

---

# МОРФОЛОГИЯ

---

**С. В. Мичурина, Д. В. Васендин, И. Ю. Ищенко, А. П. Жданов**

Новосибирский государственный медицинский университет

## **СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТИМУСЕ КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ**

УДК 611.438 : 615.367

Установлено, что воздействие на организм крыс Вистар экспериментальной гипертермии (ЭГ) 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:* гипертермия, тимус, крысы Вистар.

---

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

## **STRUCTURAL CHANGES IN RAT THYMUS IN EXPERIMENTAL HYPERTHERMIA**

It is established by us, that the impact of the experimental hyperthermia (EH) on the Vistar rat organism leads to formation of accidental involution of thymus of a temporary, reversible nature. Temporary involution of this organ corresponded to «catabolic» phase of the posthyperthermal period (5 hours, 3 days after EH) which was manifested by a decrease in relative weight of the organ, reduction of the relative area of brain substance and density of lymphocytes in all zones, especially in the inner cortical substance. At a tissue level an aggravation of destructive processes, signs of perivascular hypostasis, migration of cellular elements in lymphatic spaces and capillaries were marked. By the end of the «anabolic» phase (14 days after EH) of the posthyperthermal period a virtually complete restoration of thymus was observed.

*Key words:* hyperthermia, thymus, Vistar rats.

---

Тепловая энергия является тем фактором, который пронизывает 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, имеют фундаментальный характер.

В недавних исследованиях было изучено влияние экспериментальной гипертермии на эндокринную систему [1, 9, 10, 12]. Изучение вли-

яния высоких температур на органы иммунной/лимфатической системы (тимус, лимфатические узлы) представлено очень скудно, не носит систематического характера и скорее отражает влияние хронического воздействия высокой температуры как климатического фактора [2, 7]. 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.

Систематические литературные сведения, касающиеся состояния тимуса при воздействии на организм высокой внешней температуры, отсутствуют. Но любая функция решительно невозможна без структуры, и любое функциональное нарушение имеет в своей основе морфологические нарушения различных уровней: органного, тканевого, клеточного, субклеточного или молекулярного.

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение изменений клеточного состава тимуса крыс Вистар в различные сроки (5 ч; 3; 7 и 14 сут.) после проведения экспериментальной гипертермии (ЭГ).

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании в качестве экспериментальных животных были выбраны крысы-самцы Вистар с исходной массой тела 260—280 г в возрасте 2,5—3 мес. Разогревание животных производилось в полном соответствии со «Способом экспериментального моделирования общей гипертермии у мелких лабораторных животных» [12]. 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.

Измерение ректальной температуры проводилось на всех этапах эксперимента: до начала опыта, в течение всего периода разогревания и в постгипертермическом периоде в течение 20 минут. Непрерывное и точное (до десятых долей градуса) измерение ректальной температуры позволяло извлекать животных из термобани в критический момент — на высоте развития теплового удара, что обеспечило их 100%-ю выживаемость.

На разных сроках эксперимента (5 ч, 3, 7 и 14 сут.) после проведения ЭГ животных забивали 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 была выбрана вилочковая железа (тимус) крыс. Тимус очищали от окружающей жировой ткани и взвешивали на торсионных весах. С помощью ротационного микротомы изготавливали серийные или полусерийные срезы толщиной 10 мкм гематоксилином Майера и эозином и азур-II-эозином по Нохт-Максимову. Окрашенные препараты заключали в канадский бальзам и накрывали покровным стеклом.

Срезы морфометрировали при увеличении в 16 раз, выделяли 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 1000 раз (объектив 100 — масляная иммерсия, окуляр 10) подсчитывали абсолютное количество разных видов клеток на стандартной площади 4500 мкм<sup>2</sup>; 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.

Для всех морфологических данных вычисляли абсолютные и относительные показатели. Различия между сравниваемыми средними считали достоверными при  $p < 0,05$ .

Статистическую обработку проводили с использованием статистического пакета «Statistica 6».

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наши наблюдения показали, что влияние на организм крыс ЭГ 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 после ЭГ (7 и 14 сут.) [10].

Воздействие на организм крыс высокой внешней температуры приводит к выраженным изменениям не только зонального, но и клеточного состава тимуса во всех его структурно-функциональных зонах [3].

В первые часы острого периода снижалась плотность клеточных элементов, особенно — во внутреннем слое коркового вещества. Основной вклад в эти изменения вносит уменьшение численности лимфоидных клеток, и, в первую очередь, в коре снижается количество именно зрелых лимфоцитов. Интересно, что при этом не снижается интенсивность лимфоцитопозитивной функции тимуса, так как неизменным остается количество бластов и митотически делящихся клеток в субкапсулярной зоне. Уменьшение численности клеток лимфоидного ряда представляется возможным объяснить угнетением пролиферативных процессов. Помимо этого определенный вклад, по-видимому, вносит ускорение миграции лимфоцитов из тимуса через посткапиллярные венулы и лимфатические сосуды [6, 14], сочетающееся с повышенной гибелью клеток. На фоне этих событий, наоборот, отмечается увеличение числа средних лимфоцитов в субкапсулярной зоне и иммунобластов во внутренней зоне коркового вещества, что, по-видимому, свидетельствует об усилении лимфопоэтической

функции и ускорении созревания имеющихся тимоцитов в соответствующих зонах и рассматривается нами как компенсаторные процессы.

В субкапсулярной и внутренней зонах коры тимуса увеличилось 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 [6]. 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 имеющимися литературными данными о стереотипности ответной реакции этих клеток на внешние дестабилизирующие влияния [5].

Численность эпителиальных клеток, как и относительная площадь эпителиальных железистых образований, значительных изменений не претерпела. Встречались скопления тесно контактирующих эпителиальных клеток, охватывающих остатки разрушенных клеточных элементов, и трубчатые структуры, стенка которых образована однослойным эпителием. В мозговом веществе обнаружено увеличение содержания средних лимфоцитов и уменьшение числа зрелых лимфоцитов, определялись тельца Гассала, сформированные уплощенными эпителиальными клетками и содержащими гиалиновое содержимое.

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 большого числа лимфоидных клеточных элементов, заполняющих периваскулярные пространства.

К концу острого периода (3-и сутки 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 2 раза превышающем контроль; в мозговом веществе — снизилось. 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 «ЭГ+5 ч» и вернулось к исходному контрольному уровню.

Обращают на себя изменения, обнаруженные в эпителиальном компартменте. Морфометрически выявлено возрастание числа отдельных эпителиальных клеточных элементов. Установлено, что относительная площадь железистых образований

к моменту окончания острого периода по сравнению с группой «ЭГ+5 ч» возросла. При этом встречались железистые образования, стенка которых образована несколькими слоями эпителиальных клеток и которые находятся в тесном контакте с венулами. Железистые эпителиальные образования являются функциональными структурами, присутствующими тимусу и в физиологических условиях жизнедеятельности. Большинство исследователей объясняют разрастание эпителиального компонента в тимусе появлением острой необходимости в усилении секреции тимических гормонов при экстремальных воздействиях [8]. В мозговом веществе встречались также тельца Гассала, 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. Рядом с сосудами идентифицировались тучные клетки II и III степени дегрануляции.

В восстановительном периоде на 7-е сутки после ЭГ общая численная плотность клеточных элементов в субкапсулярной зоне коркового вещества тимуса продолжала поддерживаться на низком уровне; во внутренней зоне коры и в мозговом слое этот параметр несколько увеличился в сравнении с контролем. Причем во всех зонах тимуса к этому сроку отмечено пониженное содержание зрелых лимфоцитов. Однако к 14-м суткам постгипертермического периода эти параметры восстанавливаются.

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 долевого соотношения 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 (сравнение — контроль).

Обнаружено увеличение (почти в 2 раза) абсолютного и относительного количества клеток,

содержащих фигуры митозов, в субкапсулярной зоне коры и снижение почти 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 Гассалья встречались трубчатые образования с многослойным эпителием.

Снизилась отечность периваскулярных пространств. В них обнаружено значительное число лимфоидных клеточных элементов, а также выявлены плазматические клетки.

Тучные клетки с I преимущественной степенью дегрануляции выявлены в соединительнотканых прослойках и капсуле тимуса.

К 14-м суткам постгипертермического периода общая численность клеточных элементов, и 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 отличались от контроля. Также отмечено уменьшение абсолютного и относительного числа клеток, содержащих фигуры митозов.

Численность эпителиальных клеток к концу нашего эксперимента осталась на уровне контрольных значений. Однако уменьшилась относительная площадь железистых образований на столько, что оказалась ниже контрольного уровня, что свидетельствует об отсутствии острой необходимости усиления секреции тимических гормонов к 14-м суткам после проведения ЭГ. Наряду со скоплениями эпителиальных клеток, не окруженных капсулой, встречались трубчатые эпителиальные каналы, стенка которых состояла из многослойного эпителия и была окружена 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-и сутки после ЭГ) у крыс развивается временная, или акцидентальная инволюция тимуса. Это можно объяснить резким превалированием в тканях органа катаболических процессов, интенсификация которых обусловлена возросшими уровнями кортикостерона и инсулина [10]. Глюкокортикоидные гормоны являются стимуляторами СТГ, в результате чего «катаболическая» фаза синдрома адап-

тации инициирует его «анаболическую» фазу [11]. Воздействие высокими внешними температурами, с одной стороны, вызывает развитие стресс-реакции, а 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 [13]. 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, секреторирующие тимические гормоны. К концу анаболической фазы постгипертермического периода наблюдается практически полное восстановление органа.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Антонов А. Р., Ефремов А. В., Ровина А. К. и др. // Вестник новых медицинских технологий — 2004. — Т. XI, № 4 — С. 29—31.
2. Бибик Е. Ю. // Украинский медицинский журнал. — 2007. — № 4. — С. 13—16.
3. Васендин Д. В., Мичурина С. В., Ищенко, И. Ю. и др. // Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии: тез. докладов Межд. конф. — Новосибирск, 2008. — С. 62—64.
4. Ефремов А. В., Пахомова Ю. В., Пахомов Е. А. и др. // Изобретения. Полезные модели. — 2001. — № 10. — С. 43—45.
5. Зерчанинова Е. И. О роли тучных клеток в регуляции кроветворения при действии на организм экстремальных факторов: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Екатеринбург, 2000. — 20 с.
6. Кветной И. М., Ярилин А. А., Полякова В. О., Князькин И. В. Нейроиммуноэндокринология тимуса. — СПб.: Издательство ДЕАН, 2005. — 160 с.
7. Ковешников В. Г., Бибик Е. Ю. // Морфология. — 2008. — Т. 133, № 2. — С. 63.
8. 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. — 36 с.
9. Пахомова Ю. В. Особенности гемолимфатических соотношений показателей белкового обмена при общей гипертермии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Новосибирск, 2000. — 19 с.
10. Пахомова Ю. В. Системные механизмы метаболизма при общей управляемой гипертермии: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Новосибирск, 2006. — 33 с.
11. Селятицкая В. Г., Обухова Л. А. Эндокринно-лимфоидные отношения в динамике адаптивных процессов. — Новосибирск: Издательство СО РАМН, 2001. — 168 с.
12. Симакова И. В. Особенности эндокринно-метаболического статуса у крыс в динамике общей искусственной гипертермии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Новосибирск, 2005. — 20 с.
13. Ярилин А. А. // Иммунология. — 2004. — № 5. С. 312—320.
14. Kotani M. // Lymphology. — 1998. — Vol. 31. — P. 21—26.