

© Захаров А.А.

УДК 591.444:615.37

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТИМУСА ПОСЛЕ ИММУНОСУПРЕССИИ В ЭКСПЕРМЕНТЕ

А.А.Захаров

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. – проф. С.А.Кащенко) Луганского государственного медицинского университета

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ТИМУСА ПІСЛЯ ІМУНОСУПРЕСІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Резюме. Наведені зміни будови тимуса статевонезрілих щурів після одноразового застосування циклофосфану в дозі 200 мг/кг. Встановлені достеменні відмінності морфометричних показників від контрольних даних, що вказує на активну реакцію тимуса на екзогенний вплив.

Ключові слова: тимус, циклофосфан, експеримент.

Чрезмерное воздействие факторов, угнетающих или стимулирующих иммунную систему, приводит к развитию иммунологической недостаточности, которая может проявляться нарушением функционирования клеточного и гуморального звеньев иммунитета и факторов естественной резистентности организма [1, 2]. Влияние неблагоприятных факторов особенно велико на детский организм в связи с несовершенством функционирования регуляторных систем, в том числе и иммунной [3, 4].

В научной литературе представлен широкий спектр публикаций, содержащих иммунологические аспекты строения и функционирования органов иммунной системы после воздействия разнообразных экзогенных факторов, однако работы морфологического направления, особенно касающиеся детского возраста, немногочисленны [5, 6]. В связи с этим изучение строения тимуса (Тм), как центрального органа иммуногенеза, после экспериментальной иммуносупрессии в половозрелом возрасте представляет особый интерес для многих специалистов.

Работа является составной частью научно-исследовательской темы Луганского

медуниверситета "Особенности будови деяких органів імунної, ендокринної та нервової систем під впливом екзогенних чинників" (№ 0106U006009).

Материал и методы. Исследование проведено на 36 половозрелых белых беспородных крысах-самцах. При работе с животными руководствовались Законом Украины "Про захист тварин від жорстокого поводження" от 21.02.2006 г. № 3447, положениями брифинга Европейского научного сообщества "Использование животных в исследованиях" (2000) [7]. Иммуносупрессивное состояние моделировали путём введения циклофосфана однократно внутримышечно в дозировке 200 мг/кг. Контролем служили крысы, которым вводили эквивалентные объёмы 0,9 % раствора натрия хлорида. Животных выводили из эксперимента через 1, 15 и 30 суток после прекращения введения препарата путём декапитации под эфирным наркозом. Тм взвешивали, фиксировали в 10 % растворе формалина, подвергали стандартной гистологической проводке. Срезы Тм толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, изучали с помощью автоматизи-

рованного морфометричного комплексу, включаючого світлової мікроскоп *Olytrix CX41*, цифрову фотокамеру, персональний комп'ютер з набором прикладних програм. Для отримання об'єктивних результатів вивчали показники абсолютної та відносної маси Тм, ширину коркового речовини долек, площу коркового та мозгового речовини, розраховували корково-мозговий індекс (КМІ). Отримані дані оброблені за допомогою ліцензійної програми "Statistica 5.5", достовірність відмінностей між показниками експериментальних та контрольних груп визначали за допомогою критерію Ст'юдента ($p < 0,05$).

Результати дослідження та їх обговорення. Доли Тм білих крыс неполовозрелого віку оточені тонкою з'єднуючою капсулою. Кожна доля Тм складається з долек, які мають коркову та мозгову речовину. Між долями знаходяться прошлойки з'єднуючої тканини, які поширюються до корково-мозгової межі. Коркова речовина в різних ділянках Тм має різну товщину, причому вона змінюється на протязі однієї долі. Мозгова речовина на препаратах має більш світлу окраску. Абсолютна маса Тм тварин контрольної групи мала мінімальне значення на перші дні спостереження та становила $242,0 \pm 22,6$ мг. Через 15 днів після введення 0,9 % розчину натрію хлориду цей показник досягав $262,5 \pm 7,3$ мг. Через 30 днів абсолютна маса Тм контрольних тварин мала максимальне значення – $340,0 \pm 12,2$ мг. Зміна відносної маси Тм тварин контрольної групи також мала виражений характер: на перші дні цей показник становив $3,1 \pm 0,2$, через 15 днів – $2,2 \pm 0,1$, через 30 днів – зменшився до $2,0 \pm 0,1$.

Відомо, що параметри коркової речовини Тм відображають ступінь його функціональної активності. Ширина даної зони в

ділянках Тм тварин контрольної групи поступово зменшувалася з збільшенням терміну спостереження: на перші дні – $260,6 \pm 4,9$ мкм, через 15 днів – $224,1 \pm 8,9$ мкм, на 30-і дні – $221,3 \pm 9,2$ мкм. Площа коркової речовини Тм тварин контрольної групи, виражена в відсотках, зменшувалася з збільшенням терміну спостереження: на перші дні – $80,6 \pm 1,3$ %, на 15-і та 30-і дні – $77,2 \pm 1,9$ % та $77,0 \pm 2,3$ % відповідно. Площа мозгової речовини Тм крыс контрольної групи збільшувалася відповідно ступеню зменшення площі коркової речовини. КМІ також переживав певні зміни, причому їх динаміка була схожою з зміною площі коркової речовини: на перші дні – $4,1 \pm 0,1$, через 15 та 30 днів – $3,4 \pm 0,1$ та $3,3 \pm 0,1$ відповідно.

Після введення циклофосфану Тм зберігав основні морфологічні риси на протязі всього періоду спостереження. Однак типовим для даної групи крыс є інверсія окраски коркової та мозгової речовини в ранні терміни спостереження (рис. 1). Це явище може бути пов'язано з лімфатизацією коркової речовини за рахунок масивного виходу тимоцитів в кровоток, а також можливістю затримки їх диференціації в відповідь на введення високої дози імуносупресора.

Через 30 днів після введення препарату окраска коркової та мозгової речовини нормалізувалася, однак межа між ними залишалася нечіткою (рис. 2). Абсолютна маса Тм: через дні після введення препарату становила $168,6 \pm 7,4$ мг, к 15 днів – $123,6 \pm 8,5$ мг, а через 30 днів після застосування циклофосфану вона досягала значення $306,3 \pm 11,7$ мг. Достовірні негативні відмінності даного показника в групі тварин, які отримували циклофосфан, від даних групи інтактних тварин спостерігалися через 1, 15 та 30 днів після застосування препарату та становили 30,2 %, 52,8 % та 9,9 % відповідно.

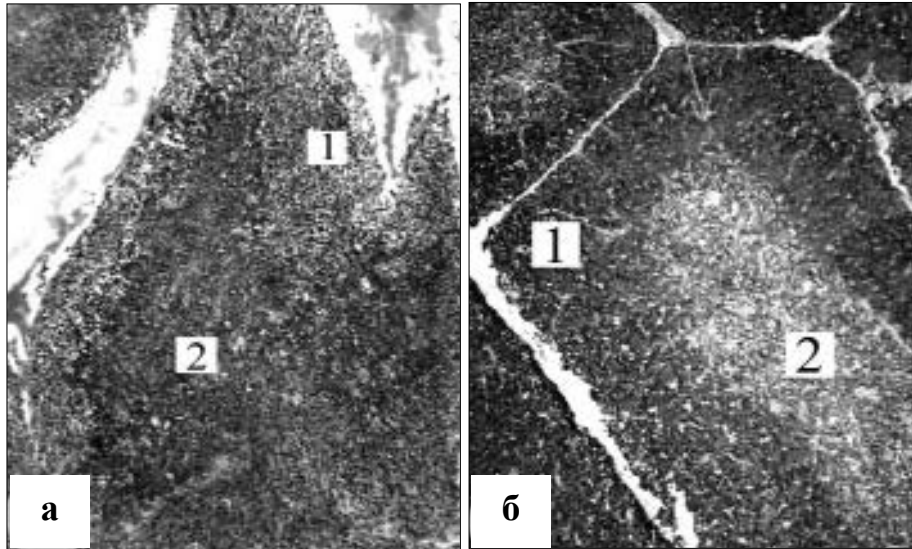


Рис. 1. Кортик (1) и мозговое (2) вещество тимуса неполовозрелых крыс через 15 суток после введения циклофосфана (а) и физиологического раствора (б). Окраска гематоксилином и эозином. Приближение – Zoot 132. Об. – PlanC N 10x0.25 ~-/FN22.

Относительная масса Тм подопытных животных изменялась аналогично динамике абсолютной массы органа. Через сутки после применения циклофосфана данный показатель составлял $1,5 \pm 0,1$, с увеличением срока наблюдения (15-е сутки) он уменьшался ($0,9 \pm 0,1$). На 30-е сутки относительная масса Тм подопытных животных восстанавливалась до $1,9 \pm 0,1$. На первые, 15-е и 30-е сутки после введения циклофосфана нами установлены достоверные отличия

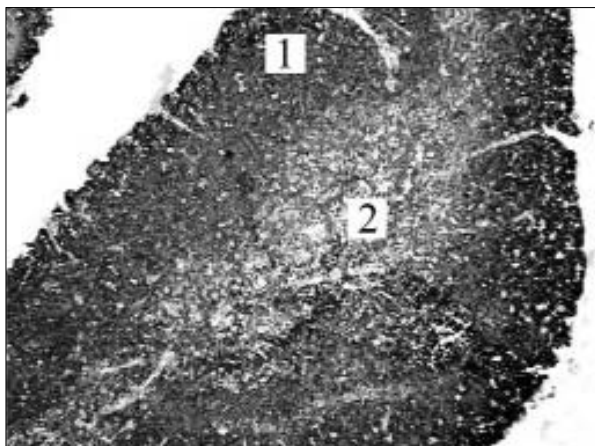


Рис. 2. Кортик (1) и мозговое (2) вещество тимуса неполовозрелых крыс через 30 суток после введения циклофосфана. Окраска гематоксилином и эозином. Приближение – Zoot 132. Об. – PlanC N 10x0.25 ~-/FN22.

показателя относительной массы Тм от данных контрольной группы: 52,3 %, 56,4 % и 3,0 % соответственно. Ширина коркового вещества Тм уменьшалась с увеличением срока наблюдения: через сутки после введения циклофосфана – $208,3 \pm 6,3$ мкм, на 15-е сутки – $129,6 \pm 4,9$ мкм, к 30-м суткам – $125,5 \pm 8,3$ мкм. Через 1, 15 и 30 суток после введения циклофосфана установлены достоверные отличия полученных результатов от данных контрольной группы животных (рис. 3). Значимые различия составляли 20,1 %, 42,1 % и 43,2 % соответственно срокам наблюдения. Площадь коркового вещества Тм после применения иммуносупрессора также уменьшалась с увеличением срока наблюдения: на первые сутки наблюдения – $75,6 \pm 2,5$ %, через 15 и 30 суток – $64,5 \pm 2,3$ % и $62,5 \pm 1,1$ % соответственно. Площадь мозгового вещества Тм увеличивалась соответственно степени уменьшения площади коркового вещества (рис. 4). КМИ Тм изменялся аналогично динамике изменений площади коркового вещества. Максимальное значение данный показатель имел на первые сутки эксперимента ($3,1 \pm 0,1$). С увеличением срока наблюдения КМИ уменьшался до значений $1,8 \pm 0,1$ и $1,6 \pm 0,01$ соот-

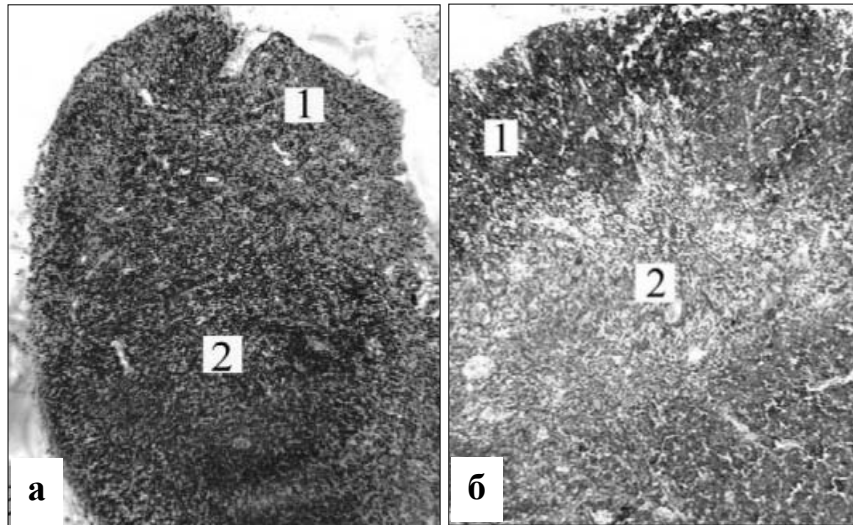


Рис. 3. Кортиконе (1) и мозговое (2) вещество тимуса неполовозрелых крыс через 30 суток после введения циклофосфана (а) и физиологического раствора (б). Окраска гематоксилином и эозином.

Приближение – Zoot 132. Об. – PlanC N 10x0.25 +/-FN22.

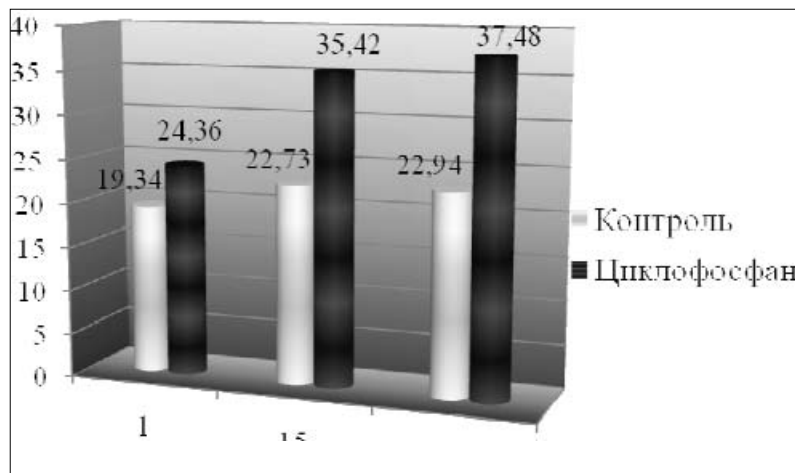


Рис. 4. Динамика изменения ширины коркового вещества тимуса (мкм) неполовозрелых белых крыс после введения циклофосфана и в контроле ($M \pm m$, $n=6$).

Таблиця

Показатели морфометрии тимуса неполовозрелых белых крыс после введения циклофосфана и в контроле ($M \pm m$, $n=72$)

Группа	Сроки (сут.)	Ширина коркового вещества, мкм	Площадь коркового вещества, %	Площадь мозгового вещества, %	Кортиконе-мозговой индекс
Контроль	1	260,66±4,95	80,66±1,30	19,34±1,28	4,17±0,12
	15	224,12±8,93	77,27±1,94	22,73±1,58	3,40±0,08
	30	221,35±9,21	77,06±2,34	22,94±2,69	3,36±0,10
После введения циклофосфана	1	208,32±6,31*	75,64±2,58*	24,36±1,39*	3,11±0,09*
	15	129,67±4,96*	64,58±2,31*	35,42±2,01*	1,82±0,08*
	30	125,52±8,36*	62,52±1,12*	37,48±1,05*	1,67±0,01*

Примечание: * – достоверное отличие от контрольных данных при $p < 0,05$.

ветственно 15-м и 30-м суткам эксперимента. Достоверные различия между показателями экспериментальной и контрольной групп животных выявлены через 1, 15 и 30 суток наблюдения – 25,4 %, 46,4 % и 50,3 % соответственно срокам наблюдения (табл.).

Выводы и перспективы дальнейших разработок. 1. После введения циклофосфана в дозе 200 мг/кг неполовозрелым животным со стороны тимуса (Тм) наблюдается высокая степень реактивности, которая выражается интенсивными изменениями морфометрических параметров. 2. Максимальные достоверные отличия показателей абсолютной и относительной

масс Тм, ширины и площади коркового и мозгового вещества, корково-мозгового индекса от контрольных данных выявлены на ранних сроках наблюдения после применения циклофосфана (1-е, 15-е и 30-е сутки наблюдения). 3. Восстановление морфометрических параметров Тм на поздних сроках наблюдения отражает высокий уровень его адаптационных процессов после иммуносупрессивного воздействия. 4. Полученные результаты вызывают интерес к изучению морфологических особенностей строения Тм неполовозрелых крыс после иммуностимуляции, что будет отражено в следующих публикациях.

Литература

1. Каиуба Э.А. Вторичные иммунодефицитные состояния / Э.А.Каиуба, В.В.Фомин. – Екатеринбург, 1997. – 354 с.
2. Ярилин А.А. Основы иммунологии / Ярилин А.А. – М.: Медицина, 1999. – 608 с.
3. Волошин Н.А. Клеточная динамика тимуса крыс первых суток жизни / Н.А.Волошин, Е.А.Григорьева // Вісник морфології. – 2000. – № 2. – С. 289-292.
4. Магдзік В.В. Імунітет популяції вчора, сьогодні, завтра / В.В.Магдзік // Інф. хвороби. – 2006. – № 3. – С. 5-13.
5. Кащенко С.А. Особенности ультрамикроскопического строения вилочковой железы крыс после введения им циклофосфана / С.А.Кащенко // Укр. мед. альманах. – 2003. – № 3. – С. 66-69.
6. Ковешников В.Г. Ультраструктура тимуса в условиях иммуностимуляции и иммуносупрессии / В.Г.Ковешников, В.М.Фролов, С.А.Кащенко // Укр. мед. альманах. – 2005. – № 2. – С. 36-40.
7. Use of animals in research: [secretary general E.Banda]: European Science Foundation Policy briefing. – 2000. – № 9. – P. 1-6.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТИМУСА ПОСЛЕ ИММУНОСУПРЕССИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме. Приведены изменения в строении тимуса неполовозрелых крыс после однократного введения циклофосфана в дозировке 200 мг/кг. Установлены достоверные отличия морфометрических показателей от контроля, что указывает на активную реакцию тимуса на экзогенное воздействие.

Ключевые слова: тимус, циклофосфан, эксперимент.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE THYMUS AFTER IMMUNOSUPPRESSION IN AN EXPERIMENT

Abstract. Changes in the thymic structure of immature rats after a single dose of cyclophosphanum (in a dose of 200 mg/kg) are presented. Significant differences of morphometric indices, that from the control findings have been established, pointing to a thymic active reaction to the exogenous influence.

Key words: thymus, cyclophosphanum, experiment.

State Medical University (Lugansk)

Надійшла 10.10.2008 р.
Рецензент – проф. Е.Ф.Барінов (Донецьк)