

© Е.А. Иванова, 2009
УДК 611 42:616.8-008.615:599.323.4

Е.А. Иванова

МОРФОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГРУППОВЫХ ЛИМФОИДНЫХ УЗЕЛКОВ У КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР С РАЗЛИЧНОЙ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ ПРИ ОСТРОМ СТРЕССОРНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Кафедра анатомии человека (зав. — проф. М.Р. Сапин) Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова; e-mail: Elena.al.ivanova@gmail.com

В статье описаны результаты исследования структурных элементов групповых лимфоидных узелков (ГЛУ) подвздошной кишки у крыс при эмоционально-болевым стрессе. В контрольной группе поведенчески пассивных крыс площадь, занимаемая на срезе кишки структурными элементами ГЛУ, была значимо больше по сравнению с аналогичными показателями в группе активных крыс. После стрессорного воздействия у поведенчески пассивных крыс площади всех структурных компонентов ГЛУ резко уменьшились. В группе поведенчески активных крыс после стрессорного воздействия площади, занимаемые межузелковыми зонами ГЛУ, увеличились, а площади лимфоидных узелков остались практически неизменными, что свидетельствует о высоких адаптационных возможностях этой группы животных.

Ключевые слова: групповые лимфоидные узелки, герминативный центр, межузелковая зона, эмоционально-болевого стресс, поведенческая активность.

Особенности психического статуса играют важную роль в изменениях иммунологической реактивности при психоэмоциональном стрессе [13, 15, 16]. Известно, что патологический стресс приводит к развитию иммунодефицитного состояния [1–3, 6, 10]. Исследование нервных и эндокринных механизмов устойчивости к эмоциональному стрессу проводится широко, однако иммунологические сдвиги при этом исследуются недостаточно и фрагментарно [3, 4, 6, 7, 9–11]. Установлена зависимость иммунных реакций от состояния центральной нервной системы и, в первую очередь, от гипоталамо-лимбико-кортикальных отделов головного мозга [6, 13].

Крупнейшим отделом иммунной системы является лимфоидная ткань пищеварительного тракта, которая входит в состав кишечно-ассоциированной лимфоидной ткани (КАЛТ) [3, 14]. Слизистая оболочка тонкой кишки содержит три анатомически различные группы лимфоцитов: внутриэпителиальные (интраэпителиальные), лимфоциты собственной пластинки слизистой оболочки и лимфоциты групповых лимфоидных узелков (ГЛУ) [10].

Целью данного исследования явилось изучение площадей, занимаемых ГЛУ в тонкой кишке у крыс с различной поведенческой активностью при остром эмоционально-болевым стрессе.

Материал и методы. Эксперименты проведены на 32 крысах-самцах Вистар массой 220 ± 5 г. В постановке эксперимента руководствовались требованиями приказов № 1179 МЗ СССР (11.10.1983 г.) и № 267 МЗ РФ (19.06.2003 г.),

«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 особенности и прогностическую оценку устойчивости крыс к эмоциональному стрессу определяли по их поведению в тесте «Открытое поле» с помощью компьютерной программы. На основании полученных результатов выделены две группы крыс: поведенчески активные — устойчивые к эмоциональному стрессу животные (индекс активности — 4,5–6) и пассивные — предрасположенные к стрессу (индекс активности — 0,2–0,6) [4]. В каждой группе было по 16 крыс, которых разделили в дальнейшем на контрольную группу и группу, подвергавшуюся стрессорному воздействию, по 8 животных в каждой.

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 спинки [4, 13]. Длительность одного импульса составляла 30 с.

Сразу после стрессорного воздействия выводили животных из эксперимента методом декапитации. После чего у каждой особи вырезали участки подвздошной кишки (длиной приблизительно 1 см) с ГЛУ [5].

Из каждого кусочка, нарезанного поперечно оси кишки, изготавливали гистологические препараты по общеизвестной методике с окраской азуром II—эозином. Далее на санном микротоме изготавливали серийные срезы толщиной 3–4 мкм. На каждом гистологическом препарате изучали 5 полей зрения при случайном смещении окулярной «узловой сетки» [12] с применением бинокулярного микроскопа МБИ-9 (об. 90, ок. 10).

Для изучения площадей, занимаемых структурными элементами ГЛУ подвздошной кишки, производили их микрофильмирование на микроскопе Аxioplan-2 (Карл Цейс, Германия) с увеличением 50, где исследовали: герминативные центры (ГЦ), мантии лимфоидных узелков и межузелковые зоны. Далее производили калибрование морфологических измерений с помощью масштабной линейки. Сравнение результатов в экспериментальных группах производили с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования. ГЛУ у крыс располагались в подвздошной кишке на стороне, противоположной брыжеечной. ГЛУ считали группой из пяти узелков и более, которые плотно прилегают друг к другу. Кроме этого, мы исследовали, есть ли между групповыми узелками диффузные лимфоидные скопления или нет, так

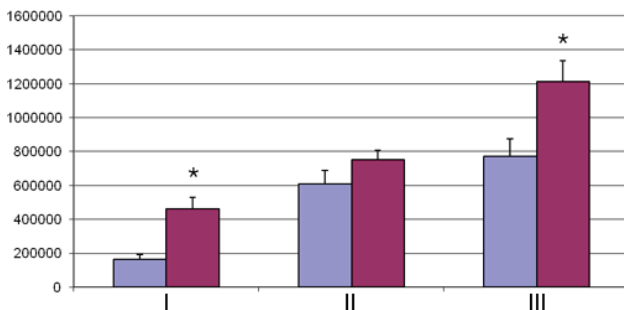


Рис. 1. Площади, занимаемые структурными элементами групповых лимфоидных узелков подвздошной кишки в контрольных группах поведенчески активных (светлые столбики) и пассивных (темные столбики) крыс.

По оси абсцисс: I — герминативные центры; II — мантия; III — лимфоидные узелки; по оси ординат — исследованный параметр (μm^2); звездочка — различия по сравнению с данными у поведенчески активных крыс значимы при $P < 0,05$; вертикальные отрезки — 95% доверительный интервал.

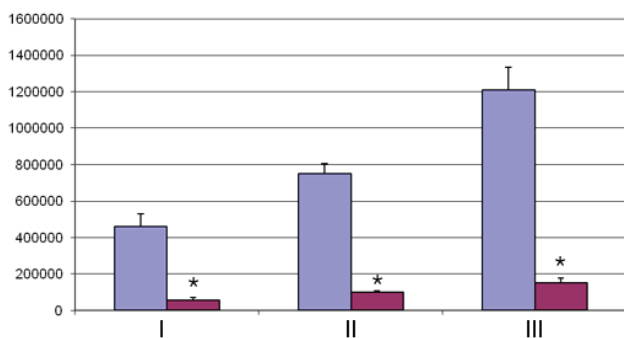


Рис. 2. Площади, занимаемые структурными элементами групповых лимфоидных узелков подвздошной кишки у поведенчески пассивных крыс, подвергшихся стрессорному воздействию (темные столбики), и контрольных (светлые столбики).

По оси абсцисс: I — герминативные центры; II — мантия; III — лимфоидные узелки; по оси ординат — исследованный параметр (μm^2); звездочка — различия по сравнению с данными у контрольных пассивных крыс значимы при $P < 0,05$; вертикальные отрезки — 95% доверительный интервал.

как именно они объединяют узелки в единое лимфоидное образование — бляшку. Иногда наблюдали до 2–3 находящихся рядом ГЛУ. Большинство ГЛУ были ориентированы вдоль продольной оси кишки и имели округлую или овальную форму.

Площади, занимаемые ГЛУ, в подвздошной кишке поведенчески пассивных крыс контрольной группы были больше в 1,5 раза ($P < 0,01$), а площади ГЦ ГЛУ — в 2,4 раза ($P < 0,05$) по сравнению с таковыми у контрольной группы активных крыс (рис. 1).

После стрессорного воздействия у пассивных (стресснеустойчивых) крыс площади всех структурных элементов В-зависимых зон резко уменьшились по сравнению с таковыми у животных контрольной группы следующим образом: площади ГЦ лимфоидных узелков на срезе кишки — в 6,3 раза, их мантии — в 7,7 раза, а площадь ГЛУ — в 6,7 раза (рис. 2). Изменения были значимы при $P < 0,05$.

В группе поведенчески активных крыс, подвергшихся стрессорному воздействию, изменения со стороны площадей, занимаемых на срезе подвздошной кишки структурными компонентами В-зависимых зон ГЛУ, были не значимыми по сравнению с таковыми у контрольных животных этой группы.

Площади, занимаемые на срезе кишки межузелковой (Т-зависимой) зоной, в контрольной группе пассивных крыс были больше в 4,8 раза ($P < 0,05$), чем таковые в контрольной группе поведенчески активных крыс.

После стрессорного воздействия у поведенчески пассивных крыс Т-зона уменьшилась по сравнению с таковой в контрольной группе животных в 3,6 раза ($P < 0,05$) и в 2,3 раза ($P < 0,01$) по сравнению с группой поведенчески активных крыс (рис. 3). У последних площадь межузелковой зоны увеличилась в 3,2 раза по сравнению с контрольными животными своей группы ($P < 0,05$).

Обсуждение полученных данных. В области ГЛУ лимфоидная ткань четко структурирована, она содержит В-зависимую зону, к которой относятся лимфоидные узелки, состоящие из мантии и ГЦ, и Т-зависимую зону между узелками или по их периферии [1, 2, 6–9, 11, 14, 15]. Строма лимфоидных бляшек организована, с одной стороны, для обеспечения миграции лимфоцитов, а с другой — для их фиксации и максимального контакта при межклеточных взаимодействиях [17]. Благодаря циркуляции лимфоцитов ГЛУ тонкой кишки тесно связаны с органами иммунной системы всего организма [6], что необходимо

учитывать для понимания воздействия стресса на лимфоидные образования тонкой кишки.

Известно, что при активации иммуногенных структур происходит резкое увеличение числа лимфоидных узелков, имеющих ГЦ [2, 3, 6, 8, 10, 16, 17]. Его появление отражает процесс пролиферации и дифференцировки В-клеток узелка, не имеющего ГЦ [1]. Считается, что в ГЦ осуществляется пролиферация клонов лимфоцитов или так называемая клональная селекция, приводящая к появлению лимфоцитов, синтезирующих иммуноглобулины с наиболее подходящей структурой антигенсвязывающего участка (высокоаффинные антитела) [1, 6, 8].

По данным ряда авторов [2, 3, 6, 8, 13], гормоны (так называемых «эндокринных осей стресса» — адренкортикальной, соматотропной и тиреоидной), выделяемые при стрессорном воздействии, активизируют лимфоциты. Это приводит к бласттрансформации, клональной селекции и дифференцировке В-лимфоцитов, поступающих в ГЦ лимфоидных узелков (В-зависимых зон), что может приводить к увеличению площади этих структур. Известно, что при «негативной селекции» в ГЦ лимфоидных узелков гибнут до 80% лимфоцитов [1, 6, 9]. Клетки, прошедшие стадию дифференцировки в ГЦ лимфоидных узелков, перемещаются к периферии в мантийную зону [1, 2, 7, 8, 14]. При этом основную часть популяции лимфоцитов мантийных зон образуют рециркулирующие В-клетки, так как «гормоны стресса» [3, 4, 13] активизируют миграцию лимфоцитов. Вторую по численности популяцию в мантиях лимфоидных узелков составляют В-клетки памяти [1]. Наименьшее количество В-лимфоцитов в краевых, или мантийных, зонах лимфоидных узелков составляют «наивные» — нестимулированные В-лимфоциты [7, 8, 14], пришедшие сюда из костного мозга и готовые вступить в процессы бласттрансформации в ГЦ лимфоидных узелков [1, 2, 14]. Описанные выше процессы находят свое отражение в наших исследованиях в виде изменения площадей, занимаемых на срезе лимфоидными узелками, и их мантийными зонами как в группе поведенчески активных, так и пассивных крыс, подвергшихся стрессорному воздействию.

Увеличение или уменьшение площадей межузелковых (Т-зависимых) зон ГЛУ после стрессорного воздействия, по-видимому, можно связать с акцидентальной инволюцией тимуса — центрального органа иммунной системы для Т-популяции лимфоцитов [1, 8, 14, 16]. Так как процесс лимфоцитопоза в тимусе в значительной мере является гормонально-зависимым (в первую очередь от кортизона и тестостерона) [2, 14, 15], а

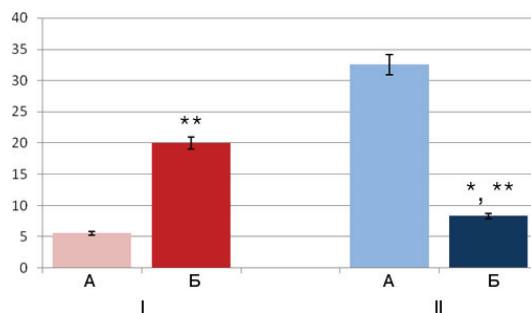


Рис. 3. Площади, занимаемые межузелковыми зонами групповых лимфоидных узелков подвздошной кишки у поведенчески активных (I) и пассивных (II) крыс, подвергшихся стрессорному воздействию (Б), и контрольных животных соответствующей группы (А).

По оси ординат — исследованный параметр (мм²); одна звездочка — различия значимы по сравнению с показателями у поведенчески активных крыс после стрессового воздействия при $P < 0,05$; две звездочки — различия значимы по сравнению с показателями у крыс соответствующей контрольной группы при $P < 0,05$; вертикальные отрезки — 95% доверительный интервал.

при стрессорном воздействии уровень этих гормонов падает, то это может приводить к резкому снижению количества Т-лимфоцитов в тимусе и, следовательно, в Т-зависимых зонах периферических лимфоидных органов (например межузелковых зонах ГЛУ). Акцидентальная инволюция тимуса носит обратимый характер в отличие от возрастной инволюции [2, 16].

Кроме того, ряд авторов [1, 7, 16] указывают, что под воздействием глюкокортикоидов, входящих в так называемую гипоталамо-гипофизарно-адреналовую «гормональную ось стресса», усиливаются процессы миграции лимфоцитов. Последние могут перемещаться в центральные и периферические (регионарные брыжеечные лимфатические узлы, селезенку) органы иммунной системы, что также может приводить к изменению площадей структурных элементов ГЛУ.

Таким образом, в контрольной группе поведенчески пассивных крыс площадь лимфоидных узелков и межузелковых зон (В- и Т-зависимых зон) ГЛУ на серийных гистологических срезах значимо больше, чем в группе активных крыс, что может быть расценено как исходное функциональное напряжение лимфоидной ткани у этой группы животных.

При стрессорном воздействии у поведенчески пассивных крыс в ГЛУ происходит опустошение межузелковых зон, возможно вследствие усиления процессов деструкции и акцидентальной инволюции тимуса. У поведенчески активных крыс стрессорное воздействие приводит к увеличению площадей данных структур, возможно вследствие поступления в эту структуру лимфоцитов из дру-

гих структур ГЛУ или других периферических лимфоидных органов.

У поведенчески пассивных крыс после стрессорного воздействия площади всех структурных компонентов ГЛУ — В- и Т-зависимых зон (ГЦ лимфоидных узелков, их мантей и межузелковых зон) резко уменьшились. Это свидетельствует об истощении функциональных возможностей лимфоидной ткани у этой группы животных.

У поведенчески активных крыс после стрессорного воздействия увеличиваются площади межузелковых зон ГЛУ, что подтверждает высокие адаптационные возможности этой группы животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьев А.И. и Кремницкая А.М. Атлас опухолей лимфатической системы. М., Ньюдиамед, 2007.
2. Гарстукова Л.Г., Кузнецов С.Л. и Деревянко В.Г. Наглядная гистология. М., Миа, 2008.
3. Гриневиц В.В., Акмаев И.Г. и Волкова О.В. Основы взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем. СПб., Симпозиум, 2004.
4. Коплик Е.В. Метод определения критерия устойчивости крыс к эмоциональному стрессу. Вестн. новых мед. технол., 2002, т. 9, № 1, с. 16–18.
5. Ноздрачев А.Д. и Поляков Е.Л. Анатомия крысы. СПб., Лань, 2001.
6. Пальцев М.А. и Кветной И.М. Руководство по нейроиммуноэндокринологии, М., Медицина, 2006.
7. Петров Р.В. Иммунология. М., Медицина, 2000.
8. Робсон А., Ройт А. и Делвз П. Основы медицинской иммунологии. М., Мир, 2006.
9. Сапин М.Р. Иммунные структуры пищеварительной системы. М., Медицина, 1987.
10. Сапин М.Р. и Никитюк Д.Б. Иммунная система, стресс и иммунодефицит. М., АПП «Джангар», 2004.
11. Сапин М.Р. и Этинген Л.Е. Иммунная система человека. М., Медицина, 1996.
12. Стефанов С.Б. Окулярная вставка для полных стереологических измерений микроскопических объектов. Цитология, 1974, вып. 11, с. 1439–1440.
13. Судаков К.В. Индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу. М., 1999.
14. Хаитов Р.М., Игнатова Г.А. и Сидорович И.Г. Иммунология. М., Медицина, 2000.
15. Шахламов В.А. Иммуноморфология групповых лимфатических фолликулов (пейеровых бляшек). Арх. анат., 1984, т. 87, вып. 12, с. 87–97.
16. 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.
17. Jodbout J.P. and Glaser R. Stress-induced immune dysregulation: implications for wound healing, infectious disease and cancer. J. Neuroimmune Pharmacol., 2006, v. 1, № 4, p. 421–427.

Поступила в редакцию 21.06.08
Получена после доработки 26.02.09

MORPHOMETRIC STUDY OF THE GROUPED LYMPHOID NODULES IN WISTAR RATS WITH DIFFERENT BEHAVIORAL ACTIVITY EXPOSED TO ACUTE STRESS

Ye.A. Ivanova

This paper describes the results of the study of the structural elements of the grouped lymphoid nodules (GLN, Peyer's patches) of rat ileum after the exposure to emotional-painful stress. In the control group of behaviorally passive rats, the area, occupied by GLN structural elements in the intestinal sections, was significantly greater than that one in the group of active rats. After the exposure to stress, the areas of all GLN structural components were decreased in the behaviorally passive rats. In the group of behaviorally active rats exposed to stress, the areas occupied by the GLN internodular zones, were increased, while the areas of lymphoid nodules remained practically unchanged, suggesting high adaptation capacity of this group of animals.

Key words: *grouped lymphoid nodules, germinal center, internodular area, emotional-painful stress, behavioral activity.*

Department of Human Anatomy, I.M. Sechenov Moscow State Medical Academy.