

© А.С. Фомина, С.В. Пронина, 2012
УДК 591.8+612.017.1:616-002.951.21:598.422

А.С. Фомина¹ и С.В. Пронина²

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛОАКАЛЬНОЙ СУМКИ 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, г. Улан-Удэ; 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 количественные изменения клеток в клоакальной сумке птенцов серебристой чайки *Larus argentatus mongolicus* (Suskin, 1925) при экспериментальном заражении лентецом чаечным *Diphyllbothrium dendriticum* (Nitsch, 1824). У зараженных птенцов увеличивается площадь, занимаемая на срезе лимфоидными узелками (фолликулами) в клоакальной сумке, и содержание эозинофилов. В лимфоидных узелках при инвазии возрастает содержание бластных клеток и больших лимфоцитов. Снижение содержания малых лимфоцитов и плазмочитов у зараженных чаек, возможно, объясняется замедлением клеточного цикла или миграцией клеток в очаг воспаления. В целом, изменения в сумке указывают на угнетение В-звена иммунной системы у хозяина при инвазии лентецом.

Ключевые слова: клоакальная сумка, микроморфология, чайка, лентец

Клоакальная (фабрициева) сумка — центральный орган иммунной системы птиц, в котором из поступающих стволовых клеток красного костного мозга дифференцируется популяция В-лимфоцитов. У человека и других млекопитающих, несмотря на многочисленные усилия, до сих пор не удалось найти эквивалента этого органа [18]. Структура клоакальной сумки описана преимущественно у домашних птиц [1, 14]; у диких птиц этот орган остается мало изученным.

Цель данной работы — исследовать морфофункциональные изменения клоакальной сумки птенцов серебристой чайки при экспериментальном дифиллоботриозе, вызванном лентецом чаечным *Diphyllbothrium dendriticum* (Nitzsch, 1824).

Лентец чаечный на имагинальной фазе паразитирует в кишечнике водоплавающих птиц и млекопитающих, включая и человека, а его промежуточными хозяевами являются промысловые рыбы (лососевидные) [8]. Наибольшая роль в поддержании природного очага дифиллоботриоза в бассейне озера Байкал принадлежит серебристой чайке [6, 9].

Из данных литературы известно, что лентец чаечный вызывает у серебристой чайки снижение функциональной активности Т- и В-клеточного звеньев иммунитета [5], в клоакальной сумке — увеличение линейных размеров лимфоидных узелков [3]; у хомячков в эксперименте в органе локализации (тонкая кишка) — увеличение содержания и функциональной активности тучных клеток, у чаек — увеличение содержания и функциональной активности эозинофилов [10, 12].

Материал и методы. Птенцы серебристой чайки были отловлены в возрасте 3–5 сут из колонии на острове Малый Калтыгей Чивыркуйского залива озера Байкал и прошли акклиматизацию в течение 6 сут в полевом стационаре ИОЭБ СО РАН «Монахово». Птенцов заражали путем скормливания цист с плероцеркоидами лентеца чаечного, извлеченных из омуля, по 10, 20, 30 экземпляров на особь. Анализ изменений клеточного состава в клоакальной сумке проводили в трех группах: 1-я (15 особей) — со средней интенсивностью инвазии (3–6 экземпляров паразита на 1 птицу), 2-я (15 особей) — с высокой интенсивностью инвазии (7–28 экземпляров паразита на одну птицу), 3-ю группу составили 6 клинически здоровых незараженных птиц. Так как гельминт в фазе имаго у серебристой чайки в среднем достигает стадии половозрелости на 12-е сутки, птиц выводили из эксперимента методом декапитации через 2 нед с момента заражения. Для гистологических исследований кусочки клоакальной сумки были зафиксированы в 10% нейтральном формалине. Парафиновые срезы толщиной 4–6 мкм окрашивали гематоксилином–эозином и азуром II — эозином по Романовскому. Описание микроструктуры и морфометрию проводили под микроскопом МС 300А (Micros, Австрия). На гистологических срезах измеряли площади коркового и мозгового вещества лимфоидных узелков, межузелковых зон. Подсчитывали число узелков (при об. 10, ок. 10), их диаметр и ширину межузелковой зоны. На площади 1 мм² в 5 случайно выбранных срезах от каждой особи подсчитывали относительное количество клеток: бластов, больших, средних и малых лимфоцитов, плазмочитов, макрофагов, деструктивно измененных и митотически делящихся, эпителиальных, эозинофильных и псевдоэозинофильных лейкоцитов (нейтрофильные гранулоциты птиц). Статистическую обработку проводили с помощью пакета программы «Statistica» для непараметрических данных (U-критерий Манна—Уитни) при уровне значимости $P \leq 0,05$.

Результаты исследования. Клоакальная сумка птенцов серебристой чайки представляет собой выпячивание дорсальной стенки клоа-

ки. Стенка клоакальной сумки образована тремя оболочками: слизистой, мышечной и соединительнотканной. Слизистая оболочка образует складки, выступающие в просвет сумки. Складки заполнены 1, 2 или 3 рядами лимфоидных узелков, или долек, окруженных соединительнотканными элементами. Лимфоидные узелки имеют различную форму и размеры. Каждый узелок состоит из темного периферического коркового вещества, и более светлого мозгового, расположенного в центре.

В клоакальной сумке зараженных птенцов как при средней, так и высокой интенсивности инвазии увеличиваются размеры узелков, а при высокой интенсивности инвазии — и относительная площадь коркового вещества. Доля мозгового вещества снижается в обеих группах (табл. 1). Число узелков у незараженных птиц — $21,1 \pm 1,9$, при средней интенсивности инвазии составляет в среднем $16,8 \pm 0,9$, а при высокой — $19,2 \pm 1,0$.

Изучение изменений относительного содержания клеток на срезах клоакальной сумки проводили в корковом и мозговом веществе узелков.

В корковом веществе у зараженных птиц отмечается рост относительного содержания бластных клеток, больших лимфоцитов, эпителиоцитов, а также деструктивно измененных клеток при высокой интенсивности инвазии и псевдоэозинофилов при средней интенсивности инвазии (табл. 2). Содержание средних лимфоцитов у птиц со средней и высокой интенсивностью инвазии относительно незараженных снижается в 1,5 и 1,4 раза соответственно. Увеличение содержания деструктивно измененных клеток при средней интенсивности инвазии и митотически делящихся клеток в обеих группах зараженных чаек имеет характер тенденции. Содержание плазмоцитов значительно снижается при высокой интенсивности инвазии.

При заражении лентецом чаечным в мозговом веществе отмечаются аналогичные изменения в клеточном составе, что и в корковом веществе, однако, все они имеют преимущественно характер

тенденции, и только содержание клеток стромы и клеток с деструктивными изменениями у зараженных птенцов значимо выше по сравнению с таковыми у незараженных (см. табл. 2).

Обсуждение полученных данных. Увеличение абсолютного содержания количества и размеров лимфоидных узелков, а в них — коркового вещества, свидетельствуют о стимулирующем воздействии инвазии лентецом чаечным на лимфоидную ткань в клоакальной сумке птенцов. Увеличение относительного содержания бластов и больших лимфоцитов в корковом веществе у зараженных птенцов указывает на то, что инвазия лентецом чаечным стимулирует поступление предшественников лимфоцитов из красного костного мозга в клоакальную сумку. Снижение относительного содержания малых и средних лимфоцитов в сумке зараженных птенцов по сравнению с незараженными вызвано, возможно, усилением миграции зрелых лимфоцитов в органы локализации паразита (тонкая кишка). Так, у зараженных хомячков, котят и птенцов серебристой чайки в эксперименте увеличивается содержание интраэпителиальных лимфоцитов в тонкой кишке. Содержание плазмоцитов у зараженных хомячков в кишечнике увеличивается в 2 раза и более [10]. С другой стороны — снижение содержания малых и средних лимфоцитов, а также плазмоцитов может быть вызвано замедлением клеточного цикла на конечных стадиях дифференцировки. В пользу этой гипотезы свидетельствуют данные о кластогенном воздействии паразитов на генеративные и соматические клетки. Так, генотоксические воздействия мигрирующих личинок аскарид на клетки красного костного мозга отмечались в период миграции паразита в тканях хозяина [2]. Кроме того, миграция плазмоцитов из клоакальной сумки птиц может осуществляться в красный костный мозг или селезенку по мере ее функционирования и инволютивных изменений [7].

Выявленная гиперплазия эпителиоцитов клоакальной сумки отмечается и при инвазии другими

Таблица 1

Морфометрические параметры клоакальной сумки серебристой чайки в зависимости от интенсивности инвазии
($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Показатели	Интактные	Средняя инвазия	Высокая инвазия
Относительная площадь, занимаемая на срезе, %:			
корковым веществом	$27,0 \pm 2,3$	$29,0 \pm 1,8$	$41,1 \pm 2,7^*$
мозговым веществом	$61,7 \pm 2,7$	$44,7 \pm 2,6^*$	$47,8 \pm 2,7^*$
межузелковой зоной	$11,3 \pm 2,1$	16 ± 3	$11,0 \pm 2,0$
Диаметр лимфоидного узелка, мкм	$304 \pm 14 \times 311 \pm 10$	$328 \pm 17 \times 223 \pm 14$	$368 \pm 9 \times 275 \pm 11$

* Здесь и в табл. 2: различия значимы по сравнению с интактной группой при $P \leq 0,05$.

Таблица 2

**Относительное содержание разных типов клеток в структурно-функциональных зонах лимфоидных узлов
клоакальной сумки серебристой чайки при разной интенсивности инвазии ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, %)**

Типы клеток	Корковое вещество			Мозговое вещество		
	Незараженные	Интенсивность заражения		Незараженные	Интенсивность заражения	
		средняя	высокая		средняя	высокая
Бласты	7,8±0,3	20,5±1,2*	18,4±1,0*	8,5±0,7	9,7±0,9	9,3±0,9
Большие лимфоциты	2,2±0,5	5,2±0,8*	4,5±0,6*	2,2±0,3	1,9±0,4	2,6±0,7
Средние лимфоциты	52,2±0,6	30,5±1,2*	37,2±1,5*	30,6±0,7	28,3±1,2	28,6±0,9
Малые лимфоциты	19,5±1,2	15,6±1,1*	18,3±0,6	45,0±0,9	43,2±0,8	38,7±0,8
Макрофаги	1,0±0,3	0,7±0,3	0,70±0,17	0,60±0,19	0,20±0,11	0,20±0,03
Эпителиальные	9,7±0,8	17,2±0,9*	14,1±0,6*	10,9±0,7	13,8±0,8	18,1±0,9*
Фиброциты	1,2±0,23	1,10±0,19	1,00±0,18	0	0	0
Плазмоциты	2,7±0,4	0,80±0,18	0,70±0,15*	0,30±0,08	0,50±0,11	0,30±0,11
Эозинофилы	0	0,90±0,29*	0,300±0,010	0	0	0
Псевдоэозинофилы	0	0,7±0,61*	0	0	0	0
Митотически делящиеся	0,8±0,3	1,1±0,4	0,70±0,24	0,70±0,11	0,50±0,20	0,40±0,09
С деструктивными изменениями	2,7±0,6	3,0±0,7	3,9±0,5*	0,90±0,19	1,9±0,5*	1,6±0,3*

паразитами, а также после вакцинации птиц против вирусных заболеваний [11, 16]. Эпителиальные клетки мозгового вещества участвуют в формировании эпителиальной сети микроокружения, необходимой для дифференцировки предшественников В-клеток. Активация этих клеток отмечена при иммунодепрессии [15]. Возможно, что увеличение количества этих клеток в клоакальной сумке при инвазии свидетельствует о компенсаторной стимуляции синтеза гормонов, необходимых для дифференцировки В-лимфоцитов и замещения погибших клеток.

Отмеченное увеличение содержания эозинофилов в межузелковой зоне и корковом веществе узлов свидетельствует о развивающейся у хозяина аллергической реакции. Известно, что при паразитозах происходит активация эозинофильных лейкоцитов [12, 13]. Снижение содержания катионного белка в эозинофилах сумки, возможно, связано с тем, что часть эозинофилов этого органа являются иммигрантами из очага воспаления (тонкой кишки), где они его выделили, поскольку катионный белок обладает токсичностью для бактерий и гельминтов [4]. Явление миграции эозинофилов из очага воспаления в иммунокомпетентный орган описано в литературе. Так, при экспериментальном заражении крыс стронгилидами наблюдалась миграция эозинофилов из очага воспаления (легкого) в лимфатический узел [17].

Полученные результаты дополняют имеющиеся данные о патогенезе дифиллоботриоза. Изменения в структуре и клеточных компонентах

лимфоидных узлов свидетельствуют об антигенной стимуляции паразитом клоакальной сумки как центрального органа иммунной системы птиц. В пользу этого говорят и данные, полученные при иммунологическом и гематологическом исследовании зараженных птенцов [5]. Установлено, что через 9 сут после заражения лентецом функциональная активность Т- и В-иммунных звеньев снижена. Таким образом, суммируя собственные результаты и данные литературы, можно заключить, что при заражении лентецом чаечным дефинитивного хозяина — серебристой чайки — функциональная активность клоакальной сумки, как центрального органа иммунной системы, подавляется.

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 за помощь в организации и проведении эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

- Александровская О.В., Радостина Т.Н. и Козлов Н.А. Цитология, гистология и эмбриология: научное издание. М., Агропромиздат, 1987.
- Бекиш В.Я., Зорина В.В. и Бекиш О.-Я.Л. Генотоксическое и цитотоксическое воздействие миграции личинок *Ascaris suum* на клетки хозяина. Российский паразитологический журн., 2008, № 2, с. 1–9.
- Кутырев И.А., Пронина С.В. и Пронин Н.М. Оценка влияния лентеца чаечного *Diphyllbothrium dendriticum* на микроморфологию бursы птенцов чайки серебристой: Материалы IV

- Всероссийской школы по теоретической и морской паразитологии. Калининград, Изд-во АтлантНИРО, 2007, с. 127.
4. Лабораторные методы исследования в клинике. Под ред. В.В. Меньшикова. М., Медицина, 1987.
 5. Мазур О.Е., Пронин Н.М. и Толочко Л.В. Гематологические и иммунологические характеристики птенцов серебристой чайки (*Larus argentatus*) при экспериментальном заражении *Diphylobothrium dendriticum* (Cestoda: Pseudophyllidae). Изв. РАН, сер. биол., 2007, № 4, с. 420–427.
 6. Некрасов А.В., Пронин Н.М., Санжиева С.Д. и др. Состав дефинитивных хозяев *Diphylobothrium dendriticum* (Nitzsch, 1824) и распределение его имагинальной гемипопуляции по акватории Байкала. Мед. паразитол. и паразитарные болезни, 1988, № 6, с. 69–71.
 7. Олейник Е.К. Т- и В-системы иммунитета птиц. В кн.: Биохимические и морфологические основы иммунологии птиц. Петрозаводск, Карельск. филиала АН СССР, Ин-т биологии, 1982, с. 62–74.
 8. Пронин Н.М. Паразиты рыб и других гидробионтов, опасные для человека. В кн.: Проблемы общей и региональной паразитологии. Улан-Удэ, БГСХА, 2000, с. 134–141.
 9. Пронин Н.М., Жалцанова С.Д., Пронина С.В. и др. Динамика зараженности животных гельминтами. Улан-Удэ, Сибирск. отд. Бурятск. науч. центра, Ин-т биологии, 1991.
 10. Пронина С.В., Мазур О.Е., Пронин Н.М. и др. Патоморфология органов пищеварительной системы дефинитивных хозяев при инвазии лентецом чаечным *Diphylobothrium dendriticum* в эксперименте. Вестн. Бурятск. гос. акад. им. В.Р. Филиппова, 2009, №3(16), с. 14–19.
 11. Садовников Н.В., Женихова Н.И. и Столбикова М.В. Патоморфологические изменения и тучноклеточная реакция в иммунокомпетентных органах цыплят после вакцинации. Аграрный вестн. Урала, 2008, №11(53), с. 68–70.
 12. Фомина А.С. и Пронина С.В. Реакция эозинофилов тимуса и бursы серебристой чайки при экспериментальном заражении лентецом чаечным. Морфология, 2010, т. 140, вып. 5, с. 36–39.
 13. Фрейдлин И.С. и Тотолян А.А. Клетки иммунной системы. В 5 т. СПб., Наука, 2001, Т. 5: Эозинофилы.
 14. Lupetti M., Dolfi A., Giannessi F. et al. Ultrastructural aspects of the lymphoid follicle associated cells of the cloacal bursa after treatment with silica or carreganen. J. Anat., 1983, v. 136, № 4, p. 851–862.
 15. Nagy N., Magyar A., Toth M. et al. Origin of the bursal secretory dendritic cell. Anat. Embryol. (Berlin), 2004, v. 208, p. 97–107.
 16. Rhee J.K., Kim H.C. and Park B.K. Effects of *Cryptosporidium baileyi* infection on the bursa of Fabricius in chickens. Korean J. Parasitol., 1997, v. 35, № 3, p. 181–187.
 17. 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.
 18. Sugimura M. and Hashimoto Y. Cellular changes in the bursa of Fabricius and spleen of cyclophosphamide-treated ducks. J. Reticuloendothel. Soc., 1976, v. 19, p. 201–210.

Поступила в редакцию 21.07.2011

Получена после доработки 15.11.2011

MORPHO-FUNCTIONAL CHANGES OF CLOACAL BURSA OF THE HERRING GULL IN EXPERIMENTAL INFECTION WITH GULL TAPEWORM

A.S. Fomina and S.V. Pronina

Using the methods of light microscopy, the quantitative changes in the cells of the cloacal bursa of herring gull (*Larus argentatus mongolicus*) chicks were studied during experimental infection with gull-tapeworm *Diphylobothrium dendriticum*. The area of the follicles within the bursa and the number of eosinophils in the infected chicks were found to increase. In the follicles the number of blast cells and large lymphocytes was elevated. The reduction of small lymphocytes and plasma cells numbers in the infected gulls may be due to a slower cell cycle or cell migration into the inflammatory focus. Overall, the changes in the bursa indicate the suppression of the B-link of the host immune system in tapeworm invasion.

Key words: *cloacal bursa, micromorphology, gull, tapeworm*

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