

УДК 612

© О.С. Арташян, Б.Г. Юшков, Ю.С. Храмцова, 2012.

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ УЧАСТИЯ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В ФОРМИРОВАНИИ ОБЩЕГО АДАПТАЦИОННОГО СИНДРОМА

**О.С. Арташян, Б.Г. Юшков, Ю.С. Храмцова***Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, лаборатория иммунофизиологии и иммунофармакологии (зав. – проф. Б.Г. Юшков), г. Екатеринбург.*

### MORPHOLOGICAL ASPECTS OF THE PARTICIPATION OF MAST CELLS IN THE FORMATION OF THE GENERAL ADAPTATION SYNDROME

**O.S. Artashyan, B.G. Yushkov, Yu.S. Hramtsova**

#### SUMMARY

The response of mast cells to stress is largely determined by the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of the endocrine system. The action of the stress factor activation occurs, which leads to an increased synthesis of adrenal hormones, which affect the functional activity of mast cells, increasing their degranulation in the tissues. In the adaptive responses of mast cells under the influence of extreme factors important one is the migration of cells from the bone marrow and thymus to peripheral organs and tissues.

### МОРФОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ УЧАСТІ ТУЧНИХ КЛІТИН У ФОРМУВАННІ ЗАГАЛЬНОГО АДАПТАЦІЙНОГО СИНДРОМУ

**О.С. Арташян, Б.Г. Юшков, Ю.С.Храмцова**

#### РЕЗЮМЕ

Реакція тучних клітин на стрес багато в чому визначається гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової віскою ендокринної системи. При дії стрес-фактора відбувається її активація, що тягне за собою підвищений синтез гормонів наднирників, які впливають на функціональну активність тучних клітин, посилюючи їх дегрануляцію в тканинах. В адаптивних реакціях тучних клітин при дії екстремального фактора важливе місце займає міграція клітин з кісткового мозку і тимуса в периферичні органи і тканини.

**Ключевые слова: тучные клетки (мастоциты), стресс, адаптация, миграция, дегрануляция.**

Мастоциты представляют собой полифункциональные клетки, которые не только играют важную роль в регуляции различных физиологических функций организма, но также участвуют в его адаптации к действию экстремальных факторов, что позволяет высказать гипотезу о возможности образования ими единой, самостоятельной регуляторной системы. Несмотря на интенсивное изучение тучных клеток и накопленный материал об их происхождении, развитии, фенотипической и функциональной гетерогенности, роль мастоцитов разных тканей в физиологических условиях и при действии на организм различных экстремальных факторов, не раскрыта до сих пор. В настоящей работе проведено изучение морфофункционального состояния тучных клеток в различных органах при формировании общего адаптационного синдрома в условиях иммобилизационного стресса.

При выборе органов для исследования руководствовались тем, что при стрессе наибольшие изменения отмечаются в тимусе (инволюция тимиколимфатического аппарата), надпочечниках (гипертрофия коры надпочечников), костном мозге (лимфоцитарная инфильтрация костного мозга), а также в желудочно-кишечном тракте (глубокие язвы желудка и двенадцатиперстной кишки). В качестве контрольной ткани использовали кожу, как орган, в

котором не происходит заметных изменений во время стресс-реакции, но в то же время она богата тучными клетками.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 50 белых беспородных крысах-самцах, массой 150-200 г. В качестве стрессорного фактора применяли предложенную Н.Селье модель нервно-мышечного напряжения (иммобилизация животных на операционном столике на спине) в течение 6 часов однократно [3]. Проводили две серии экспериментов - в первой серии нервно-мышечному стрессу подвергали интактных животных, во второй серии животных предварительно оперировали - под эфирным наркозом выполняли двухстороннюю адреналэктомию. Материал для исследования получали сразу после окончания иммобилизационного стресса и через двое суток после него. Животных выводили из эксперимента передозировкой эфира. Для гистологического исследования и оценки морфофункциональной активности тучных клеток у животных забирали печень, тонкий кишечник, желудок, надпочечники, кожу, тимус и костный мозг (из бедренной кости), с последующей фиксацией в 10% нейтральном формалине, с дальнейшей проводкой по спиртам, в хлороформе и заливкой в парафин. Гистологические

срезы толщиной 5 мкм окрашивали основным коричневым по Шубичу и Азуром II. Плотность тучных клеток определяли с помощью светового микроскопа при увеличении в 400 раз. Подсчет клеток и их типирование производили в 20 полях зрения, с последующим перерасчетом на единицу площади ( $S=1\text{мм}^2$ ). При помощи компьютерной программы «ВидеоТест-Мастер Морфология 4.0» тучные клетки типировали по интенсивности окрашивания и содержанию гранул в цитоплазме [1]. Функциональную активность тучных клеток - степень дегрануляции оценивали как отношение числа полностью дегранулированных клеток к общему числу анализируемых клеток, выраженное в процентах. При статистической обработке результатов, для оценки значимости различий между группами, использовали Т-критерий Стьюдента (5% уровень значимости).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При иммобилизационном стрессе в исследованных органах наблюдаются значительные

изменения. Стресс влияет на количество тучных клеток в тканях, которое зависит от морфофункциональных особенностей последних и исходного содержания мастоцитов в них. При сравнении данных морфофункциональной активности тучных клеток изучаемых органов: кожи, желудка, кишечника, печени, надпочечников, тимуса и костного мозга, установлено, что при иммобилизационном стрессе у крыс с сохраненными надпочечниками отмечается усиление дегрануляции мастоцитов во всех тканях. При этом, количество тучных клеток в одних тканях (тимус, костный мозг) уменьшается, а в других (надпочечники, печень, кишечник, желудок) возрастает. Поскольку мастоциты, как известно плохо и крайне редко в тканях делятся митозом, то процессы увеличения количества тучных клеток на единицу площади после стресс-фактора можно объяснить их активной миграцией. При этом наблюдается определенный баланс между процессами миграции и дегрануляции тучных клеток, который в разных тканях представлен по-разному, в соответствии со спецификой изучаемого органа, таблица 1.

Таблица 1

Характеристика тучных клеток разных органов при иммобилизационном стрессе

Орган	Интактные животные	Иммобилизационный стресс			
		Животные с сохраненными надпочечниками		Животные с удаленными надпочечниками	
		через 6 часов	через 2-е суток	через 6 часов	через 2-е суток
Количество тучных клеток, $S = 1 \text{ мм}^2$					
Кожа	1326,6±233,13	1861±225,9	711,4±145,9**	399±30,5 <sup>^</sup>	498±63,65 <sup>^</sup>
Желудок	65,2±17,17	789,4±155,4*	597,3±97,67*	138±21,3 <sup>^</sup>	180±25,83 <sup>^</sup>
Кишечник	67,4±6,37	1453±87,5*	274±50,59**	106±27,9	151,2±21,49
Печень	82,4±19,2	149,4±19,2*	250,6±94,1	148±43,7	128,8±19,35
Надпочечники	106±17,49	396±57,47*	524,2±97,7***	-	-
Тимус	798±60,29	607±42,6*	564,4±67,17*	516±45,37 <sup>^</sup>	549±51,43 <sup>^</sup>
Костный мозг	520±88,21	169,6±20,01*	176±5,31*	979,51±57,41 <sup>^</sup>	715,9±40,25 <sup>^^</sup>
Коэффициент дегрануляции, %					
Кожа	2,6±0,72	46,48±4,33*	15,23±4,54*,**	14,28±3,51 <sup>^</sup>	1,41±0,36 <sup>^^</sup>
Желудок	7,78±5,43	36,43±7,51*	20,18±4,67	52,89±12,69 <sup>^</sup>	28,88±7,43 <sup>^</sup>
Кишечник	7,71±3,64	28,43±5,31*	36,49±7,77*	59,43±15,64 <sup>^</sup>	46,56±3,92 <sup>^</sup>
Печень	15,29±4,10	7,38±2,39	38,25±9,93	28,37±3,9	11,49±5,76
Надпочечники	5,66±2,47	27,27±5,86*	31,69±5,38*	-	-
Тимус	11,52±4,06	42,99±3,82*	26,54±9,36	4,06±1,35	1,82±0,75
Костный мозг	18,26±0,21	87,31±5,34*	10,22±1,54**	9,6±0,53	53,8±4,25 <sup>^^</sup>

Примечание: для группы животных с сохраненными надпочечниками: \* - различие с контролем достоверно ( $p<0,05$ ), \*\* - различие с 6 ч достоверно ( $p<0,05$ ); для группы животных с удаленными надпочечниками: <sup>^</sup> - различие с контролем достоверно ( $p<0,05$ ), <sup>^^</sup> - различие с 6 ч достоверно ( $p<0,05$ ).

Количественные показатели, представленные в таблице 1, указывают на то, что реакция тучных клеток на стресс зависит от гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Так удаление надпочечников ослабляет или отменяет вообще,

миграцию тучных клеток в такие органы, как желудок, кишка, печень.

При иммобилизации адреналэктомированных животных, в желудке число тучных клеток возрастает в 2 раза, в то время как у животных с надпочечниками

этот показатель увеличивается в 12 раз. В кишечник, у адреналэктомированных животных, мастоциты при стрессе вообще не поступают, в то время как у контрольных крыс, содержание тучных клеток возрастает в 21 раз. Такое существенное различие количественных показателей мастоцитов при иммобилизации у нормальных и адреналэктомированных животных наводит на мысль, что характерные изменения со стороны желудочно-кишечного тракта в виде эрозий и язв желудка и двенадцатиперстной кишки при стрессе, по крайней мере, частично связаны с системой тучных клеток. Вероятно, сильное увеличение концентрации мастоцитов и повышение уровня их дегрануляции связано в первую очередь с выбросом гистамина, который является основным стимулятором париетальных клеток в секреции соляной кислоты. Вероятно, при стрессе, в результате активации симпатoadреналовой системы секреция в ЖКТ подавляется и тучные клетки, мигрируя в эти органы, компенсируют эти процессы, повышенным выделением гистамина. У нормальных животных при иммобилизации увеличение числа тучных клеток в печени наблюдается на 2-е сутки после воздействия. В то время как у адреналэктомированных крыс количество мастоцитов в органе при стрессе не меняется. Миграция тучных клеток в печень при экстремальных воздействиях и активация их дегрануляции, может быть связана с действием гистамина через H<sub>2</sub>-гистаминрецепторы на клетки печени, усиливая в них синтез микросомальных ферментов, концентрация которых, как известно, возрастает при стрессе, (они ускоряют метаболическое разрушение патогенного агента) [4, 6].

В костном мозге фиксируется уменьшение числа мастоцитов (в 3 раза) при стрессе у крыс с сохраненными надпочечниками, а при адреналэктомии, напротив, отмечается некоторое увеличение количества тучных клеток. Возможно, гормоны коры надпочечников оказывают тормозящее влияние на пролиферацию мастоцитов и их выход из кроветворной ткани, и при адреналэктомии, когда оно снимается, число клеток возрастает.

Перераспределение подвижных клеток между тканями при стрессе можно рассматривать в качестве важного компонента адаптационного синдрома. Так работами академика Горизонтова показано, что в стресс-реакции существенное место занимает миграция лимфоцитов из лимфоидных органов в костный мозг [2]. Согласно данным наших исследований в результате воздействия на организм экстремального фактора тучные клетки осуществляют миграционные процессы в противоположном направлении: из костного мозга и тимуса в периферические ткани и органы.

Кроме того, надпочечники оказывают влияние на функциональную активность тучных клеток, усиливая их дегрануляцию, в тканях, где мастоциты образуются и накапливаются, а именно в коже, тимусе и костном мозге. Так, в коже у крыс с сохраненными надпочечниками, степень дегрануляции возрастает при стрессе в 17 раз, а у адреналэктомированных – лишь в 5 раз. В тимусе, при иммобилизации после адреналэктомии, дегрануляция мастоцитов несколько уменьшается, в то время как у контрольных животных возрастает в 3 раза. В костном мозге, уровень дегрануляции, у животных с сохраненными надпочечниками увеличивается при стрессе в 5 раз, а у адреналэктомированных крыс, показатель уменьшается, почти в 2 раза по сравнению с интактными животными.

Эксперименты с иммобилизацией животных с сохраненными и удаленными надпочечниками свидетельствуют, что реакция тучных клеток во многом определяется гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой осью эндокринной системы, а также вегетативной нервной системой. Поскольку, как известно катехоламины оказывают стимулирующее влияние на дегрануляцию тучных клеток, активация в некоторых тканях этого процесса у адреналэктомированных животных может быть связана с влиянием симпатической нервной системы, медиаторами которой, также являются адреналин и норадреналин. Остаются противоречивыми вопросы относительно действия глюкокортикоидов, которые, как известно, являются стабилизаторами клеточных мембран и противовоспалительными гормонами, которые подавляют активность тканевых базофилов при аллергии. Однако, из литературных источников известно, что они вызывают массовую дегрануляцию и гибель части тучных клеток [5, 7, 8]. Их стимулирующее влияние на тучные клетки при стрессе, вероятно, зависит от того, что они действуют не избирательно, а в комплексе с другими гормонами (минералокортикоидами, гормонами мозгового слоя надпочечников), усиливая секрецию биологически-активных веществ, при неспецифическом ответе на стресс-фактор.

Таким образом, тучные клетки исследованных тканей характеризуются различной чувствительностью к гормонам надпочечников, что находит свое отражение в разной их реакции на иммобилизационный стресс. Возможно, это обусловлено гетерогенностью популяции мастоцитов в организме и разного модулирующего влияния тканей, в которых они локализованы. В целом, реакция тучных клеток универсальна, ее работа проявляется как на местном, так и на общем уровне. Реакция тучных клеток в дальнейшем определяет ход таких процессов как регенерация, изменение

микроциркуляторного русла, восстановление микроокружения, питание паренхиматозных клеток, что важно для регуляции процессов, как в физиологических условиях, так и для выработки адаптационных механизмов под воздействием стрессоров. Кроме этого, их взаимосвязь с нервной и гуморальной системой свидетельствует об их важной роли в формировании стресс-реакции и адаптационных перестройках, как микроциркуляторного русла, так и тканей в целом, и переходом последних на новый уровень функционирования.

#### ВЫВОДЫ

1. Ответ тучных клеток на стресс носит системный характер и наблюдается как в органах определяющих развитие стресс-реакции (тимус, костный мозг, надпочечники, желудок, двенадцатиперстная кишка, печень), так и в органах прямо не участвующих в ней (кожа). При этом на выраженность реакции тучных клеток влияет тканевая специфика (свойства микроокружения) и общее состояние организма.

2. При действии стресс-фактора происходит активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, что влечет за собой повышенный синтез гормонов надпочечников, которые влияют на функциональную активность тучных клеток, усиливая их дегрануляцию в тканях.

3. В адаптивных реакциях тучных клеток при действии экстремального фактора важное место занимает миграция клеток из костного мозга и тимуса в периферические органы и ткани – желудочно-кишечный тракт, печень, надпочечники. Увеличение синтеза гормонов надпочечников (иммобилизационный стресс) усиливает миграцию

мастоцитов, а снижение их уровня (адреналэктомия) ослабляет или отменяет вообще, поступление тучных клеток в ткани.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Авцын А.П., Струков А.И., Фукс Б.Б. Принципы и методы гистоцитохимического анализа в патологии. - М.: Лен.отд.-ие. - 1971. - 366 с.
2. Горизонтов П.Д., Белоусова О.И., Федотова М.И. Стресс и система крови. - М.: Медицина, 1983. - 240 с.
3. Селье Г. Очерки об адапционном синдроме. - М.: Медицина, 1960. - 275 с.
4. Черешнев В.А., Юшков Б.Г. Патофизиология. - М.: ВЕЧЕ, 2001. - 703 с.
5. Юшков Б.Г., Климин В.Г., Северин М.В. Система крови и экстремальные воздействия на организм. - Екатеринбург: УрО РАН, 1999. - 200 с.
6. Brandes L.J., Queen G.M., LaBella F.S. Potent interaction of histamine and polyamines at microsomal cytochrome P450, nuclei, and chromatin from rat hepatocytes // J. Cell Biochem, 1998. – vol. 1.; № 3. – P. 233-243.
7. Crapper M., Schrader J. Frequency of mast cell precursor in normal tissue determined by an in vitro assay // J. Immunol. - 1983. - vol. 131. - P. 923 - 928.
8. Finotto S., Mecori Y.A., Metcalfe D.D. Glucocorticoids decrease tissue mast cell number by reducing the production of the c-kit ligand, stem cell factor, by resident cells // J. Clin. Invest. - 1997. - vol. 99, - P. 1721 – 1728.

**Работа поддержана Президиумом РАН, проект № 12-П-234-2003, проект № 12-П-4-1020.**