIA MODELING

K.A. Garunova, D.Ye. Grigorenko and G.G. Aminova

Using histological methods, qualitative and quantitative changes in cell composition were studied in mesenteric lymph

nodes in 20 male Wistar rats after experimental 30 days-long hypokinesia, and in 10 rats 1 month following the cessation of mobility restriction. Hypokinesia was found to result in massive destruction of lymphoid cells in the structural organ zones, suppression of lymphocytopoiesis, reduction in plasma cell and macrophage numbers, indicating the dampening of the immune reactions, however the full restoration of the cytoarchitectonics in the structural zones of lymph nodes did not take part 30 days following the cessation of hypokinesia.

Key words: *lymph node, lymphocytopoiesis, cell destruction, hypokinesia*

Laboratory of Functional Anatomy, RAMS Institute of Morphology, Moscow

© И.В. Леонтьева, В.Л. Быков, 2011
УДК 611.31.018.25:599.323.4

И.В. Леонтьева и В.Л. Быков

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИТЕЛИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА ПРИ ВВЕДЕНИИ ЦИТОСТАТИКА

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. — проф. В.Л. Быков), Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова

Влияние цитостатика циклофосфана (ЦФ) на эпителий языка изучали на 90 самках мышей с использованием гистологических, морфометрических, количественных гистохимических и иммуногистохимических методов. ЦФ в дозе 400 мг/кг массы тела вводили внутривенно трижды с интервалом в 48 ч. Материал получали через 2 сут после инъекций препарата и спустя 10–20 сут после их прекращения. Показано, что воздействие ЦФ приводит к повреждению покровного эпителия и эпителия малых слюнных желез языка. Повреждения покровного эпителия более выражены на вентральной поверхности языка, где происходит преимущественное нарушение пролиферативной активности эпителиоцитов. На дорсальной поверхности изменения проявляются нарушениями процессов дифференцировки и десквамации. Железистый эпителий повреждается в меньшей степени, чем покровный, причем сероциты более чувствительны к цитотоксическому воздействию, чем мукоциты. После отмены цитостатика наблюдается тенденция к нормализации характеристик эпителия. Наиболее стойкие изменения в покровном эпителии отмечены на дорсальной поверхности языка, а в железином эпителии — в белковых концевых отделах слюнных желез.

Ключевые слова: *полость рта, покровный эпителий, малые слюнные железы, циклофосфан*

Применение цитостатиков при химиотерапии онкологических заболеваний и подготовке к пересадке костного мозга часто вызывает развитие поражения слизистой оболочки полости рта (СОПР) — мукозита [2, 5, 13, 17, 28]. Это осложнение характеризуется повреждением главного защитного барьера слизистой оболочки — эпителия — с развитием его структурных и функциональных нарушений, вплоть до очаговой деструкции (изъязвления), которая в сочетании с лейкопенией создает условия для развития опасного для жизни системного инфекционного процесса [3, 4, 18, 29]. Между тем, сведения об изменениях эпи-

телиа СОПР в условиях цитостатической терапии немногочисленны [19, 21, 26], хотя они необходимы для разработки эффективных клинических методов профилактики и лечения мукозитов. Эти данные могут представлять и теоретический интерес для биологии тканей, поскольку позволяют оценить развитие процессов повреждения и регенерации эпителия СОПР в уникальных условиях введения цитостатиков, вызывающих цитотоксический эффект и подавляющих пролиферативную активность тканей. Поэтому целью настоящей работы явилось экспериментальное морфофункциональное изучение повреждающего действия