

Воздействие острого эмоционального стресса на процессы пролиферации и дифференцировки клеток лимфоидного ряда (экспериментальное исследование)

*Е. А. Иванова

Кафедра анатомии человека, I Московский Государственный Медицинский Университет
им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

*Corresponding author: E-mail: elena.al.ivanova@gmail.com

Effects of acute emotional stress on processes proliferation and differentiation of cell lymphoid series (experimental study)

E. A. Ivanova

Our study shows that exposure to acute emotional stress inhibits the proliferation and differentiation of lymphoid cells in the lymphoid formations of the gastrointestinal tract. We found that after stress exposure to the plaques of the ileum of rats, the mesenteric lymph nodes, especially in brain tissue bands, decreases the number of cells with a picture of mitosis, blasts and immature plasma cells. The number of medium-sized lymphocytes in between the nodular zones and paracortical zone was reduced.

Key words: emotional stress, rats, lymphoid education, mesenteric lymph nodes, patches of the ileum.

В нашей работе показано, что воздействие острого эмоционального стресса негативно действует на процессы пролиферации и дифференцировки клеток лимфоидного ряда в морфофункциональных зонах у бляшек подвздошной кишки и у брыжеечных лимфатических узлов крыс. У стресс-предрасположенных животных в большей степени, чем у стресс-устойчивых крыс, после стрессового воздействия в центре размножения лимфоидных узелков бляшек подвздошной кишки и брыжеечных лимфатических узлов, и особенно в мякотных тяжах лимфатических узлов обнаружено уменьшение количества бластов и клеток с картиной митоза. В межузловых зонах лимфоидных бляшек и в паракортикальной зоне у брыжеечных лимфатических узлов уменьшилось число средних лимфоцитов. У стресс-предрасположенных животных в большей степени, чем у стресс-устойчивых крыс, в мякотных тяжах у брыжеечных лимфатических узлов уменьшилось число незрелых плазматических клеток.

Ключевые слова: эмоциональный стресс, крысы, лимфоидные образования, брыжеечные лимфатические узлы, бляшки подвздошной кишки.

Актуальность темы

Значение проблемы эмоционального стресса, как компонента и пускового механизма в патогенезе многих заболеваний, непрерывно возрастает. В ряде исследований отмечается, что слабый, «обычный» стресс стимулирует активность иммунной системы, а «глубокий», хронический (дистресс), угнетает ее функции [7, 12]. В связи с этим явно возникает необходимость понять, когда стресс становится опасным, а также научиться защищать иммунную систему от такого экстремального воздействия. В этом видится важная линия развития, как профилактической медицины, так и геронтологии.

Нервно-гуморальные изменения, возникающие при стрессовых воздействиях, оказывают генерализованное влияние на весь организм [3, 8]. Следует согласиться с Гансом Селье (1960), который охарактеризовал желудочно-кишечный тракт, систему гипофиз – кора надпочечников и иммунную систему, как главные мишени, подверженные различным химическим и физическим влияниям, названные им «стрессорами» [12].

Для тонкой кишки, в стенках которой имеются скопления диффузной лимфоидной ткани, а также одиночные и групповые лимфоидные узелки, регионарные для кишки брыжеечные лимфатические узлы следует признавать второй линией иммунной защиты [11].

В клинических условиях и в экспериментальных исследованиях замечено, что различные индивидуумы по-разному реагируют на одинаковые стрессовые нагрузки [12]. Генетическая и индивидуальная устойчивость к стрессовым воздействиям у крыс коррелирует с количественными показателями их ориентировочно-исследовательского поведения в новой обстановке. Поведение крыс в тесте «Открытое поле» может служить прогностическим критерием их устойчивости к эмоциональному стрессу [6, 12].

Однако в доступной научной литературе мы не обнаружили сравнительной характеристики морфологии процессов пролиферации и дифференцировки клеток лимфоидного ряда в лимфоидных структурах у бляшек подвздошной кишки и у брыжеечных лимфатических узлов, в особенности у особей с различной поведенческой активностью (стрессоустойчивостью) в условиях острого эмоционального стресса.

Целью настоящей работы явилось комплексное изучение действия острого эмоционального стресса на процессы пролиферации и дифференцировки клеток лимфоидного ряда в брыжеечных лимфатических узлах и в бляшках подвздошной кишки у крыс с разными характеристиками поведения.

Материал и методы

Опыты проведены на 208 крысах самцах Вистар, массой $220,0 \pm 5,2$ г. В постановке эксперимента руководствовались требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных.

Индивидуально-типологические характеристики крыс определяли при их тестировании в «Открытом поле» в течение 3 минут [6, 12]. Далее экспериментальные животные были поделены на три группы: стресс-устойчивые (65 крыс) с индексом активности 4,5-6,0, предрасположенные к эмоциональному стрессу крысы (64 животных) – индекс активности – 0,2-0,6 и амбивалентные (79 крыс) с индексом активности – 0,8 - 1,2 (эти животные были исключены из экспериментов). В дальнейшем поведенчески активные и пассивные крысы были разделены на 12 групп, состоящих в среднем из 10 животных каждая.

В качестве модели острой эмоциональной стрессовой нагрузки использовали иммобилизацию крыс с одновременным электрокожным раздражением [6]. Животных помещали на 1 час в индивидуальные пластиковые пеналы, металлические игольчатые электроды укрепляли в коже на спине крыс. Электрокожное раздражение переменным током наносили по стохастической (неупорядоченной) схеме: длительность импульса – 1 мсек, напряжение – 4-6 В, частота – 50 Гц. Силу раздражения подбирали индивидуально по порогу вокализации (писк) в ответ на электростимуляцию.

Животных выводили из эксперимента методом декапитации под эфирным наркозом. Забой проводили сразу по окончании часового стрессового воздействия, а также через 1, 3, 7 и 14 суток. Крыс соответствующих контрольных групп декапитировали одновременно с опытными животными.

У каждого животного забирали бляшки подвздошной кишки с окружающими тканями и срединные брыжеечные лимфатические узлы. Гистологические срезы готовили по общеизвестной методике с окраской гематоксилином и эозином, пиррофуксином, по ван Гизон, метиленовым зеленым пиронином, по J. Brachet (1953) (для дифференцировки бластных форм лимфоцитов и определения степени зрелости и функциональной активности плазматических клеток). Каждый гистологический препарат изучался в 5 полях зрения при случайном смещении окулярной «узловой сетки» С. Б. Стефанова (1976).

Экспериментальные данные подвергнуты статистической и аналитической обработке. Достоверность различий между группами выявляли с помощью критерия Стьюдента (t-тест).

Результаты исследования и их обсуждение

Стрессовое воздействие приводило к уменьшению количества клеток с картиной митоза и бластов в центре размножения лимфоидных узелков у бляшек подвздошной кишки и у брыжеечных лимфатических узлов. У стресс-предрасположенных крыс через 1-и и 3-ое суток после стрессового воздействия в центре размножения лимфоидных узелков у бляшек подвздошной кишки не выявлено клеток с картиной митоза и бластов. У стресс-устойчивых крыс через 1-и и 3-ое суток после стрессового воздействия, по сравнению с другими сроками эксперимента, было выявлено наименьшее количество клеток с картиной митоза и бластов в центре размножения лимфоидных узелков у бляшек подвздошной кишки. Так, у данной группы животных количество клеток с картиной митоза уменьшилось через 1-и сутки после стрессового воздействия – в 3,5 раза или на 71% (было – $0,42 \pm 0,01$ клетки, стало – $0,12 \pm 0,01$ клетки), а через 3-е суток – в 3,0 раза или на 67% (стало – $0,14 \pm 0,01$ клетки), а число бластов уменьшилось через 1-и сутки – в 2,3 раза или на 56% (было – $1,28 \pm 0,06$ клетки, стало – $0,56 \pm 0,04$ клетки), а через 3-ое суток – в 2,9 раза или на 66% (стало – $0,44 \pm 0,05$ клетки).

Известно, что иммунная защита реализуется при сочетанной работе всех органов иммунной системы – костного мозга, тимуса, селезенки, различных групп лимфатических узлов, как и расположенных в них и циркулирующих Т- и В-клеток, макрофагов и их коопераций [5, 9, 10]. Все эти органы имеют хорошо развитую иннервацию и кровоснабжение, что и обуславливает возможность экстренного поступления в окружающую лимфоидные клетки среду различных биологически активных веществ — нейромедиаторов, гормонов, продуктов метаболизма и прочего [1, 3]. Таким образом, клетки и органы иммунной системы постоянно пребывают под влиянием различных эндогенных влияний, которые изменяют интенсивность иммунного ответа, активность и степень вовлечения клеток лимфоидного ряда [7, 8, 11].

Известно, что при активации иммунных структур происходит резкое увеличение числа лимфоидных узелков, имеющих центры размножения [4, 5, 10]. В центре размножения лимфоидных узелков при пролиферации лимфоцитов происходят процессы мутагенеза антигенсвязывающих рецепторов, что связано с отбором (селекцией) В-клеток, синтезирующих иммуноглобулины с наиболее подходящей структурой антигенсвязывающего участка (высокоаффинные антитела) [1, 2, 9].

Наличие большого числа клеток с картиной митоза и бластных форм клеток в составе лимфоидной структуры, по устоявшемуся в научной литературе мнению, свидетельствует об ее высокой лимфоцитопозитивской потенции [1, 2, 5, 8].

В центре размножения лимфоидных узелков в брыжеечных лимфатических узлах у крыс после стрессового воздействия уменьшение числа клеток с картиной митоза и бластов было выражено в меньшей степени, чем в аналогичной структуре у бляшек подвздошной кишки.

Наименьшее количество клеток с картиной митоза и бластов в центре размножения лимфоидных узелков у брыжеечных лимфатических узлов выявлено через 3-ое суток после стрессового воздействия по сравнению с другими сроками эксперимента. У стресс-устойчивых животных в эти сроки эксперимента число клеток с картиной митоза уменьшилось – в 1,3 раза, или на 24% (было – $0,63 \pm 0,01$ клетки, стало – $0,48 \pm 0,04$ клетки), а бластов – в 1,6 раза, или на 39% (было – $1,68 \pm 0,08$ клетки, стало – $1,02 \pm 0,08$ клетки). В тоже время у стресс-предрасположенных крыс количество клеток с картиной митоза уменьшилось – в 2,1 раза, или на 52% (было – $0,42 \pm 0,01$ клетки, стало – $0,20 \pm 0,02$ клетки), а число бластов – в 2,0 раза, или на 49% (было – $1,08 \pm 0,02$, стало – $0,55 \pm 0,06$ клетки).

В лимфатических узлах, в отличие от бляшек подвздошной кишки, В – лимфоциты для превращения в плазматические клетки перемещаются из центра размножения лимфоидных узелков в мягкотные тяжи, расположенные в мозговом веществе [1, 2, 4]. Таким образом, клетки, продуцирующие антитела, образуются в той области лимфатического узла, которая пространственно отделена от участков, где происходит антигенная стимуляция лимфоцитов [5, 9, 10, 11].

Важно отметить, что у крыс после стрессового воздействия заметное уменьшение числа клеток с картиной митоза и бластов отмечено в мягкотных тяжах, по сравнению с центром размножения в лимфоидных узелках бляшек подвздошной кишки и брыжеечных лимфатических узлов. У стресс-устойчивых и стресс-предрасположенных животных сразу после окончания одночасового стрессового воздействия, а также через 1-и и 3-ое суток, в мягкотных тяжах не обнаружено клеток с картиной митоза. При этом у стресс-устойчивых крыс уменьшение количества бластов в мягкотных тяжах через 1-и сутки было – в 2,5 раза, или на 61% меньше (было – $1,42 \pm 0,03$ клетки, стало – $0,56 \pm 0,03$ клетки), у стресс-предрасположенных животных – в 3,5 раза или на 71% (было – $1,26 \pm 0,02$ клетки, стало – $0,36 \pm 0,02$ клетки), а через 3-ое суток – у стресс-устойчивых крыс в 1,5 раза или на 33% (стало – $0,95 \pm 0,002$ клетки) и у стресс-предрасположенных крыс – в 3,8 раза или на 74% (стало – $0,33 \pm 0,001$ клетки).

Средние лимфоциты могут образовываться в процессе бласттрансформации из малых лимфоцитов или, напротив, быть переходной формой в процессе дифференцировки от больших лимфоцитов к малым [3, 9].

В нашей работе установлено, что у стресс-устойчивых и стресс-предрасположенных крыс в контрольных группах наибольшее количество средних лимфоцитов выявлено в межузелковых зонах у бляшек подвздошной кишки и в паракортикальной зоне у брыжеечных лимфатических узлов.

После стрессового воздействия нами обнаружено уменьшение числа средних лимфоцитов в межузелковых зонах у бляшек подвздошной кишки и в паракортикальной зоне у брыжеечных лимфатических узлов.

При этом у стресс-устойчивых и стресс-предрасположенных крыс количество средних лимфоцитов в межузелковых зонах у бляшек подвздошной кишки уменьшилось в большей степени, чем в паракортикальной зоне у брыжеечных лимфатических узлов.

Так, уменьшение числа средних лимфоцитов в межузелковых зонах у лимфоидных бляшек зафиксировано сразу после окончания одночасового стрессового воздействия – у стресс-устойчивых крыс в 1,3 раза, или на 22% (было – $9,12 \pm 0,67$ клетки, стало – $7,12 \pm 0,33$ клетки) и у стресс-предрасположенных животных – в 1,4 раза, или на 27% (было – $8,85 \pm 0,52$ клетки, стало – $6,44 \pm 0,36$ клетки).

Через 1-и сутки уменьшение у стресс-устойчивых крыс – в 1,8 раза, или на 43% (стало – $5,16 \pm 0,26$ клетки) и у стресс-предрасположенных животных – в 1,9 раза, или на 47% (стало – $4,66 \pm 0,22$ клетки). Через 3-ое суток после стрессового воздействия уменьшилось у стресс-устойчивых крыс – в 1,3 раза, или на 21% (стало – $7,24 \pm 0,43$ клетки) и у стресс-предрасположенных животных – в 2,1 раза, или на 52% (стало – $4,23 \pm 0,18$ клетки).

Для сравнения, в паракортикальной зоне у брыжеечных лимфатических узлов наименьшее число средних лимфоцитов обнаружено через 3-ое суток. У стресс-устойчивых крыс количество таких клеток уменьшилось – в 1,3 раза, или на 25% (было – $17,62 \pm 1,62$ клетки, стало – $13,22 \pm 1,34$ клетки) и у стресс-предрасположенных животных – в 1,5 раза, или на 35% (было – $18,68 \pm 1,84$ клетки, стало – $12,06 \pm 1,47$ клетки).

Обычно с плазматическими клетками, которые способны вырабатывать антитела или иммуноглобулины связывают выполнение ряда эффекторных функций иммунной системы (гуморальное звено иммунной системы) [2, 3, 5, 9].

У стресс-устойчивых и стресс-предрасположенных крыс в наших контрольных группах наибольшее число зрелых и незрелых плазматических клеток у бляшек подвздошной кишки выявили в центре размножения лимфоидных узелков, а у брыжеечных лимфатических узлов в мякотных тяжах.

У крыс после стрессового воздействия в мякотных тяжах у брыжеечных лимфатических узлов и в центре размножения лимфоидных узелков у бляшек подвздошной кишки обнаружено уменьшение числа зрелых и особенно незрелых плазматических клеток. Причем, у стресс-предрасположенных крыс в большей степени, чем у стресс-устойчивых.

Уменьшение числа незрелых плазматических клеток в мякотных тяжах зафиксировано сразу после окончания одночасового стрессового воздействия у стресс-устойчивых крыс – в 1,3 раза, или на 20% (было – $10,28 \pm 1,04$ клетки, стало – $8,22 \pm 0,54$ клетки) и у стресс-предрасположенных животных – в 1,3 раза, или на 22% (было – $6,32 \pm 0,23$ клетки, стало – $4,95 \pm 0,42$ клетки). Через 1-и сутки число данных клеток уменьшилось у стресс-устойчивых крыс – в 1,3 раза, или на 24% (стало – $7,86 \pm 0,64$ клетки) и у стресс-предрасположенных животных – в 2,8 раза, или на 65% (стало – $2,24 \pm 0,23$ клетки). Через 3-ое суток после стрессового воздействия число данных клеток уменьшилось у стресс-устойчивых крыс – в 1,9 раза, или на 48% (стало – $5,32 \pm 0,25$ клетки) и у стресс-предрасположенных животных – в 2,7 раза, или на 63% (стало – $2,35 \pm 0,18$ клетки).

Наименьшее количество зрелых плазматических клеток в мякотных тяжах брыжеечных лимфатических узлов выявлено через 3-ое суток после стрессового воздействия - у стресс-устойчивых крыс – в 1,4 раза, или на 29% (было – $12,25 \pm 1,04$ клетки, стало – $8,65 \pm 0,54$ клетки), а у стресс-предрасположенных животных – в 1,7 раза, или на 40% (было – $16,86 \pm 1,03$ клетки, стало – $10,12 \pm 1,03$ клетки).

Выводы

Приведенные данные позволяют предположить, что воздействие острого эмоционального стресса угнетает процессы пролиферации и дифференцировки клеток лимфоидного ряда в морфофункциональных зонах в бляшках подвздошной кишки и в брыжеечных лимфатических узлах. Следствием воздействия острого эмоционального стресса явилось уменьшение числа клеток с картиной митоза и бластов в центре размножения лимфоидных узелков у бляшек подвздошной кишки, а также в лимфоидных узелках и мякотных тяжах у брыжеечных лимфатических узлов. Уменьшение количества средних лимфоцитов в межузелковых зонах лимфоидных бляшек и в паракортикальной зоне у брыжеечных лимфатических узлов, а также числа незрелых плазматических клеток в мякотных тяжах у брыжеечных лимфатических узлов.

Выявленные при эмоциональной стрессовой нагрузке изменения функционального состояния лимфоидных образований в бляшках подвздошной кишки и в регионарных для кишки брыжеечных лимфатических узлах у стресс-предрасположенных крыс были выражены в большей степени, чем у стресс-устойчивых животных, а сроки восстановления лимфоидных структур длиннее.

Литература

1. Camacho S., Kosco-Vilbois M., Berek C., The dynamic structure of the germinal center // *Immunology Today* – 2008 - V. 19 – P. 511-514.
2. Gray D. Understanding germinal center // *Res. Immunol.* — 2001 — V. 142, №3 - P. 236-242
3. Weiss A., Cambier J. C. (eds) Section on lymphocyte activation. // *Current Opinion in Immunology* – 2004 – V.16 - P. 285-387
4. Бахмет А.А. Клеточный состав герминативных центров лимфоидных (пейеровых) бляшек тонкой кишки у крыс с различной индивидуальной устойчивостью к действию стрессора // *Морфология* – 2006 – Т. 129, № 4 – С. 19-23
5. Воробьев А.И., Кремницкая А.М. Атлас опухоли лимфатической системы. – М., «Ньюдиамед» – 2007 – 292 с.
6. Коплик Е.В. Метод определения критерия устойчивости крыс к эмоциональному стрессу // *Ж. Вестник новых медицинских технологий* – 2002 – т. 9 – С. 16-18.

7. Корнева Е.А. Введение в иммунофизиологию (учебное пособие) – ЭЛСБИ – СПб – 2003 – 248 с.
8. Потапнев М.П. Апоптоз клеток иммунной системы и его регуляция цитокинами // Иммунология – 2002 – №4 – С.237-243
9. Рабсон А., Ройт А., Делвз П. Основы медицинской иммунологии. – М.: Мир – 2006 – 320 с.
10. Райт Д. Морфологическая диагностика патологии лимфатических узлов - М. Мед. лит – 2008 – 176 с.
11. Сапин М.Р., Коплик Е.В., Никитюк Д.Б., Брыжеечные лимфатические узлы крыс при действии эмоционального стресса //Морфология: – 2001 – N 1 – С. 48-51
12. Судаков К.В., Умрюхин П.Е., Системные основы эмоционального стресса. - М: ГОЭТАР-Медиа – 2010 – 112 с.

Структурно-функциональные изменения менисков коленного сустава у детей в норме и при плоскостопии

***А. В. Иванцов, Д. О. Воробьева**

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

*Corresponding author: E-mail: ivantsov.mail.by@mail.ru

Structurally functional changes of menisci of the knee joint of healthy and platypodial children

A. V. Ivantov, D. O. Vorobiova

The article deals with the questions of forming a meniscus-femoral knee joint complex in healthy and platypodial children as a compound system, which represents the development of the whole joint at different stages of ontogenesis. With the help of ultrasonic morphometry, in real-time mode, the objective data about the structure and morphological parameters of this complex was received. Adaptive responses of the meniscus-femoral complex in healthy and platypodial children were determined.

Key words: meniscus, cartilage, knee joint, platypodia

Статические деформации органов опоры и движения у детей по частоте составляют 77,72% от всех ортопедических заболеваний. Из них деформации стопы занимают ведущее место – 58,3% [2].

В последние годы регистрируется устойчивое увеличение удельного количества заболеваний и деформаций стоп у детей и подростков. При несвоевременной диагностике и позднем начале профилактических лечебных мероприятий, болезни стоп прогрессируют, принимая необратимый характер.

К 12-14 годам они, как правило, не корригируются ортопедическими изделиями, что в перспективе приводит к существенному ограничению социальной активности и инвалидности [6].

Сегодня плоскостопие наблюдается у 30-50% школьников. Однако, как правило, только в период от 7 до 18 лет возможна успешная ортопедическая коррекция патологии детской стопы. В возрасте до 7 лет вопрос консервативной коррекции деформаций стоп вызывает споры специалистов. В более позднем возрасте при этой патологии можно только уменьшить негативные последствия, улучшить работоспособность, снизить болевые ощущения [3, 7, 8].

Основной характеристикой плоской стопы является отсутствие возможности образовывать жесткий свод и, как результат этого, низкая способность к супинации при отталкивании от опоры. По данным Т. Огурцовой [10] при таком типе деформации стопы в опоре участвует на 38% площади больше, чем это необходимо.

В результате таких изменений снижается выносливость ног, появляется быстрая утомляемость, а спустя годы – болезненные деформации. М. Warkowska [12] заметила, что недомогания, в частности, болезненность в стопах, возникающая в зрелом возрасте, часто связаны с не диагностированной в детском или юношеском возрасте патологией.

У людей со здоровыми стопами ударная нагрузка при беге и ходьбе до 70% гасится на уровне стопы [11].

При заболеваниях, утрачивается функция стоп, смягчающая ударные нагрузки, в результате чего роль амортизаторов вынуждены брать на себя коленные суставы [5].

Ключевую роль в формировании конгруэнтности коленного сустава играют мениски [4], развитие которых при неблагоприятных условиях может приобретать реальную патогенетическую значимость, обуславливая возникновение дегенеративно-дистрофических изменений в суставе [14].

Одним из ключевых методов в верификации результатов клинического скрининга является ультрасо-