

рушение функции Т после стресса обусловлено отсутствием в строме каких-то клеток, имеющих в контроле, использование двухфотонного микроскопа, возможно, позволит раскрыть эту причину.

3. В развитых странах разработана технология получения *in vitro* дендритных клеток с заданными свойствами, которая может быть адаптирована для получения клеток стромы, теряющихся при стрессе.

#### **Выводы:**

1. Сильный стресс, интоксикация и другие патогенные факторы вызывают опустошение тимуса лимфоцитами, нарушение его стромы и потерю функции.

2. Современный уровень науки позволяет проводить исследования в целях разработки способов восстановления структуры и функции поврежденного тимуса.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Пащенко М. В., Пинегин Б. В. Роль дендритных клеток в регуляции иммунного ответа // Иммунология. 2002. Т. 23. № 2. С. 313–321.
2. Bhacta N. R., Lewis R. S. Real-time measurement of signaling and motility during T cell development in the thymus // Semin. immunol. 2005. Vol. 17. P. 411–420.
3. Elmor S. Enhanced histopathology of the thymus // Toxicol. Pathol. 2006. Vol. 34. P. 656–665.
4. Pearse G. Normal structure, function and histology of the thymus // Toxicol. Pathol. 2006. Vol. 34. P. 504–514.
5. Ichimiya S., Kohjima T. Cellular networks of human thymic medullary stromas // J. Histochem. Cytochem. 2006. Vol. 54. P. 1277–1289.
6. Weinreich M. A., Hogquist K. A. Thymic emigration: when and how T cells leave home // J. Immunol. 2008. Vol. 181 (4). P. 2265–2270.

*Адоева Е. Я.*

### **РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ КАПСУЛЫ ЦИСТИЦЕРКОВ ПЕЧЕНИ В ОРГАНИЧНЫХ КУЛЬТУРАХ**

*Кафедра биологии (заведующий – проф. А. Ф. Никитин) Военно-медицинской академии  
им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, e-mail: adoeva@mail.ru*

Тканевые паразиты вызывают в организме хозяина целый ряд местных и общих изменений, направленных на обеспечение себе длительного существования. Выделяя комплекс биологически активных веществ в составе секреторно-экскреторных продуктов (экзометаболитов), они изменяют защитную реакцию соединительной ткани хозяина, которая выражается в индукции формирования вокруг личинок гельминтов обильно васкуляризованной соединительнотканной капсулы специфического строения, функционирующей как биологический барьер с избирательной проницаемостью [1, 2]. Для выяснения характера взаимоотношений в системе «паразит–хозяин» широко используются цистицерки кошачьего цепня, инкапсулирующиеся в печени грызунов. Однако в экспериментах

на животных сложно выделить первичную реакцию клеток на какое-либо воздействие из совокупности последующих реакций организма. В связи с этим становится очевидной необходимость изучения влияния экзосметаболитов тканевых личинок гельминтов в системах *in vitro*.

Цель исследования – изучение реактивных изменений в органных культурах соединительнотканых капсул цистицерков кошачьего цепня после воздействия экзосметаболитов цистицерков.

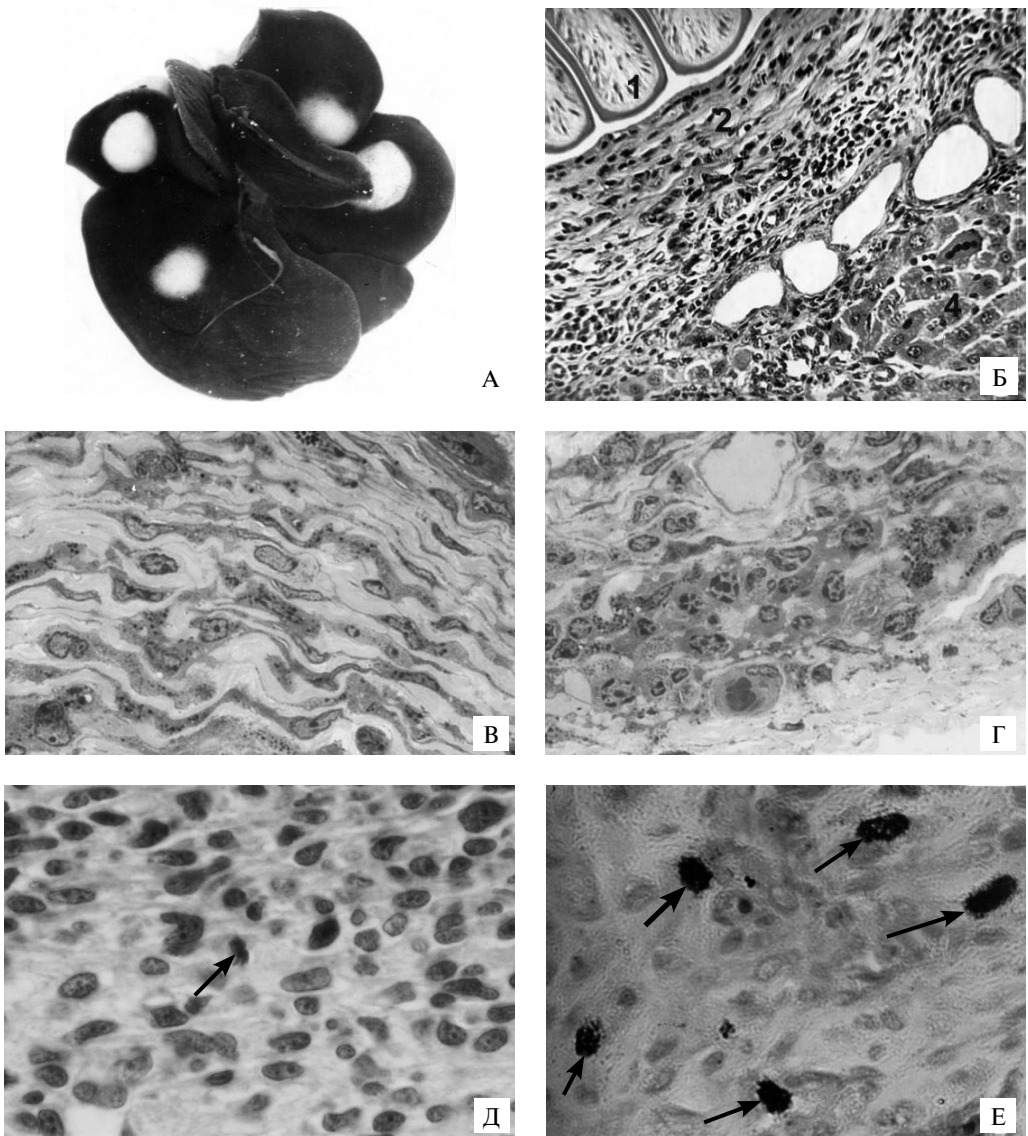
**Материал и методы исследования.** Для органотипического культивирования использовали капсулы цистицерков со сроком инвазии 120 суток. Культивирование проводили по методу множественных органных культур [4]. Половину всех эксплантатов капсул цистицерков культивировали в присутствии цистицерков в среде. Отношение веса цистицерков к объему среды равнялось 1:10 г/мл. Эксплантаты фиксировали в 10%-ном забуференном нейтральном формалине, заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, азур-П-эозином, по Ван-Гизону.

Для исследования динамики синтеза ДНК эксплантаты инкубировали с  $^3\text{H}$ -тимидином (отечественного производства, удельная активность 730 ГБк/ммоль). В культуральную среду за час до фиксации эксплантатов вводили радиоактивный тимидин в дозе  $3,7 \times 10^4$  Бк/мл. Автографы получали общепринятым способом. На автографах определяли индекс первично меченых ядер (ИПМЯ) – количество меченых ядер на 100 клеток. На этих же срезах подсчитывали митотический индекс (МИ) – количество митозов на 1000 клеток.

Результаты проведенных исследований обрабатывали с учетом индивидуальной изменчивости признака [3]. Оценку достоверности различий сравниваемых средних проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента, при этом был принят уровень значимости:  $p < 0,05$ .

**Результаты исследований и их обсуждение.** На 120-й день инвазии соединительнотканная капсула цистицерка кошачьего цепня состоит из двух слоев. Внутренний слой, примыкающий к паразиту, представлен множеством коллагеновых волокон и небольшим количеством фибробластов между ними. Наружная часть капсулы более рыхлая и богата клеточными элементами и кровеносными сосудами. В наружном слое капсулы кроме фибробластов встречаются макрофаги, лимфоциты, зернистые лейкоциты, тучные и плазматические клетки. В прилегающих к капсуле участках печени отмечается расширение сосудов (рис. 1).

Культивирование соединительнотканной капсулы цистицерков кошачьего цепня впервые осуществлялось на протяжении 30 суток. В течение 5–6 суток культивирования длится период адаптации. Он сопровождается дистрофическими и некробиотическими процессами, гибелью клеток и дезорганизацией межклеточного вещества, фагоцитозом продуктов распада. Затем следует период пролиферации и дифференцировки, который длится с 5–6-х по 9–15-е сутки культивирования и сопровождается интенсивным размножением клеток, продукцией коллагеновых белков и фибрилlogenезом. Период дегенерации или старения культур начинается через 15–17 суток культивирования и заканчивается гибелью эксплантатов.



*Рис. 1. Соединительнотканная капсула цистицерков кошачьего цепня:*

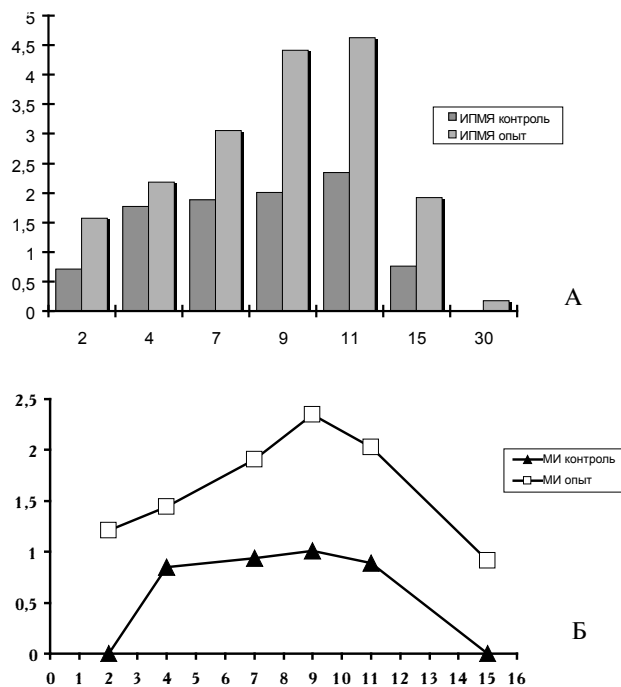
*А – инкапсулированные цистицерки в печени крысы. Б – срез капсулы цистицерка; видны: тегумент паразита (1), внутренний (2) и наружный (3) слои капсулы, гепатоциты (4).*

*В – фибробласты. Г – плазматические клетки. Д и Е – автографы срезов эксплантатов капсул цистицерков, 9 суток культивирования.*

*Стрелками указаны: Д – митоз; Е – включение тимидина фибробластами.*

*Окраска: Б, Д, Е – гематоксилином и эозином; В, Г (полутонкие срезы) – толуидиновым синим.*

*Увел.: Б – об. 20, ок. 7; В, Г, Д, Е – об. 40, ок. 7*



*Рис. 2. Изменение показателей пролиферативной активности фибробластов в органных культурах капсул цистицерков кошачьего цепня: По оси абсцисс: время культивирования, сутки; по оси ординат: ИПМЯ (А) – доля клеток, включающих <sup>3</sup>H-тимидин, %; МИ (Б) – доля митозов от общего числа клеток, %.  $P < 0,05$*

Через двое суток культивирования выживаемость эксплантатов капсулы цистицерков составила  $81,8 \pm 11,6$  %. В дальнейшем происходит постепенное уменьшение значения этого показателя. Однако данные, полученные через 4, 7 и 9 суток культивирования, достоверно не отличаются от указанных выше. Через 11 суток культивирования выживаемость эксплантатов капсулы составляет  $50,0 \pm 7,2$  %, затем уменьшается вдвое через 15 суток культивирования ( $25,0 \pm 4,5$  %;  $p < 0,05$ ) и через 30 суток составляет  $14,8 \pm 6,8$  %.

В капсуле, образованной вокруг цистицерка в организме промежуточного хозяина, фибробласты обеспечивают основную функцию этого органоподобного образования, направленную на создание наиболее благоприятных условий существования паразита. В связи с этим особый интерес для нас представляло изучение морфофункциональных особенностей фибробластов эксплантатов капсулы цистицерков. Результаты изучения пролиферативной активности фибробластов капсулы в различные сроки ее культивирования представлены на рис. 2.

На протяжении 15 суток культивирования в эксплантатах капсул цистицерков присутствуют фибробласты, в ядрах которых происходит синтез ДНК. Впервые фибробласты с мечеными ядрами встречаются через двое суток культивирования. В дальнейшем происходит постепенное увеличение индекса первично меченых ядер (ИПМЯ). Максимальные значения этого показателя отмечаются через

9 и 11 суток культивирования –  $2,34 \pm 0,08$  и  $2,01 \pm 0,13$  % соответственно, после чего происходит постепенное его уменьшение. Через 15 суток культивирования в эксплантатах капсул цистицерков присутствуют единичные фибробласты, синтезирующие ДНК, значительно уменьшается величина ИПМЯ –  $0,76 \pm 0,06$  %.

Через четверо суток культивирования в эксплантатах капсул впервые встречаются делящиеся фибробласты. Митотический индекс (МИ) –  $0,85 \pm 0,01\%$ . В процессе культивирования происходит постепенное увеличение МИ, который достигает максимального значения через 9 суток культивирования –  $1,01 \pm 0,05\%$ . Через 11 суток культивирования МИ снижается и в дальнейшем в фибробластах эксплантатов капсул митозы уже не наблюдаются.

Культивирование эксплантатов капсул цистицерков в присутствии самих паразитов привело к появлению значительных изменений в морфологии культур, уровне пролиферативной активности клеток, а также вызвало изменение степени и направления дифференцировки фибробластов.

Через двое суток культивирования большинство исследованных эксплантатов были жизнеспособны. В дальнейшем на протяжении 9 суток культивирования выживаемость эксплантатов достоверно не изменяется и остается выше 80 %. Через 11 суток выживаемость эксплантатов составляет  $77,4 \pm 5,3$  %, а затем постепенно снижается до  $51,8 \pm 7,4$  % через 30 суток культивирования. С 11-е по 30-е сутки культивирования значения выживаемости эксплантатов при постоянном присутствии цистицерков в среде превышают значения, полученные в контроле ( $p < 0,05$ ).

На протяжении всего культивирования со 2-х по 30-е сутки в эксплантатах присутствуют фибробласты, включающие радиоактивный тимидин. Наибольшие значения ИПМЯ выявлены через 9 и 11 суток культивирования:  $4,41 \pm 0,13$  и  $4,62 \pm 0,03$  % соответственно (рис. 2). Во все сроки культивирования значения ИПМЯ фибробластов эксплантатов капсул, культивируемых при постоянном присутствии цистицерков в среде, в 1,5–2 раза превышают контрольные показатели ( $p < 0,05$ ). В эксплантатах, культивируемых с цистицерками, в отличие от контроля, уже через двое суток встречаются делящиеся фибробласты. МИ составляет  $1,21 \pm 0,08\%$ . В процессе культивирования происходит постепенное увеличение МИ. Максимальные значения этого показателя отмечаются через 9 и 11 суток:  $2,35 \pm 0,11$  и  $2,03 \pm 0,04\%$  соответственно. Значения МИ достоверно выше, чем в контроле ( $p < 0,05$ ) на протяжении 15 суток культивирования.

### **Выводы:**

1. Органная культура соединительнотканной капсулы цистицерков может быть использована в качестве модели для изучения вопросов цитодифференцировки, межклеточных взаимодействий и гистогенеза соединительной ткани, а также влияния на эти процессы различных биологически активных веществ, в том числе выделяемых цистицерками и другими тканевыми паразитами.

2. Присутствие цистицерков в культуральной среде оказывает ростстимулирующее влияние на органную культуру соединительнотканной капсулы цистицерков. Оно выражается в увеличении выживаемости эксплантатов, сокращении сроков адаптации и продлении периода пролиферации и дифференцировки культур. При этом отмечается увеличение митотического индекса и индекса первично меченых ядер фибробластов капсулы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Березанцев Ю. А. Проблема тканевого паразитизма // Паразитология. 1982. Т. 16. № 4. С. 268–272.
2. Березанцев Ю. А., Борщук Д. В., Оксов И. В., Чеснокова М. В. Инкапсуляция личинок паразитических нематод и цестод в тканях позвоночных как форма взаимоотношения паразита и хозяина // Паразитол. 1989. № 36. С. 131–160.
3. Лурия Е. А. Кроветворная и лимфоидная ткань в культурах. М.: Медицина, 1972.
4. Катинас Г. С., Булгак В. И., Никифорова Е. Н., Светикова К. М. О нахождении стандартной ошибки средней с учетом индивидуальной изменчивости признака в пределах организма // Арх. анат. 1969. Т. 57. № 9. С. 97–104.

*Баженов Д. В., Шинкаренко Т. В.*

## ПРОЦЕССЫ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ МЫШЦЫ ПИЩЕВОДА КРЫСЫ

*Кафедра нормальной анатомии (заведующий – проф. Д. В. Баженов) Тверской  
государственной медицинской академии, Тверь, e-mail: bajenovd@mail.ru*

---

В настоящей работе была поставлена задача изучения процессов репаративной регенерации, протекающих в исчерченной ткани мышечной оболочки при механическом повреждении стенки пищевода крысы.

**Результаты исследования и их обсуждение.** В течение первых суток эксперимента в области повреждения формируются центральная и периферическая зоны, выявляемые при световой микроскопии. Центральная зона – это зона кровоизлияния, с разрушенной мышечной тканью. Периферическая зона – это зона отека, содержащая сверхсокращенные мышечные волокна, волокна в виде сарколеммальных трубок или гомогенных глыбок в окружении нейтрофилов и макрофагов.

При люминесцентной микроскопии мышечная ткань зоны повреждения, обработанная акридиновым оранжевым, имеет желто-оранжевое свечение. Поскольку в норме при таком методе исследования миофибриллы мышечного волокна дают зеленое свечение, то изменение люминесценции свидетельствует о повреждении миофибрилярного аппарата. Границы зоны повреждения, выявляемые при световой и люминесцентной микроскопии, не совпадают. Изменение люминесценции отмечается в зонах, отдаленных от очага повреждения. Эти зоны воспринимаются как неповрежденные при светооптическом наблюдении.

При ультрамикроскопическом исследовании отмечаются стереотипные изменения. В первые сутки после нанесения травмы существенно изменяются сократительный и митохондриальный аппараты. Нарушается архитектура саркомеров: Z-линии не выявляются, либо утрачивают свою прямолинейность, миофиламенты располагаются не строго параллельно друг другу. Митохондрии отчетливы с просветленным матриксом, кристы часто не обнаруживаются.