

© Е.А. Иванова, 2011
УДК 611.42:611.343:616.8-008.615:599.323.4

Е.А. Иванова

ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ЛИМФОИДНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ТОЩЕЙ КИШКИ У КРЫС ПРИ СТРЕССОРНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Кафедра анатомии человека (зав. — проф. М.Р. Сапин), Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, e-mail: elena.al.ivanova@gmail.com

С помощью комплекса морфологических методов изучали особенности реакции лимфоидных образований тощей кишки у 105 крыс Вистар с учетом их поведенческих характеристик (стрессоустойчивости). Исходно у пассивных (не устойчивых к стрессу) крыс выявлено большее количество клеток лимфоидного ряда и плазмочитов на фоне макрофагальной реакции по сравнению с активными животными, что может свидетельствовать о большей активности иммунных структур у этой группы животных. У поведенчески активных крыс воздействие стресса менее выражено, процессы восстановления происходят быстрее по сравнению с таковыми у пассивных животных. К 14-м суткам после окончания эксперимента у активных особей отмечали восстановление численности клеток лимфоидного ряда в стенке кишки, а у пассивных крыс происходило усиление процессов деструкции клеток лимфоидного ряда на фоне макрофагальной реакции.

Ключевые слова: тощая кишка, лимфоидные образования, стрессовое воздействие, крысы

Лимфоидные образования, ассоциированные со слизистой оболочкой тонкой кишки, относятся к органам периферической иммунной системы и расцениваются как ее первый барьер [3, 7, 8, 10].

В последние годы иммунным структурам уделяется все большее внимание при изучении эмоционального стресса [2, 5, 9, 12–15]. Между тем, в однотипных экспериментальных конфликтных ситуациях, порождающих эмоциональный стресс, выявляются животные, устойчивые и предрасположенные к стрессу по выживаемости и нарушению различных функциональных систем [11, 12].

В научной литературе отсутствуют материалы о морфофункциональных характеристиках структур иммунной системы в стенке тонкой кишки у экспериментальных животных с учетом их поведенческих характеристик. Временные параметры реагирования этих структур на стресс до сих пор остаются неизвестными. Поэтому целью настоящего исследования явилось изучение индивидуальных особенностей реакции лимфоидных образований тощей кишки у крыс с различными поведенческими характеристиками (стрессоустойчивостью) при экспериментальной стрессорной нагрузке.

Материал и методы. Эксперименты проведены на 105 крысах-самцах Вистар массой 220 ± 5 г в осенне-зимний период. В постановке эксперимента руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (ГУ НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, протокол №1 от 03.09.2005 г.) и «Правилами по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных» (МЗ СССР, 1977 г.; МЗ РСФСР, 1977 г.).

Индивидуально-типологические характеристики крыс определяли при их тестировании в «Открытом поле» [4, 11]. На основании полученных результатов, выделены 2 группы крыс: поведенчески активные ($n=54$) (индекс активности 4,5–6) и пассивные ($n=51$), предрасположенные к эмоциональному стрессу животные (индекс активности 0,2–0,6).

В качестве модели стрессорного воздействия применяли иммобилизацию животных в плексигласовых боксах с электрокожным раздражением. Крысам в течение 1 ч по стохастической схеме импульсами с пороговыми значениями напряжения 4–6 В, частотой 50 Гц наносили раздражение в области спины.

Животных выводили из эксперимента методом декапитации по окончании 1-часового стрессорного воздействия (острый период стресса), а также через 1, 3, 7 и 14 сут после эксперимента. Крыс соответствующих контрольных групп декапитировали одновременно с подопытными животными.

У каждой крысы брали срединную часть тощей кишки длиной около 1 см (строго напротив брыжеечных лимфатических узлов). Изготавливали гистологические препараты по стандартной методике, которые окрашивали азуром II–эозином и гематоксилином–эозином. Каждый гистологический препарат изучали в 5 полях зрения при случайном смещении окулярной «узловой сетки» С.Б. Стефанова. Подсчитывали количество клеток на стандартной площади гистологического среза 880 мкм^2 при ув. 1000. Экспериментальные данные подвергнуты статистической и аналитической обработке. Значимость различий между группами выявляли с помощью критерия Стьюдента (t -тест).

Результаты исследования. Ассоциированная со слизистой оболочкой тощей кишки диффузная лимфоидная ткань включает в себя клетки лимфоидного ряда — внутриэпителиальные лимфоциты и лимфоциты собственной пластинки слизистой оболочки, а также лимфоидные скопления, которые располагались в слизистой оболочке и подслизистой основе тощей кишки.

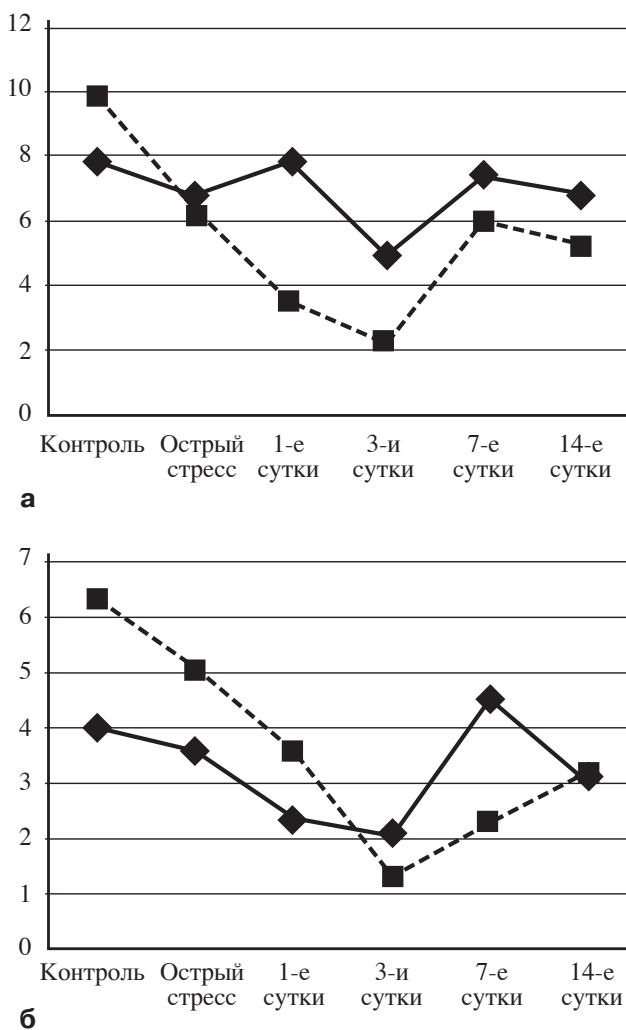


Рис. 1. Изменение численности малых лимфоцитов (а) и плазматических клеток (б) на стандартной площади гистологического среза (880 мкм^2) в ворсинках тощей кишки у активных (сплошная линия) и пассивных (пунктирная линия) крыс в разные сроки эксперимента.

По оси абсцисс — сроки эксперимента; по оси ординат — количество клеток.

Помимо лимфоцитов, в состав иммунных структур слизистой оболочки входили макрофаги, гранулярные лейкоциты (эозинофилы и нейтрофилы), стромальные клетки (ретикулярные, фибробласты и фиброциты).

При анализе клеточного состава лимфоидных образований тощей кишки было установлено, что, независимо от поведенческих характеристик крыс, наибольшая плотность расположения клеток лимфоидного ряда имеется в области ворсинок, что, очевидно, связано с нахождением этих структур на границе двух сред (барьерная функция слизистой оболочки). Наблюдали диффузное расположение клеток лимфоидного ряда между криптами, а также скопления лимфоцитов (наподобие «муфт») около их устьев.

В группе контрольных поведенчески пассивных крыс выявлено в 1,3 раза большее количество малых лимфоцитов, чем у активных крыс. Начиная с 1-х суток после стрессорного воздействия малые лимфоциты преобладали в группе активных крыс: на 1-е сутки — в 2,2 раза, на 3-и сутки — в 2,3 раза, на 7-е сутки — в 1,2 раза и на 14-е сутки — в 1,3 раза (рис. 1, а) над таковыми в группе стрессированных пассивных животных.

Количественно плазматические клетки преобладали у пассивных крыс: в контрольной группе в 1,6 раза, по окончании 1-часового стрессового воздействия — в 1,4 раза, через 1 сут после окончания воздействия — в 1,5 раза по сравнению с группой активных крыс. Начиная с 3-х суток после окончания эксперимента количественно плазматические клетки преобладали у поведенчески активных крыс: на 3-и сутки — в 1,6 раза, на 7-е сутки — в 2,0 раза (см. рис. 1, б).

У пассивных крыс во все сроки эксперимента по сравнению с активными животными выявлено преобладание численности макрофагов и деструктивно измененных клеток в ворсинках кишки. В группе пассивных крыс по сравнению с активными животными количество макрофагов было больше в контроле в 1,7 раза (у пассивных количество клеток — 1,62, у активных — 0,94). К концу острого периода стресса разница возросла в 2 раза (у пассивных крыс количество клеток на стандартной площади среза составило 2,22, у активных — 1,14), через 1 сут восстановления она уменьшилась в 1,8 раза, на 3-и сутки — в 1,5 раза (у пассивных крыс количество клеток — 3,20, у активных — 2,22), на 7-е и 14-е сутки — в 1,8 и 2,2 раза соответственно.

Разница по численности деструктивно измененных клеток у пассивных и активных крыс к концу острого периода стресса составила 1,3 раза. У пассивных крыс они преобладали и составили 6,81 клеток по сравнению с 5,23 у активных крыс. До 3-х суток их численность продолжала нарастать, составив к этому сроку у пассивных крыс 11,02, у активных — 7,36. Начиная с 7-х суток количество деструктивно измененных клеток стало снижаться. На 14-е сутки у пассивных крыс обнаруживалось 6,54 клеток, у активных — только 3,78.

У животных, подвергшихся стрессорному воздействию, наблюдали нарушения микроциркуляторного русла, возникающие сразу по окончании эмоциональной нагрузки. Они были максимально выражены на 3-и сутки (рис. 2). В это же время у животных развивалась деструкция апикальной части ворсинок тонкой кишки (рис. 3).

На 14-е сутки после окончания стрессорного воздействия гистологическая структура ворсинок тощей кишки крыс восстановилась.

Обсуждение полученных данных. Однотипные стрессорные нагрузки вызывают у устойчивых (активных) и предрасположенных к стрессу (пассивных) животных различную динамику изменений содержания нейромедиаторов и нейропептидов в различных структурах головного мозга [11, 12].

Настоящее исследование показало, что выраженность и продолжительность ответа диффузных лимфоидных образований в стенках тощей кишки на острое эмоциональное стрессорное воздействие также зависит от поведенческой активности (стрессоустойчивости) крыс. Несмотря на однотипный характер ответа лимфоидных структур, их реакция в группе активных крыс была менее выражена по сравнению с таковой у пассивных животных.

У контрольных поведенчески пассивных крыс по сравнению с активными особями исходно выявлено преобладание клеток лимфоидного ряда на фоне увеличения численности макрофагов и деструктивно измененных клеток, что может свидетельствовать об исходной большей активности иммунных структур у этой группы животных.

Острый эмоциональный стресс приводит к истощению функциональных возможностей лимфоидной ткани у поведенчески пассивных предрасположенных к стрессу крыс, на это указывает резкое снижение количества малых лимфоцитов и плазматических клеток, с которыми связывают выполнение эффекторных функций гуморального и клеточного звеньев иммунной системы (выработка антител, цитотоксическая функция) [6, 7, 10]. При этом численность макрофагов и деструктивно измененных клеток у пассивных животных увеличивается. В настоящее время с макрофагами связывают не только функции уничтожения дефектных клеток, но и активацию «наивных» лимфоцитов (благодаря способности к процессингу поглощенных антигенов) [1–3, 5, 13].

Исследования иммунных структур при стрессе с учетом индивидуальной предрасположенности к нему могут дополнить индивидуально разрабатываемый комплекс мероприятий, позволяющий оценивать различные физиологические функции организма и проводить коррекцию имеющихся дисфункций.

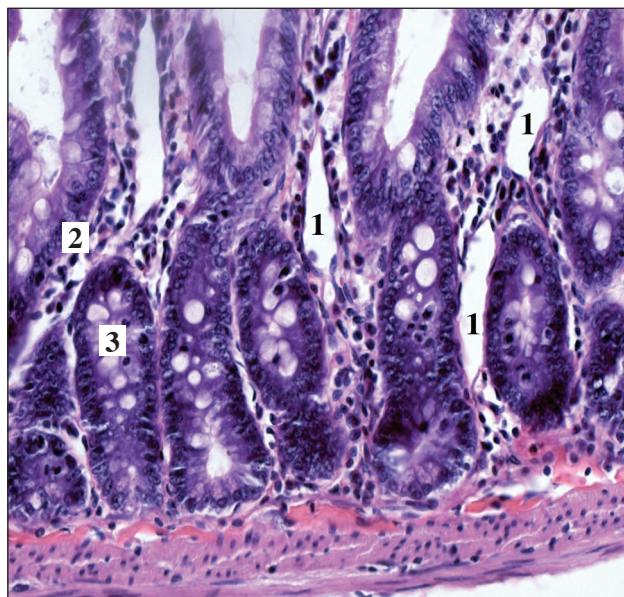


Рис. 2. Расширенные лимфатические сосуды (1), клетки лимфоидного ряда (2) между криптами (3) тощей кишки пассивной крысы на 3-и сутки после окончания стрессорного воздействия.

Окраска гематоксилином–эозином. Ув. 400.

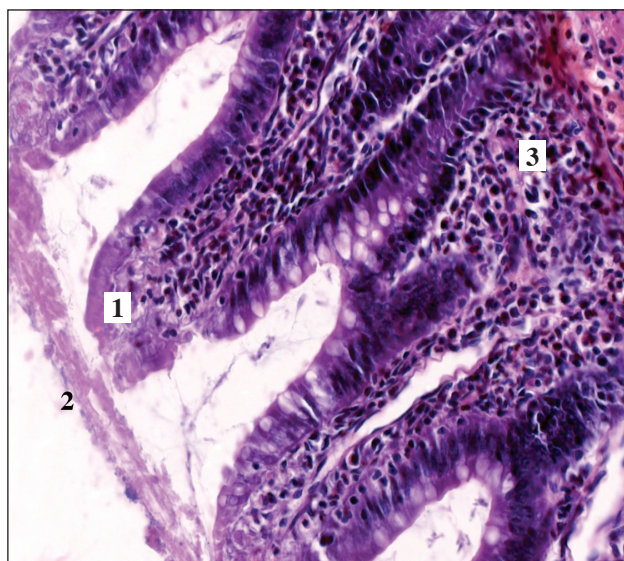


Рис. 3. Признаки разрушения в апикальной части ворсинок тощей кишки (1), слой пристеночной слизи (2), лимфоидное скопление в слизистой оболочке (3) у активной крысы на 3-и сутки после стрессорного воздействия.

Окраска гематоксилином–эозином. Ув. 400.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьев А.И. и Кремницкая А.М. Атлас опухолей лимфатической системы. М., Ньюдиамед, 2007.
2. Гриневич В.В., Акмаев И.Г. и Волкова О.В. Основы взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем. СПб., Симпозиум, 2004.
3. Колобов С.В., Ярема И.В. и Зайратьянц О.В. Основы регионарной иммунотерапии (иммуномодулирующая терапия

- заболеваний органов дыхания и пищеварения). М., изд. ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2001.
4. Коплик Е.В. Метод определения критерия устойчивости крыс к эмоциональному стрессу. Вестн. новых мед. технол., 2002, № 1, с. 16–18.
 5. Корнева Е.А. Введение в иммунофизиологию (учебное пособие). СПб., ЭЛБИ-СПб, 2003.
 6. Лебедев К.А. и Понякина И.Д. Иммунология образраспознающих рецепторов (интегральная иммунология). М., Книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2009.
 7. Рабсон А., Ройт А. и Делвз П. Основы медицинской иммунологии. М., Мир, 2006.
 8. Райт Д. Морфологическая диагностика патологии лимфатических узлов. М., Мед. лит., 2008.
 9. Сапин М.Р. и Никитюк Д.Б. Иммунная система, стресс и иммунодефицит. М., АПП «Джангар», 2004.
 10. Сапин М.Р. и Этинген Л.Е. Иммунная система человека. М., Медицина, 1996.
 11. Судаков К.В. Индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу. М., Горизонт, 1998.
 12. Судаков К.В. и Умрюхин П.Е. Системные основы эмоционального стресса. М., ГЭОТАР-Медиа, 2010.
 13. Bao S., Fei J., Shen J. et al. Reserpine-induced model of stress suppresses mucosal immunity. Immunol. Cell Biol., 2006, v. 84, № 6, p. 537–542.
 14. Dhabhar F.S. Stress — induced augmentation of immune function — the role of stress hormones, leukocyte, trafficking and cytokines. Brain Behav. Immun., 2002, v. 16, № 6, p. 785–798.

15. Jessop D.S., Richards L.J. and Harbuz M.S. Effects of stress on inflammatory autoimmune disease: destructive or protective? Stress, 2004, v. 7, № 4, p. 261–266.

Поступила в редакцию 24.08.10
Получена после доработки 12.11.10

INDIVIDUAL PECULIARITIES IN THE REACTION OF JEJUNUM LYMPHOID STRUCTURES IN RATS EXPOSED TO STRESS

Ye.A. Ivanova

Using a complex of morphological methods, the peculiarities in the reaction of jejunum lymphoid structures were studied in 105 Wistar rats with reference to their behavioral characteristics (stress tolerance). Initially, in passive (stress prone) rats the number of lymphoid and plasma cells was higher than in active animals, together with the macrophage reaction, which may indicate greater activity of immune structures in this group of animals. In behaviorally active rats, the negative impact of stress was less pronounced; rehabilitation processes were faster, as compared to those in passive animals. By day 14 after the end of the experiment, the restoration of cell population of lymphocytes was observed in the wall of the intestine in the active animals, while in the passive rats, the processes of destruction of lymphocyte cell line was increased together with the macrophage response.

Key words: *jejunum, lymphoid structures, stress effect, rats*

Department of Human Anatomy, I.M. Sechenov 1st Moscow State Medical University