

ПОЛІМОРФІЗМ ТІЛЕЦЬ ТИМУСА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ОПІКОВІЙ ХВОРОБИ ТА ІНФУЗІЇ КОМБІНОВАНИХ ГІПЕРОСМОЛЯРНИХ РОЗЧИНІВ

Е.В.Черкасов

Кафедра патоморфології (зав. – проф. В.М.Благодаров) Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця, м. Київ

Резюме. Показано, що при експериментальній опіковій хворобі генез тілець тимуса у щурів прискорюється. Епітеліоретикулоцити є "стартовою точкою" утворення і трансформації тілець тимуса. Швидкий генез тілець тимуса та специфіка "переплетення" епітеліоретикулоцитів у тільцях тимуса призводять до характерного поліморфізму цих тілець при опіковій хворобі.

Ключові слова: опікова хвороба, тимус, світлова та електронна мікроскопія.

Останнім часом показано [1], що в основі патогенезу опікової хвороби (ОХ) лежить генералізована катаболічна реакція в осередку травми та всіх внутрішніх органах, морфологічним проявом якої є загибель клітин тимуса [2-4]. Проте й досі вивчення зв'язку різних типів загибелі клітин тимуса при ОХ з морфологічними трансформаціями тілець тимуса (ТТ, тілець Гассалья) не було предметом спеціальних досліджень.

Мета дослідження: вивчити морфологічні зміни ТТ та їх зв'язок з динамікою різних типів загибелі клітин тимуса при експериментальній ОХ та її інфузійному лікуванні комбінованими гіперосмолярними розчинами.

Матеріал і методи. Експериментальне дослідження морфологічних змін у тимусі при ОХ (через 1, 3, 7, 14, 21 та 30 діб) та за умов застосування інфузійних колоїдно-гіперосмолярних препаратів дезінтоксикаційної, реологічної, енергетичної, протишокової дії НАЕС-LX-5% та лактопротейну з сорбітолом виконано на 90 щурах-самцях лінії Вістар масою 155-160 г. Розчин НАЕС-LX-5% містить гідроксид етилкрахмаль з ММ 130000 Дальтон, ксилітол, натрію лактат, солі (натрію хлорид, калію хлорид, кальцію хлорид та магнію хлорид). Теоретична осмолярність препарату – 890 мОсм/л. Лактопротейн з сорбітолом (ЛПС) – це інфузійний препарат, який містить альбумін (5%), сорбітол (6%), натрію лактат (2,1%), а також електроліти в збалансованих кількостях. Теоретична осмолярність препарату – 1020 мОсм/л. Тримання та маніпуляції з тва-

ринами проводили відповідно до "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (Київ, 2001), рекомендацій "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985) та "Правил до клінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP)".

Тварини були поділені на 7 груп: I – інтактні; II-IV – без термічної травми, яким проводилася окрема інфузія 0,9% розчину NaCl, НАЕС-LX-5% та ЛПС відповідно в дозі 10 мл/кг; V-VII – з опіком, яким за аналогічною схемою та у такому ж дозовому режимі проводили окреме введення досліджуваних речовин. Опік (після премедикації) викликали шляхом прикладання до бічних поверхонь тулуба тварин чотирьох мідних пластинок (по дві пластинки з кожного боку), які попередньо тримали протягом 6 хв у воді з постійною температурою 100° С. Загальна площа опіку у щурів зазначеної маси становила 21-23% при експозиції 10 с, що є достатнім для формування опіку IIIA ступеня та розвитку шокового стану середнього ступеня тяжкості.

Досліджувані розчини вводили внутрішньовенно впродовж 5-6 хв у дозі 10 мл/кг. Інфузію проводили в нижню порожнисту вену, для чого виконували її катетеризацію в асептичних умовах через стегнову вену. Катетер, встановлений у стегновій вені, підшивали під шкіру. Його просвіт по всій довжині заповнювали титрованим розчином гепарину (0,1 мл гепарину на 10 мл 0,9% розчину NaCl) після кожного введення

речовини. Перше введення розчинів здійснювали через годину після моделювання патологічного стану, наступні інфузії виконували раз на добу.

Забір матеріалу проводився під наркозом. У тварин після декапітації розтинали грудну порожнину і вирізали за допомогою леза маленькі шматочки тимуса. Матеріал для морфологічних досліджень обробляли за загальноприйнятою методикою. Ультратонкі зрізи готували на ультрамікромомі "ЛКВ", вивчали та фотографували на електронному мікроскопі ПЕМ-125К. Напівтонкі зрізи фарбували толуїдиновим синім, вивчали та фотографували за допомогою світлового мікроскопа Олутрис Vx15. Експеримент проведено на базі Вінницького НМУ ім. М.І.Пирогова, електронномікроскопічне дослідження – на базі НМУ ім. О.О.Богомольця.

Результати дослідження та їх аналіз.

Одержані нами дані свідчать, що ТТ в нормі відрізняються за своєю будовою, яка залежить від їх розмірів. Слід зазначити, що в "центрі" дрібних ТТ розташовані "світлі" кератинізовані епітеліоретикулоцити, в електроннопрозорому матриці яких виразно виявляються гранули кератогіаліну і різноманітні за конфігурацією та ступенем структурованості складові цитоскелета – пучки тонофіламентів, кератинові фібрили. За будовою такі кератинізовані епітеліоретикулоцити нагадують зернисті кератиноцити епідермісу [5]. Гранули кератогіаліну в цитоплазмі епітеліоретикулоцитів ТТ не оточені мембраною і групуються у маси різної конфігурації. Кератогіалінові маси асоційовані з пучками тонофіламентів і разом з локалізованими поруч рибосомами утворюють тонофібрилярно-кератогіалінові комплекси. За рахунок того, що кератогіалін просочує тонофіламенти, тонофібрилярно-кератогіалінові комплекси є безпосереднім морфологічним попередником кератинових фібрил.

Зазвичай "центр" дрібних ТТ утворюють 2-3 зазначених епітеліоретикулоцити, що з'єднані потужними комплексами міжклітинних контактів у вигляді різних комбінацій симетричних та асиметричних десмосом (рис. 1). Ці спеціалізовані міжклітинні контакти переважно являють собою симетричні і паралельні ділянки ущільнення суміжних плазмолем (десмосомальні пластинки). Пластинки розділені проміжком, в якому добре помітні центральна і дві бічні ламели дрібнозернистої будови, відокремлені одна від другої та від плазмолемі світлими проміжками.

До десмосомальної пластинки з боку цитоплазми примикають тонофіламенти, які з'єднуються з нею поперечними філаментозними нитками. Асиметричні десмосоми у складі описаних комплексів міжклітинних компонентів мають вигляд половини звичайної десмосоми.

Решта кератинізованих епітеліоретикулоцитів ТТ розміщені концентрично навколо описаного "центру". Серед них можна розрізнити "світлі" і "темні" (з цитоплазматичним матриксом високої електронної щільності) епітеліоретикулоцити. Варто підкреслити, що морфологічні прояви ступеня розвитку елементів цитоскелета кератинізованих епітеліоретикулоцитів не залежать від ступеня щільності їх цитоплазматичного матриксу. "Світлі" і "темні" кератинізовані епітеліоретикулоцити розміщуються довільно по периферії ТТ. Між ними визначаються поодинокі десмосоми, але випадковий характер їх локалізації свідчить, що концентричність розподілу кератинізованих епітеліоретикулоцитів у ТТ не є наслідком складного топологічного розподілу десмосом, а скоріш за все, результатом простого "нашарування". В останньому випадку зрозуміло, що надлишкові десмосоми мали б гальмувати "скручування" епітеліоретикулоцитів (до речі, так само як і "розкручування").

Важливо підкреслити, що обов'язковим компонентом ТТ всіх розмірів є розташовані між епітеліоретикулоцитами макрофаги, в цитоплазмі яких виявляються лізосоми з електроннощільним вмістом та різні за розміром і за вмістом фаголізосоми. У центрі великих ТТ в

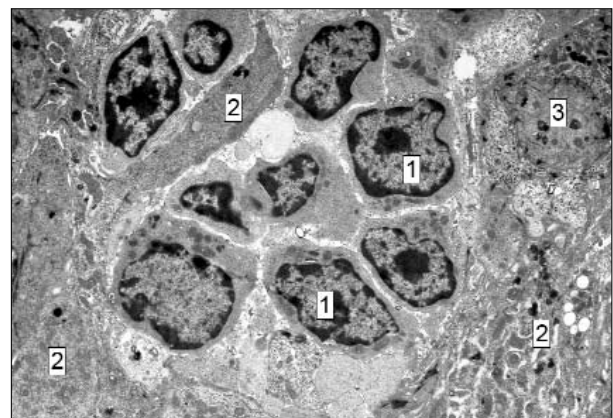


Рис. 1. "Ядро" в центрі тільця тимуса щура в нормі. Зб. 10000 \times : 1 – тимоцити зі збереженою структурою в "ядрі" тільця тимуса; 2 – цитоплазма кератинізованих епітеліоретикулоцитів; 3 – гіаліновий комплекс у цитоплазмі кератинізованого епітеліоретикулоцита.

нормі можна розрізнити "ядро", що нагадує округлу порожнину, заповнену тимоцитами зі збереженою нормальною структурою ядра, цитоплазми та органел. У цитоплазмі кератинізованих епітеліоретикулоцитів таких ТТ визначаються (крім кератогіалінових гранул і кератинових фібрил) поодинокі округлі гіалінові комплекси.

При ОХ "ядро" ТТ утворене пучками змінених тонофіламентів, кератиновими фібрилами, деградованими тонофібрилярно-кератогіаліновими комплексами та клітинами (тимоцитами, макрофагами, епітеліоретикулоцитами, плазмощитами) на різних стадіях апоптозної деградації та лізису. Складається враження, що при розвитку ОХ всі сценарії клітинної смерті в "ядрі" ТТ (апоптоз, зроговіння) закінчуються некрозом. (рис. 2). В такому разі ТТ сприяють сегрегації (об'єднанню клітин, що підлягають клітинній смерті), секвестрації (відділенню загиблих, зокрема й некротичних клітин від решти клітин) і, врешті-решт, ефективно запобігають негативному впливу клітин (автореактивних?), що поступово гинуть, на клітини мікрооточення. Не виключено, що потрапляння продуктів розпаду "ядра" ТТ за межі тілець контролюється пошарово розміщеними кератинізованими епітеліоретикулоцитами. Відповідно ТТ має діяти як своєрідний паракриновий утвір, що може бути структурним підтвердженням його регуляторної функції стосовно забезпечення негативної селекції тимоцитів [6].

Одержані нами дані свідчать, що незважаючи на характерний поліморфізм, ТТ мають до-

волі сталу структурну організацію, яка забезпечує їх участь у компенсаторно-приспосувальних реакціях тимуса. У той же час стосовно загальної архітектоніки ТТ складається враження, що зафіксоване на препараті розташування клітин та позаклітинного компоненту (виключаючи клітинний детрит та кератинові фібрили) ніби віддзеркалює миттєвість ротаційного руху відповідного тільця. У контексті зазначеного варто згадати дані літератури [7] про те, що в культурі тканини (за умов активного формування ТТ при утворенні надлишку клітин в обмеженому просторі) тимічні тільця здійснюють ротаційні рухи і пульсують.

Отже, ТТ за своїми структурними особливостями здатні виконувати функцію динамічного "депо" загиблих клітин тимуса, контролювати кількісний вміст "ядра", а також, мабуть, регулювати кількісні та якісні параметри короткодистантних впливів біохімічних продуктів, що утворюються в результаті розпаду компонентів "ядра". Є всі підстави вважати, що зникнення вмісту "ядра" великих за розміром ТТ при ОХ призводить до їх колапсу, супроводжується апоптозом епітеліоретикулоцитів тілець і зв'язаних з ними епітеліоретикулоцитів мозкової клітинної сітки (рис. 3). Застосування при ОХ інфузійних препаратів ЛПС та НАЕС-LX-5 % сприяє структурній збереженості ТТ (рис. 4), що може бути оцінено як прояв ефективної компенсаторно-приспосувальної реакції щодо здійснення архітектонічно упорядкованого контролю загибелі клітин у тимусі.



Рис. 2. Лізис тимоцитів в "ядрі" тільця тимуса щура через 7 днів розвитку опікової хвороби за умов введення 0,9% розчину NaCl. Стрілками позначені змінені тонофібрилярно-кератогіалінові комплекси в клітинному детриті. Зб. 20000 \times : 1 – ядра некротичного тимоцита.

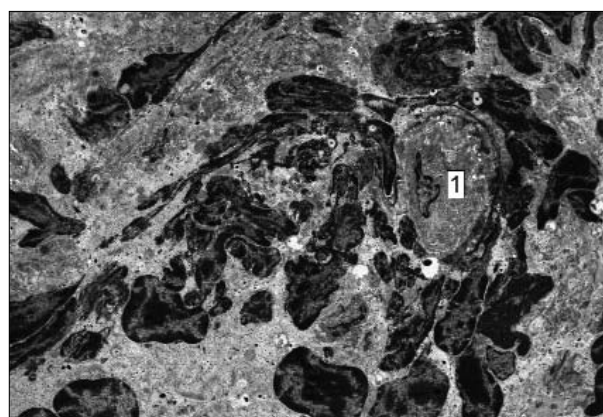


Рис. 3. Зникнення вмісту та колапс "ядра" тільця тимуса, апоптоз епітеліоретикулоцитів тільця і зв'язаних з ним епітеліоретикулоцитів мозкової клітинної сітки в тимусі щура через 30 днів розвитку опікової хвороби за умов введення 0,9% розчину NaCl. Зб. 5000 \times : 1 – кровоносний капіляр.

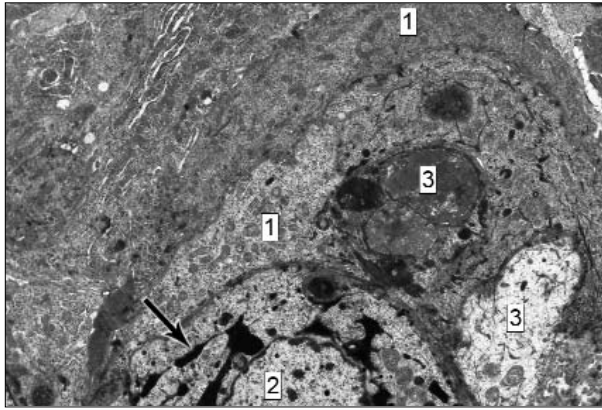


Рис. 4. Збережена структура епітеліоретикулоцитів тільця тимуса щура через 30 днів розвитку опікової хвороби за умов введення НАЕС-LX-5%. Стрілкою позначені потужні тонофібрилярно-кератогіалінові комплекси в цитоплазмі епітеліоретикулоцита. Зб. 15000 \times : 1 – цитоплазма епітеліоретикулоцита; 2 – ядро епітеліоретикулоцита; 3 – гіаліновий комплекс у цитоплазмі епітеліоретикулоцита.

Висновки та перспективи наукового пошуку. 1. В тимусі щурів у нормі є численні висококератинізовані тільця тимуса (ТТ), що, ймо-

вірно, є віддзеркаленням їхнього розвитку та функціонального стану. 2. ТТ при опіковій хворобі (ОХ) мають "ядро", що складається з кератинізованих фібрил та клітин (тимоцитів, макрофагів, епітеліоретикулоцитів, плазмоцитів) на різних стадіях апоптозної деградації та лізису. 3. За умов розвитку ОХ в ТТ відбуваються виражені реактивні зміни, які є свідченням їхньої участі в компенсаторно-приспосувальних процесах у тимусі. 4. ТТ сприяють сегрегації клітин тимуса, що мають загинути, забезпечують їх секвестрацію і, врешті-решт, запобігають негативному впливу продуктів розпаду "ядра" на клітини мікрооточення. 5. Застосування при ОХ інфузійних препаратів ЛПС та НАЕС-LX-5 % сприяє структурній збереженості ТТ, що може бути оцінено як прояв ефективної компенсаторно-приспосувальної реакції щодо здійснення архітектонічно впорядкованого контролю загибелі клітин у тимусі. 6. Перспектива подальших досліджень полягає в якісному та кількісному вивченні клітинного циклу, плідності та фрагментації ДНК в клітинах тимуса на етапах розвитку ОХ та її лікування.

Література

1. Григорьева Т.Г. Ожоговая болезнь / Т.Г. Григорьева // *Международ. мед. ж.* – 2000. – Т. 6, № 2. – С. 53-60.
2. Благодаров В.М. Автофагия у динаміці клітинної смерті в тимусі при опіковій хворобі та її лікуванні в експерименті // В.М.Благодаров, Е.В.Черкасов, О.В.Благодарова // *Клінічна анатомія та оперативна хірургія.* – 2011. – Т. 10, № 2. – С. 47-50.
3. Благодаров В.М. Типи клітинної смерті в тимусі щурів при опіковій хворобі та її терапевтичному лікуванні / В.М.Благодаров, Е.В. Черкасов, О.В. Благодарова // *Biomedical and Biosocial Anthropology.* – 2011. – № 16. – С. 64-68.
4. Черкасов Е.В. Апоптоз в тимусі щурів при опіковій хворобі та її терапевтичному лікуванні // Е.В. Черкасов // *Наук. вісн. Ужгород. ун-ту, серія "Медицина".* – 2011. – Вип. 40. – С. 170-174.
5. Cell death in the skin / S. Lippens, E. Hoste, P. Vandennebeele [et al.] // *Apoptosis.* – 2009. – Vol. 14, № 4. – P. 549-569.
6. Hassall's corpuscles instruct dendritic cell to induce CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in human thymus / N. Watanabe, Y.-H. Wang, H. K. Lee [et al.] // *Nature.* – 2005. – Vol. 436, № 5. – P. 1181-1185.
7. *Нейроиммуноэндокринология тимуса* / И.М. Кветной, А.А. Ярыгин, В.О. Полякова, И.В. Князькин. – СПб: Издательство ДЕАН, 2005. – 160 с.

ПОЛИМОРФИЗМ ТЕЛЕЦ ТИМУСА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЖОГОВОЙ БОЛЕЗНИ И ИНФУЗИИ КОМБИНИРОВАННЫХ ГИПЕРОСМОЛЯРНЫХ РАСТВОРОВ

Резюме. Показано, что при экспериментальной ожоговой болезни генез телец тимуса у крыс ускоряется. Эпителиоретикулоциты являются "стартовой точкой" образования и трансформации телец тимуса. Быстрый генез телец тимуса и специфика "переплетения" эпителиоретикулоцитов в тельцах тимуса приводят к характерному полиморфизму этих телец при ожоговой болезни.

Ключевые слова: ожоговая болезнь, тимус, световая и электронная микроскопия.

POLYMORPHISM OF THE THYMIC CORPUSCLES IN CASE OF EXPERIMENTAL BURN DISEASE AND THE INFUSION OF COMBINED HYPEROSMOLAR SOLUTIONS

Abstract. The genesis of the rat thymic corpuscles has been shown to accelerate in experimental burn disease. Epithelioreticulocytes appear to be the "starting point" of forming and transforming the thymic corpuscles. A rapid genesis of the thymic corpuscles and the specific character of "plexiformity" of the epithelioreticulocytes in the thymic corpuscles leads to typical polymorphism of these corpuscles in burn disease.

Key words: burn disease, thymus, light and electron microscopy.

O.O.Bohomolet's National Medical University (Kyiv)

Надійшла 10.10.2011 р.

Рецензент – проф. Е.Ф.Барінов (Донецьк)