

С. В. Мичурина¹, Д. В. Васендин¹, И. Ю. Ищенко², А. П. Жданов¹

¹ Новосибирский государственный медицинский университет
Красный просп., 52, Новосибирск, 630091, Россия

² Новосибирский научно-исследовательский институт
клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН
ул. Академика Тимакова, 2, Новосибирск, 630117, Россия
E-mail: vasendindv@gmail.com

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТИМУСЕ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ

Установлено, что воздействие экспериментальной гипертермии (ЭГ) на организм крыс Вистар приводит к формированию акцидентальной инволюции тимуса, носящей временный, обратимый характер. Временная инволюция органа соответствовала «катаболической» фазе постгипертермического периода, что выражалось в снижении относительного веса органа, уменьшении относительной площади мозгового вещества и плотности лимфоцитов во всех зонах, особенно во внутренней зоне коркового вещества. На тканевом уровне выявлено усиление деструктивных процессов, признаки периваскулярного отека, миграция клеточных элементов в лимфатические пространства и капилляры. К концу «анаболической» фазы постгипертермического периода (14-е сутки после ЭГ) наблюдалось практически полное восстановление органа.

Ключевые слова: крысы Вистар, тимус, гипертермия.

Тепловая энергия является тем фактором, который воздействует на все уровни организации живой материи – от молекулярного до популяционного. В связи с этим температурные условия, в которых протекают те или иные процессы жизнедеятельности, характер и закономерности влияния температуры окружающей среды на организм, пределы изменения температуры, за которыми нарушается нормальная жизнедеятельность биологических систем, являются фундаментальными показателями.

В недавних исследованиях было изучено влияние экспериментальной гипертермии (ЭГ) на эндокринную систему [1–4]. Изучение влияния высоких температур на органы иммунной, лимфатической систем (тимус, лимфатические узлы) представлены очень скудно, они не несут систематического характера и скорее отражают влияние хронического воздействия высокой температуры как климатического фактора [5; 6]. Тимус, являясь центральным органом иммунной системы и эндокринной железой одновременно, представляет собой общее звено между двумя важнейшими регуляторными системами, осуществляющими контроль

над постоянством внутренней среды организма и ответственными за процессы адаптации к изменяющимся условиям внешней среды.

Систематических сведений, касающихся состояния тимуса при воздействии на организм высокой внешней температуры, недостаточно. Поэтому **целью** исследования явилось изучение изменений клеточного состава тимуса крыс линии Вистар в различные сроки (5 ч, 3, 7 и 14 сут.) после проведения экспериментальной гипертермии.

Материал и методы

В настоящем исследовании в качестве экспериментальных животных были выбраны крысы-самцы Вистар с исходной массой тела 240–280 г в возрасте 2,5–3 мес. Разогревание животных производилось в полном соответствии со «Способом экспериментального моделирования общей гипертермии у мелких лабораторных животных» [7]. Все животные нагревались однократно в соответствии с вышеуказанной методикой до стадии теплового удара (ректальная температура 43,5 °С). В каждой подгруппе было по 15 животных.

На разных сроках эксперимента (5 ч, 3, 7 и 14 сутки после проведения ЭГ) животных умерщвляли под легким наркозом путем декапитации и забирали гистологический материал для определения исследуемых показателей. Все экспериментальные работы выполнялись с соблюдением правил биоэтики, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для лабораторных или иных целей.

В качестве объекта исследования использовалась вилочковая железа (тимус) крыс. Ее очищали от окружающей жировой ткани и взвешивали на торсионных весах. С помощью ротационного микротомата изготавливали серийные или полусерийные срезы толщиной 10 мкм, окрашивали гематоксилином Майера и эозином, а также азур-П-эозином по Хокст – Максимову. Препараты заключали в канадский бальзам и накрывали покровным стеклом.

Срезы морфометрировали при увеличении в 16 раз, выделяя следующие структурно-функциональные зоны: корковое и мозговое вещества, капсулу и междольковые перегородки. Морфометрию эпителиальных структур проводили на тех же срезах при увеличении в 200 раз. Клеточный состав тимуса изучали на срезах толщиной 5 мкм, окрашенных азуром и эозином. При увеличении в 1 000 раз (объектив $\times 100$, масляная иммерсия, окуляр $\times 10$) подсчитывали абсолютное количество разных видов клеток на стандартной площади 4 500 мкм². Дифференцировали следующие клеточные элементы: иммунобласты, средние и малые лимфоциты, клетки с фигурами митозов, клетки с пикнотическими ядрами, эпителиальные клетки и макрофаги. Подсчет клеток проводили в субкапсулярной и внутренней зонах коркового вещества и в мозговом веществе тимуса.

Обработку материала проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0.

Результаты исследования и обсуждение

Наблюдения показали, что влияние ЭГ на организм крыс приводит к значительным изменениям структурной организации тимуса, которые характерны для «катаболической»

фазы, соответствующей острому постгипертермическому периоду (5 ч, 3 сут.), и «анаболической» фазе, соответствующей восстановительному периоду (7 и 14 сут.) [4].

Воздействие на организм крыс высокой внешней температуры приводило к выраженным изменениям не только зонального, но и клеточного состава тимуса во всех его структурно-функциональных зонах [8].

В первые часы острого периода снижалась плотность клеточных элементов, особенно во внутреннем слое коркового вещества. Основной вклад в эти изменения вносило уменьшение численности лимфоидных клеток, и, в первую очередь в коре, снижалось количество именно зрелых лимфоцитов. Важно, что при этом не снижалась интенсивность лимфоцитопоэтической функции тимуса, так как неизменным оставалось количество бластов и митотически делящихся клеток в субкапсулярной зоне. Уменьшение численности клеток лимфоидного ряда можно объяснить угнетением пролиферативных процессов. Помимо этого, определенный вклад, по-видимому, вносит ускорение миграции лимфоцитов из тимуса через посткапиллярные венулы и лимфатические сосуды [9; 10], сочетающееся с повышенной гибелью клеток. На фоне этих событий, наоборот, отмечалось увеличение числа средних лимфоцитов в субкапсулярной зоне и иммунобластов во внутренней зоне коркового вещества. Это, по-видимому, свидетельствует об усилении лимфоцитопоэтической функции и ускорении созревания имеющихся тимоцитов в соответствующих зонах и рассматривалось нами как один из компенсаторных процессов.

В субкапсулярной и внутренней зонах коры тимуса увеличивалось число клеток с пикнотическими ядрами. Изменения клеточного состава, наблюдаемые в коре тимуса, характеризовались выраженной макрофагальной реакцией. Следует отметить, что в условиях гипертермического стресса главная роль в усилении гибели лимфоидных клеток отводится глюкокортикоидным гормонам надпочечников [9]. Определенный вклад в усиление процесса гибели лимфоцитов в корковом веществе тимуса могут вносить тучные клетки. Появление большого числа дегранулированных тучных

клеток, наблюдаемое нами в начале острого периода, согласуется с данными литературы о стереотипности ответной реакции этих клеток на внешние дестабилизирующие влияния [11].

Численность эпителиальных клеток, как и относительная площадь эпителиальных железистых образований, значительных изменений не претерпевала. Встречались скопления тесно контактирующих эпителиальных клеток, охватывающих остатки разрушенных клеточных элементов, и трубчатые структуры, стенки которых образованы однослойным эпителием. В мозговом веществе обнаружено увеличение содержания средних лимфоцитов и уменьшение числа зрелых лимфоцитов, определялись тельца Гассалья, сформированные уплощенными эпителиальными клетками с гиалиновым содержимым.

Уже в первые часы после воздействия ЭГ отмечено увеличение периваскулярных пространств в области корково-медуллярного соединения и мозговой зоны. Обращает на себя внимание появление плазматических клеток на фоне значительного числа лимфоидных клеточных элементов, заполняющих периваскулярные пространства (рис. 1).

К концу острого периода (3 сут. после ЭГ) плотность клеточных элементов в исследованных зонах органа продолжала снижаться, особенно во внутреннем слое коркового вещества, в первую очередь за счет зрелых лимфоцитов. Содержание иммунобластов во внутренней зоне коркового слоя было на уровне, почти в два раза превышающем контроль. В мозговом веществе количество таких клеток снижалось. Количество средних лимфоцитов в коре и мозговом веществе железы последовательно возрастало.

Количество клеток с пикнотическими ядрами и макрофагов в обеих зонах коркового вещества тимуса снизилось по сравнению с группой крыс после ЭГ через 5 ч и вернулось к исходному контрольному уровню.

Обращали на себя изменения, обнаруженные в эпителиальном компартменте. Морфометрически выявлено увеличение числа отдельных эпителиальных клеточ-

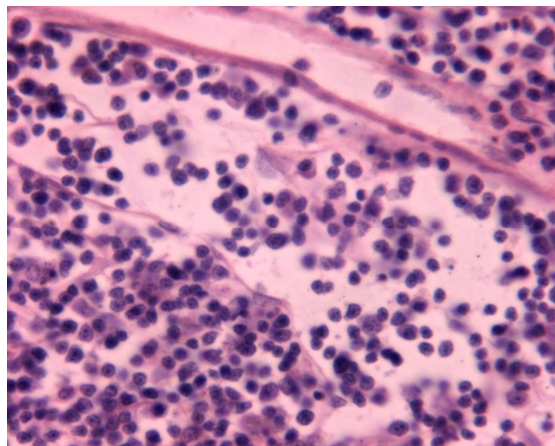


Рис. 1. Область кортикотимомедуллярного соединения в тимусе крыс после ЭГ через 5 ч.

Отечность периваскулярного пространства. Окраска гематоксилином Майера и эозином. Объектив $\times 40$, окуляр $\times 10$

ных элементов. Установлено, что относительная площадь железистых образований к моменту окончания острого периода, по сравнению с группой крыс после ЭГ через 5 ч, возросла. При этом встречались железистые образования, стенки которых образованы несколькими слоями эпителиальных клеток, находящихся в тесном контакте с венами. Эти железистые эпителиальные образования являются функциональными структурами, присущими тимусу и в физиологических условиях. Большинство исследователей объясняют разрастание эпителиального компонента в тимусе появлением «острой необходимости» в усилении секреции тимических гормонов при экстремальных воздействиях [12]. В мозговом веществе встречались также тельца Гассалья, сформированные уплощенными эпителиальными клетками с гиалиновым содержимым.

К концу острого постгипертермического периода сохранялись признаки периваскулярного отека в области корково-медуллярного соединения и в мозговой зоне. В периваскулярных пространствах обнаружено значительное количество плазматических клеток (рис. 2). Рядом с сосудами идентифицировались тучные клетки II и III степени дегрануляции.

В восстановительном периоде на 7 сут. после ЭГ общая численная плотность клеточных элементов в субкапсулярной зоне коркового вещества тимуса продолжала поддерживаться на низком уровне; во внут-

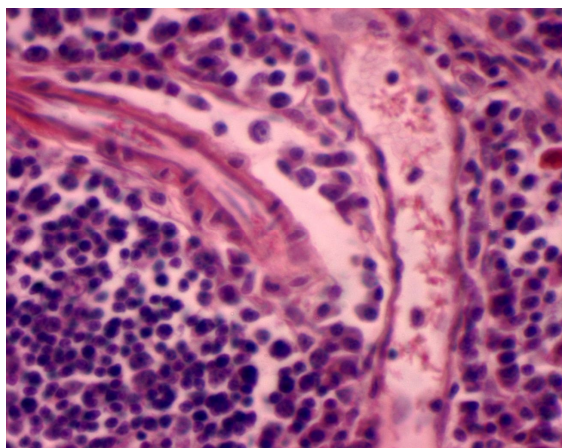


Рис. 2. Тимус крысы после ЭГ через 3 суток. Большое количество плазматических клеток в периваскулярных пространствах. Окраска гематоксилином Майера и эозином. Объектив $\times 40$, окуляр $\times 10$

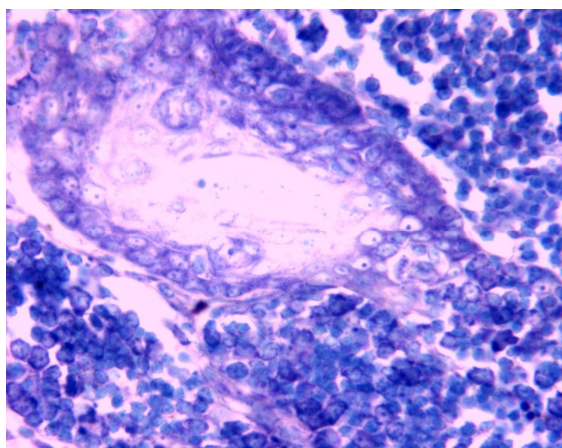


Рис. 3. Тимус крысы после ЭГ через 7 суток. Трубоччатые железистые структуры в мозговом веществе. Окраска азуром II и эозином. Объектив $\times 40$, окуляр $\times 10$

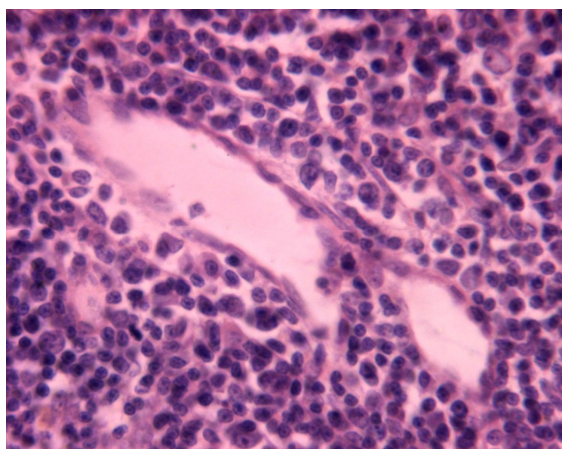


Рис. 4. Тимус крысы после ЭГ через 7 суток. Отсутствие отека периваскулярного пространства. Наличие плазматических клеток в пространстве. Окраска гематоксилином Майера и эозином. Объектив $\times 40$, окуляр $\times 10$

ренной зоне коры и в мозговом слое этот параметр несколько увеличился по сравнению с контролем. Причем во всех зонах тимуса к этому сроку отмечено пониженное содержание зрелых лимфоцитов. Однако к 14 сут. постгипертермического периода эти параметры восстанавливались.

Абсолютное количество лимфоидных клеточных элементов в обеих зонах коркового вещества оставалось низким по сравнению с контролем, при этом относительные параметры сохранялись на уровне интактных животных.

На фоне снижения численной плотности зрелых лимфоидных клеток обнаружен рост абсолютного и относительного числа средних лимфоцитов во всех структурно-функциональных зонах. В результате абсолютное количество этих малодифференцированных лимфоцитов значительно превысило соответствующий показатель в группе контроля. К моменту окончания эксперимента доленое соотношение малых и средних лимфоцитов до контрольного уровня восстанавливается только в корковом веществе, что, по-видимому, отражает восстановление баланса процессов созревания и миграции тимоцитов в корковом веществе, но не в мозговом слое.

Отмечен пониженный уровень абсолютного количества иммунобластов в мозговом веществе при сравнении с контролем.

Обнаружено увеличение (почти в 2 раза) абсолютного и относительного количества клеток, содержащих фигуры митозов, в субкапсулярной зоне коры и снижение (также в 2 раза) численности макрофагов.

Изменения количества эпителиальных клеток во всех зонах тимуса были незначительными. Несколько снизилась относительная площадь железистых образований. Наряду с эпителиальными тяжами и тельцами Гассала встречались трубчатые образования с многослойным эпителием (рис. 3).

Снизилась отечность периваскулярных пространств, в них обнаружено значительное число лимфоидных клеточных элементов, а также выявлены плазматические клетки (рис. 4).

Тучные клетки, с преимущественно I степенью дегрануляции, выявлены в соединительно-тканых прослойках и капсуле исследуемого органа крысы.

К 14 сут. постгипертермического периода общая численность клеточных элементов, в частности клеток лимфоидного ряда, во всех зонах тимуса постепенно возрастала и достигла контрольных значений.

Во внутреннем слое коры оказалось повышенным абсолютное и относительное число иммунобластов. К этому же сроку во всех исследованных зонах органа содержание клеток с пикнотическими ядрами и макрофагов практически не отличалось от контроля. Также отмечено уменьшение абсолютного и относительного числа клеток, содержащих фигуры митозов.

Численность эпителиальных клеток к концу эксперимента осталась на уровне контрольных значений. Однако уменьшилась относительная площадь железистых образований настолько, что оказалась ниже контрольного уровня, что свидетельствует об отсутствии необходимости усиления секреции тимических гормонов к 14 сут. после проведения ЭГ. Наряду со скоплениями эпителиальных клеток, не окруженных капсулой, встречались трубчатые эпителиальные каналцы, стенки которых состояли из многослойного эпителия и были окружены капсулой. В мозговом веществе встречались тельца Гассалья.

Отмечено снижение отечности периваскулярных пространств. В них обнаружено значительное число лимфоидных клеточных элементов, а также выявлены плазматические клетки.

Заключение

Таким образом, к концу острого периода (3 сут. после ЭГ) у крыс развивалась временная или акцидентальная инволюция тимуса. Это можно объяснить резким превалированием в тканях органа катаболических процессов, интенсификация которых обусловлена возросшими уровнями кортикостерона и инсулина [4]. Глюкокортикоидные гормоны являются стимуляторами СТГ, в результате чего «катаболическая» фаза синдрома адаптации инициирует его «анаболическую» фазу [13]. Воздействие высокими внешними температурами, с одной стороны, вызывает развитие стресс-реакции, с другой стороны, непосредственно является значительным повреждающим

фактором. При этом происходит выброс Т-лимфоцитов в кровь и массовая гибель лимфоидных элементов в самом органе, особенно в корковом веществе [14]. Увеличение количества молодых форм лимфоидных клеток (бластов и средних лимфоцитов), выявленное в нашем исследовании, может быть связано с усилением пролиферации в тимусе и свидетельствует об активизации лимфопоэтической функции органа на данном этапе после ЭГ. В преодолении напряженного состояния при ЭГ значительное участие принимают железистые структуры эпителиального компартмента, секретизирующие тимические гормоны. К концу анаболической фазы постгипертермического периода наблюдается практически полное восстановление органа.

Список литературы

1. Пахомова Ю. В. Особенности гемолимфатических соотношений показателей белкового обмена при общей гипертермии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2000.
2. Антонов А. Р., Ефремов А. В., Ровина А. К., Симакова И. В. Особенности гормонального фона при тепловом стрессе, индуцированном общей управляемой гипертермией // Вестн. новых медицинских технологий. 2004. Т. 11, № 4. С. 29–31.
3. Симакова И. В. Особенности эндокринно-метаболического статуса у крыс в динамике общей искусственной гипертермии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2005.
4. Пахомова Ю. В. Системные механизмы метаболизма при общей управляемой гипертермии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Новосибирск, 2006.
5. Бибик Е. Ю. Особенности микроорганизации тимуса крыс при экстремальной хронической гипертермии // Украинский мед. журн. 2007. № 4. С. 13–16.
6. Ковешников В. Г., Бибик Е. Ю. Особенности адаптационной перестройки лимфоидных органов при экстремальной хронической гипертермии // Морфология. 2008. Т. 133, № 2. С. 63–64.
7. Ефремов А. В., Пахомова Ю. В., Пахомов Е. А., Ибрагимов Р. Ш., Шорина Г. Н. Способ экспериментального моделирования

общей гипертермии у мелких лабораторных животных // Изобретения. Полезные модели. 2001. № 10. С. 43–45.

8. Васендин Д. В., Мичурина С. В., Ищенко И. Ю., Жданов П. А. Влияние общей однократной управляемой гипертермии на показатели морфологического состояния тимуса крыс популяции Вистар // Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии: Тез. докл. междунар. конф. Новосибирск, 2008. С. 62–64.

9. Кветной И. М., Ярилин А. А., Полякова В. О., Князькин И. В. Нейроиммуоэндокринология тимуса. СПб., 2005.

10. Kotani M. Inhibition of mitosis in the guinea-pig thymus after ligation of draining efferent lymphatics // *Lymphology*. 1998. Vol. 31. P. 21–26.

11. Зерчанинова Е. И. О роли тучных клеток в регуляции кроветворения при дей-

ствии на организм экстремальных факторов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Екатеринбург, 2000.

12. Обухова Л. А. Структурные преобразования в системе лимфоидных органов при действии на организм экстремально низких температур и в условиях коррекции адаптивной реакции полифенольными соединениями растительного происхождения: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Новосибирск, 1998.

13. Селятицкая В. Г., Обухова Л. А. Эндокринно-лимфоидные отношения в динамике адаптивных процессов. Новосибирск, 2001.

14. Ярилин А. А. Гомеостатические процессы в иммунной системе. Контроль численности лимфоцитов // *Иммунология*. 2004. № 5. С. 312–320.

Материал поступил в редколлегию 07.08.2009

S. V. Michurina, D. V. Vasendin, I. Yu. Ischenko, A. P. Zhdanov

Structural Changes in Thymus of Rats after Experimental Hyperthermia

It is established by us, that influence of the experimental hyperthermia (EH) on the Vistar rat organism leadsto formation of accidental involution of thymus, carrying temporary, reversible character. Temporary involution of this organ correspondend to «catabolic» phase of the posthyperthermal period (5 hours, 3 days after EH) that was expressed in decrease in relativeweight of the organ, reduction of the relative area of brain substance and density of lymphocyte in all zones, especially in an internal zone corticallsubstance. At a tissue level strengthening destructive processes, attributes perivascular hypostasis, migration of cellular elements in lymphaticspaces and capillaries were marked. By the end of an «anabolic» phase (14 days after EH) of the posthyperthermal period practically full restoration of thymus was observed.

Keywords: Vistar rats, thymus, hyperthermia.