

Г.А.Мороз

Крымский государственный медицинский университет им. С.И.Георгиевского» (Симферополь)

Ключевые слова: морфология тимуса, крыса, гипергравитация, инволюция тимуса, адаптация.

Надійшла: 02.09.2010

Прийнята: 20.09.2010

УДК 576.3/7:591.147.3:599.323.41:533.6.013.8

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТИМУСА ДВЕНАДЦАТИМЕСЯЧНЫХ КРЫС ПРИ МНОГОКРАТНО ПОВТОРЯЮЩЕМСЯ ГИПЕРГРАВИТАЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Резюме. Изучены морфофункциональные особенности тимуса двенадцатимесячных крыс-самцов линии Вистар, которых ежедневно на протяжении 30 и 45 дней подвергали десятиминутному действию гравитационных перегрузок (9g). После тридцатидневного воздействия гипергравитации тимус крыс характеризуется выраженными гемодинамическими нарушениями и инволютивными процессами. Развивающаяся гипоксия и стресс-реакция потенцируют дистрофические процессы, которые затрагивают как лимфоцитарный, так и эпителиальный компоненты тимуса, что характерно для хронического стресса. При 45-ти дневном воздействии на фоне стойких нарушений гемодинамики в лимфоидной ткани органа и его соединительнотканной строме преобладают дистрофически-деструктивные изменения. Усиливается дельмфатизация паренхимы, возрастает цитолитическая реакция, угнетается миграционная активность клеток, что характеризует срыв адаптационных механизмов в тимусе. Установлено, что выявленные нарушения зависят от кратности воздействия и являются проявлением общей адаптационно-приспособительной реакции организма на гипергравитацию.

Морфология. – 2010. – Т. IV, № 3. – С. 23-27.

© Г.А.Мороз, 2010

Moroz G.A. Morfofunctional features of thymus of twelve-month-old rats exposed to repeated hypergravity.

Summary. Twelve-month-old male Wistar rats were exposed to hypergravity (9g, 10 minutes, daily, 30 and 45 times). Morphology of thymus was investigated. Hypergravity caused evident haemodynamic disturbances and involution in thymus after 30 exposures. Developing hypoxia and stress-response potentiated dystrophy of both lymphocytic and epithelial components of thymus. After 45 exposures dystrophic-destructive alterations prevailed in lymphoid tissue and stroma of organ against the background stable haemodynamic disturbances. Delymphatization of parenchyma increased, cutolitic reaction rised, cell migration activity was inhibited. This characterises failure of adaptation. Revealed disturbances depend on exposure multiplicity and are features of adaptive response of organism on hypergravity.

Key words: thymus morphology, rat, hypergravity, thymus involution, adaptation.

Введение

В настоящее время большой интерес представляет изучение особенностей реакции регуляторных систем организма на воздействие экстремальных факторов высотного и космического полета, одним из которых являются гравитационные перегрузки (Хоменко М.Н. и соавт., 2005; Пашенко П.С., Захарова И.В., 2006). Известно, что одну из ведущих ролей в обеспечении приспособительных реакций организма на внешнее воздействие выполняет иммунная система и, в частности, ее центральный орган – тимус. От морфофункционального состояния вилочковой железы зависит поддержание гомеостаза в организме и обеспечение стабильности его антигенных структур (Сапин М.Р., Никитюк Д.Б., 2000; Ковешников В.Г., Бибик Е.Ю., 2007). Изменения структуры иммунных органов зависят от величины перегрузки, направленности и продолжительности ее действия. Установлено, что при

длительном действии гипергравитации изменения в организме более значительны и выражаются более сильным угнетением лимфоидной ткани, чем при однократном воздействии (Григоренко Д.Е. и соавт., 2005; Ерофеева Л.М. и соавт., 2005). Однако на сегодняшний день в научной литературе практически отсутствуют данные об особенностях реактивности тимуса на многократно повторяющееся гипергравитационное воздействие значительных величин. Остаются не изученными адаптационные резервы вилочковой железы в зависимости от возраста.

Цель исследования - изучить морфофункциональные особенности тимуса двенадцатимесячных крыс при многократно повторяющемся воздействии гравитационных перегрузок величиной 9 g.

Материалы и методы

Изучали структуру тимуса двенадцатимесячных крыс-самцов линии Вистар, масса кото-

рых на начало опытов составляла 260-280 г. Животные в зависимости от длительности эксперимента были разделены на две серии (по 12 крыс в каждой: 6 – контроль, 6 – эксперимент). Экспериментальных животных соответственно сериям ежедневно на протяжении 30 и 45 дней подвергали воздействию поперечно-направленных гравитационных перегрузок (9 g) в виде следующих друг за другом трех “площадок” продолжительностью по 3 мин каждая. Гипергравитация моделировалась путем вращения животных в периферических контейнерах центрифуги Ц-2/500 (рабочий диапазон от 1 до 50 g, радиус плеча 50 см, градиент нарастания – 1,4-1,6 g/c, градиент спада – 0,6-0,8 g/c). Контрольные крысы не подвергались гравитационным перегрузкам, а во время опыта находились в однотипных контейнерах, размещенных на наружной плоскости центрифуги.

Крыс выводили из эксперимента на следующий день после последнего сеанса гипергравитации методом декапитации под эфирным наркозом и производили забор тимуса. Для нивелирования влияния циркадных ритмов забой животных производили в одно и то же время суток. Эксперимент был выполнен с соблюдением действующих биоэтических норм при работе с подопытными животными. Забор, фиксацию материала и изготовление гистологических препаратов выполняли согласно общепринятым методикам работы с лимфоидными органами. Для изучения структурных компонентов тимуса срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по ван Гизон. Для идентификации клеток использовали окраску азур II-эозином и ШИК-реакцию с докраской ядер гематоксилином Карацци. Детали гистологического строения изучали с помощью цитоморфологического комплекса на базе микроскопа Olympus CX31. Определяли процентное соотношение относительных площадей коркового и мозгового вещества. Для трансмиссионной электронной микроскопии материал фиксировали в глютаровом альдегиде на фосфатном буфере с дофиксацией в 1% растворе четырехоксида осмия. Заливали в эпон-812. Полутоновые и ультратонкие срезы готовили на ультратоме УМПТ-7. Полутоновые срезы, окрашенные толуидиновым синим, изучали светооптическим методом, производили подсчет клеточных популяций на площади 1000 мкм². Ультратонкие срезы, после контрастирования по Рейнольдсу просматривали и фотографировали на электронном микроскопе ПЭМ-125К Сумского ПО «Электрон». Количественные показатели обрабатывали с использованием методов вариационной статистики. Достоверными считали данные с погрешностью меньше 5 % (p<0,05).

Результаты и их обсуждение

Гистологическое исследование тимуса крыс контрольных групп выявило признаки возрастной инволюции органа, характерные для жи-

вотных данного возраста (Мороз Г.А., 2009). Дольки имеют небольшие размеры. Лимфоидная ткань на некоторых препаратах выглядит в виде островков, располагающихся в массиве соединительнотканых структур и жировой ткани. При этом в остатках лимфоидной паренхимы отмечается равномерное распределение кортикальных тимоцитов в ячейках эпителиальной сети. В подкапсулярной зоне сохраненных долек выявляются немногочисленные крупные клетки лимфобластного ряда, обнаруживаются единичные плазматические клетки. Лимфоцитарную популяцию глубокой коры составляют малые и средние лимфоциты. Отмечается сглаженность корково-мозговой границы. В мозговом веществе определяются средних размеров тельца Гассалья, образованные 5-6 эпителиальными клетками. Во всех зонах тимуса на фоне умеренной макрофагальной активности выявляются клетки с дистрофическими изменениями. На субклеточном уровне в некоторых лимфоцитах и эпителиальных клетках отмечается вакуолизация цитоплазмы, увеличение размеров митохондрий, редукция и дезориентация крист, некоторое расширение и укорочение канальцев эндоплазматической сети.

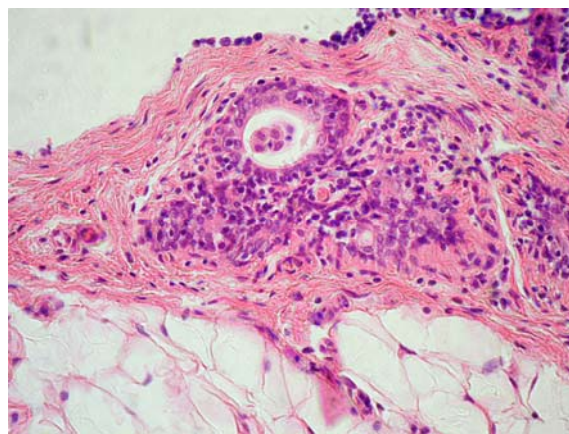


Рис. 1. Выраженная акцидентальная инволюция тимуса 12-ти месячной крысы после 30-ти кратного воздействия гипергравитации. Разрастание рыхлой соединительной ткани, в ячейках эпителиальной сети располагаются немногочисленные средние лимфоциты. Полостной эпителиальный каналец, в просвете которого содержатся слущенные эпителиальные клетки. Окраска гематоксилином и эозином. ×400.

На гистопрепаратах тимуса крыс, подвергавшихся систематическим гравитационным перегрузкам на протяжении 30 дней, выявлены выраженные гемодинамические нарушения: полнокровие сосудов, стаз эритроцитов, в ряде наблюдений сладж-феномен, периваскулярный отек, очаговые петехиальные кровоизлияния в окружающую ткань. В капсуле и междольковых перегородках стенки кровеносных сосудов, особенно артерий, утолщены за счет пролиферации эндотелиоцитов и перицитов, что обуславливает су-

жение их просвета. В некоторых артериях выявляется фестончатость эндотелиальной выстилки, что говорит об их спазмированном состоянии. Около сосудов обнаруживается большое количество тучных клеток в состоянии дегрануляции. Расширенные околососудистые пространства заполнены лимфоцитами.

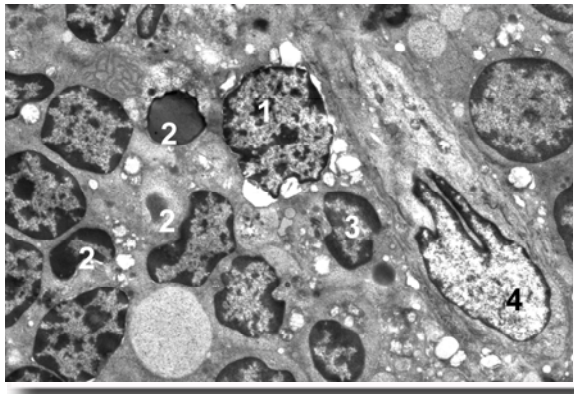


Рис. 2. Электронограмма кортико-медуллярной зоны тимуса двенадцати месячной крысы после 45-ти кратного воздействия гипергравитации. Сочетание апоптотических и некротических изменений лимфоцитов. 1 - ядро лимфоцита с ободком полностью вакуолизированной цитоплазмы; 2 - апоптотическое тело; 3 - ядро макрофага; 4 - ядро эндотелиоцита кровеносного капилляра. $\times 3000$.

В паренхиме тимуса на фоне закономерных возрастных инволютивных изменений выявлены признаки акцидентальной инволюции органа. Дольки тимуса разной формы и размера, чаще маленькие. Встречаются дольки с тотальным жировым замещением лимфоидной ткани. Капсула и междольковые перегородки утолщены, с отеком и разволокнением коллагеновых структур. Отмечается значительное разрастание соединительной ткани (рис. 1). В околососудистых областях увеличено содержание эпителиального компонента. Деление на зоны в дольках не выражено. Площадь коры уменьшена. Соотношение относительных площадей коркового и мозгового вещества составляет 45,7%:38,9% ($p \leq 0,05$) (контроль - 55,7%:28,2%). Клеточность лимфоидной ткани снижена. В субкапсулярной зоне и коре увеличено содержание активно фагоцитирующих макрофагов, в цитоплазме которых выявляются различные по величине округлой формы вторичные лизосомы с содержимым различной электронной плотности. В лимфоцитарной популяции коры преобладают малые и средние лимфоциты. Встречаются плазматические клетки с расширенными канальцами гранулярной эндоплазматической сети. Некоторые плазматические клетки с апоптотическими изменениями в виде гиперконденсации хроматина и «сморщивания» ядра. Лимфоцитолизическая реакция усилена, отмечается картина «мозаичности» коры. За счет делимфатизации коркового вещества хорошо визуализи-

руется эпителиальная сеть. Выявляются лимфоциты и эпителиоретикулоциты, находящихся не только на разных стадиях апоптотической трансформации, но и с признаками некроза в виде отечной просветленной гиалоплазмы, распада органелл, разрушения нуклеолеммы с выходом хроматина в цитоплазму. Митотическая активность кортикоцитов при этом снижена. Кортико-мозговая граница на большинстве препаратов размыта. Сосуды кортико-медуллярной зоны расширены и полнокровны, околососудистые пространства заполнены лимфоцитами. Выявляются как активно секретирующие, содержащие ШИК-положительный секрет, так и находящиеся в стадии резорбции эпителиальные канальцы. В некоторых наблюдается десквамация клеток в их просвет (рис. 1). Отмечен сброс секрета эпителиальных канальцев в рядом расположенные кровеносные сосуды, что вероятно продиктовано нарушением миграции в тимус предшественников лимфоцитов из красного костного мозга. В мозговом веществе повышено удельное содержание средних лимфоцитов. Хорошо визуализируется эпителиальный компонент в виде ШИК-положительных эпителиальных клеток, эпителиальных тяжей и телец Гассала. Тимусные тельца средних размеров, с признаками кератинизации, встречаются единичные крупные сливные, некоторые из них имеют кисты, заполненные клеточным детритом.

После 45-ти дневного систематического воздействия гравитационных перегрузок в тимусе экспериментальных крыс на фоне возрастных изменений выявлены выраженные признаки акцидентальной инволюции, сочетающиеся со стойкими гемодинамическими нарушениями. Большинство долек тимуса замещены жировой тканью, сохранившиеся дольки маленькие, различной формы, содержат лимфоидную ткань с хорошо выявляемым эпителиальным компонентом. Между отростками эпителиальных клеток располагаются лимфоциты разного диаметра и большое количество тучных клеток. Наблюдается выраженная инверсия слоев. Соотношение относительных площадей коркового и мозгового вещества в сравнении с контролем (48,2%:31,8%) изменено в сторону мозгового и составляет 35,7%:41,1% ($p \leq 0,05$). Соединительнотканная капсула и междольковые перегородки значительно утолщены, разволокнены и инфильтрированы лимфоцитами и жировой тканью, которая прорастает в субкапсулярную зону коры. Сосуды капсулы и перегородок расширены и полнокровны, в их стенках и около них много тучных клеток с хорошо визуализируемыми секреторными гранулами в цитоплазме. Проницаемость сосудистых стенок повышена. На некоторых препаратах стенки сосудов с гомогенным плазматическим пропитыванием. На электронограммах в цитоплазме эндотелиоцитов появляются лизосо-

мы, набухшие митохондрии с редукцией, дисконкомплексацией и дезориентацией крист, ядра приобретают причудливую лопастную форму. Суммарная плотность клеток во всех зонах тимуса существенно снижена, количество клеток с деструктивными изменениями увеличено. В лимфоцитах выявляется вакуолизация митохондрий и расширение перинуклеарного пространства. Отмечается сочетание апоптотических и некротических изменений (рис. 2), как лимфоцитов, так и эпителиальных клеток. При этом макрофагальная активность в корковом веществе снижена, а митозов практически нет. Кортикомедуллярная зона сужена, ее относительная площадь уменьшается на 32,7% ($p \leq 0,05$) в сравнении с контролем. Встречаются «закрытые» капилляры. Такая картина говорит о резком снижении миграционных процессов в органе. На границе с мозговым веществом обнаруживаются скопления макрофагов с большим количеством фагоцитированных апоптотических тел на различных этапах их лизиса. Выявляются активно секреторные и в стадии резорбции эпителиальные каналы. Мозговое вещество местами достигает субкапсулярной зоны коры. Эпителиальный каркас мозговой паренхимы представлен большим количеством отдельных ШИК-положительных клеток и эпителиальных тяжей. Секреторные эпителиоретикулоциты имеют резко расширенные профили канальцев эндоплазматической сети. Встречаются отдельные группы активных макрофагов, плазматические клетки. Тельца Гас-салия мелких, средних и крупных размеров, некоторые с кистами, заполненными клеточным детритом.

Заключение

Выявленные гемодинамические нарушения и признаки акцидентальной инволюции тимуса крыс, подвергавшихся значительным по величине систематическим гравитационным перегрузкам, зависят от кратности воздействия и являются проявлением общей адаптационно-приспособительной реакции организма на гипергравитацию. При этом отмечено сочетание признаков возрастной (разрастание соединительнотканых структур, замещение паренхимы органа жировой тканью, дегенерация эпителиального

компонента, появление плазматических клеток) и акцидентальной инволюции тимуса. Тимус крыс после 30-ти дневного воздействия гипергравитации характеризуется выраженными гемодинамическими нарушениями, носящими компенсаторно-приспособительный характер. Стрессорное действие многократных перегрузок вызывает быструю инволюцию органа, проявляющуюся в инверсии слоев и делимфотизации паренхимы. Нарушение микроциркуляции на фоне гиперплазии эндотелиальных клеток и разрастания в сосудистых стенках соединительной ткани вызывает гипоксию паренхимы, что, в свою очередь, потенцирует дистрофические процессы, затрагивающие, как лимфоцитарный, так и эпителиальный компоненты тимуса. Происходит сбой в миграции клеток в орган и из органа. Такие преобразования характерны для хронического стресса. При увеличении кратности воздействия гравитационных перегрузок до 45 дней в паренхиме тимуса и его соединительнотканной строме преобладают дистрофическо-деструктивные изменения, характеризующие кумулятивный эффект действия повреждающего стресс-фактора. Нарастающая гипоксия усугубляет инволютивные процессы в органе, проявляющиеся нарушением созревания и дифференцировки лимфоцитов, делимфатизацией не только коркового, но и мозгового вещества. В лимфоидной ткани возрастает цитолитическая реакция в виде некроза представителей всех клеточных популяций тимуса, а также изменения по типу апонекроза, вероятно за счет истощения энергетических запасов клеток. Резко снижается активность миграции иммунокомпетентных клеток. Такая морфофункциональная картина характеризует срыв адаптационных механизмов в тимусе и, при дальнейшем увеличении кратности воздействия перегрузок, неизбежно должна привести к нарушению иммунологического статуса организма и развитию вторичного иммунодефицита.

Перспективы дальнейших разработок

В дальнейшем планируются лектино- и иммуногистохимические исследования тимуса крыс разных возрастов, подвергавшихся воздействию гравитационных перегрузок.

Литературные источники

Григоренко Д. Е. Повторное воздействие гипергравитации на лимфоидную ткань селезенки крыс / Д. Е. Григоренко, И. Б. Краснов, М. Р. Сапин // Морфологические ведомости. – 2005. – № 1–2. – С. 12–14.

Ерофеева Л. М. Особенности цитоархитектоники тимуса крыс при повторном воздействии гипергравитации / Л. М. Ерофеева, И. Б. Краснов, М. Р. Сапин // Бюллетень эксперименталь-

ной биологии и медицины. – 2005. – Т. 140, № 8. – С. 218–221.

Ковешников В. Г. Функциональная морфология органов иммунной системы / В. Г. Ковешников, Е. Ю. Бибик. – Луганск : Виртуальная реальность, 2007. – 172 с.

Мороз Г. А. Строение тимуса интактных крыс-самцов линии Вистар разного возраста / Г. А. Мороз // Світ медицини та біології. – 2009. –

№ 3, ч. II. – С. 98–102.

Пашенко П. С. Изменения структуры поджелудочной железы после воздействия на организм гравитационных перегрузок / П. С. Пашенко, И. В. Захарова // Морфология. – 2006. – Т. 129, № 1. – С. 62–67.

Сапин М. Р. Иммунная система, стресс и имму-

нодефицит / М. Р. Сапин, Д. Б. Никитюк. – М. : Джангар, 2000. – 184 с.

Хоменко М. Н. Оценка переносимости перегрузок +Gz после моделирования 8-часового полета / М. Н. Хоменко, И. В. Бухтияров, Л. С. Малащук // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2005. – Т. 39, № 5. – С. 31–36.

Мороз Г.О. Морфофункціональні особливості тимуса дванадцятимісячних щурів при багатократно повторюваній гіпергравітаційній дії.

Резюме. За допомогою мікроскопії вивчено морфофункціональні особливості тимуса дванадцяти місячних щурів-самців лінії Вістар, яких щодня впродовж 30 і 45 днів піддавали 10 хвилинній дії гравітаційних перевантажень (9g). Після 30-ти денної дії гіпергравітації тимус щурів характеризується вираженими гемодинамічними порушеннями та інволютивними процесами. Гіпоксія, що розвивається, і стрес-реакція посилюють дистрофічні процеси, які зачіпають, як лімфоцитарний, так і епітеліальний компоненти тимуса, що характерно для хронічного стресу. При 45-ти денній дії на тлі стійких порушень гемодинаміки в лімфоїдній тканині органу і його сполучнотканинній стромі переважають дистрофічно-деструктивні зміни. Посилюється делімфатизація паренхіми, зростає цитолітична реакція, пригноблюється міграційна активність клітин, що характеризує зрив адаптаційних механізмів в тимусі. Встановлено, що виявлені порушення залежать від кратності дії і є проявом загальної адаптаційно-присосовної реакції організму на гіпергравітацію.

Ключові слова: морфологія тимуса, щур, гіпергравітація, інволюція тимуса, адаптація.