

## ОСОБЛИВОСТІ МОРФОГЕНЕЗУ ТИМУСА ПРИ ДІЇ ПОМІРНОЇ ХРОНІЧНОЇ ГІПЕРТЕРМІЇ

**Бибик О.Ю., Чмелюк І.О.**

*Луганський державний медичний університет*

**Бибик О.Ю., Чмелюк І.О.** Особливості морфогенезу тимуса при дії помірної хронічної гіпертермії // Український морфологічний альманах. – 2009. – Том 7, №2. – С. 12-15.

Метою нашої роботи було вивчення особливостей морфо-функціональних змін первинного лімфоїдного органу – тимуса білих щурів, що піддалися тривалій дії помірної хронічної гіпертермії. Дані проведеного нами дослідження можуть служити морфологічним підтвердженням імуностимулюючої активності помірної гіпертермічної дії.

**Ключові слова:** помірна хронічна гіпертермія, тимус, морфогенез

**Бибик Е.Ю., Чмелюк І.О.** Особенности морфогенеза тимуса при воздействии умеренной хронической гипертермии // Украинский морфологический альманах. – 2009. – Том 7, №2. – С. 12-15.

Целью нашей работы было изучение особенностей морфо-функциональных изменений первичного лимфоидного органа – тимуса белых крыс, которые подверглись длительному воздействию умеренной хронической гипертермии. Данные проведенного нами исследования могут служить морфологическим подтверждением иммуностимулирующей активности умеренного гипертермического воздействия.

**Ключевые слова:** умеренная хроническая гипертермия, тимус, морфогенез.

**Bibik E.Y., Chmelyuk I.O.** Features of thymus morphogenesis at moderate chronic hyperthermal influence // Украинский морфологический альманах. – 2009. – Том 7, №2. – С. 12-15.

The purpose of our work was a study of features of morpho-functional changes of primary lymphatic organ – thymus of white rats which were given in the protracted influence of moderate chronic hyperthermia. Information of the research conducted by us can serve as morphological confirmation of immunestimulating activity of moderate hyperthermal influence.

**Key words:** moderate chronic hyperthermia, thymus, morphogenesis.

Загальновідомо, що гіпертермічна дія є небезпечним екзогенним чинником, що часто впливає на організм людини в природних і виробничих умовах. З іншого боку, теплотікування - якнайдавніший метод. Метод загальної керованої гіпертермії (ЗКГ) активно вивчався протягом останніх чотирьох десятиріч років. Перші публікації про цей метод з'явилися в 60-х роках ХХ століття. До теперішнього часу зібраний великий теоретичний і практичний матеріал, присвячений вивченню і вдосконаленню цієї інтенсивної медичної технології.

У експериментах і клінічній практиці застосовуються різні варіанти активного фізичного зігрівання організму [5,6,10,12,13]. Зокрема, використовують інфрачервоне випромінювання, імєрсіоноконвекційне зігрівання, СВЧ індукційні способи, вено-венозне екстракорпоральне нагрівання крові. Дія на організм хворого власне гіпертермії супроводжується розладом гомеостазу, що робить пошук оптимальних варіантів застосування цього методу складним і актуальним завданням. Стосуючись практичної реалізації пгучної гіпертермії, слід враховувати позитивні і негативні сторони вживаних способів.

Одним з ефектів ЗКГ є ушкоджувальна дія на пухлинні клітини [16,19]. У експерименті на мишах отриманий позитивний ефект при ЗКГ інфрачервоними променями без застосування хімотерапії при раку молочної залози. В умовах гіпертермії підвищується чутливість пухлинних клітин до хімотерапії [18,19]. Окрім підвищення ефективності хімотерапії у поєднанні з ЗКГ наголошу-

ється зниження її токсичності. Крім того, відмічено підвищення резистентності здорових тканин до іонізуючого випромінювання після ЗКГ. ЗКГ значно впливає також на параметри гуморального імунітету [1,3,4,5,7].

Є публікації, вказуючі на негативні ефекти ЗКГ. ЗКГ у поєднанні з хімотерапією може служити причиною розвитку симптомів поліорганної недостатності. Описаний випадок гострої печінкової недостатності після сеансу ЗКГ (42,7°C, 1 година). За відсутності мієлотоксичності у ізофосфаміда, карбоплатіна і етопозіда у поєднанні з ЗКГ відмічена нефротоксичність. При ЗКГ можуть ушкоджуватися функції Т-клітини у пацієнтів з пухлинами, які отримують променеви терапію.

**Метою** нашої роботи було вивчення особливостей морфо-функціональних змін первинного лімфоїдного органу – тимуса білих щурів, що піддалися тривалій дії помірної хронічної гіпертермії

**Завдання** дослідження:

1. Створення експериментальної моделі помірної хронічної гіпертермії.
2. Вивчення особливостей реагування тимуса щурів на тривалу термічну дію помірної ступеня вираженості.

**Матеріали і методи:** Дослідження проводили на 36 білих безпородних статевозрілих щурах-самцях. До і під час експерименту щура знаходилися у виварії при температурі 20-25°C, вологості не більше 50%, об'ємі повітрообміну (втяжка-притока) 8/10, світловому режимі день/ніч в стандартних пластикових клітках не більше 6 особин в кожній, на стандартному раціоні. Доступ до води

був вільним. Проводилося щоденне спостереження за поведінкою і загальним станом тварин.

Для створення експериментальної моделі екзогенної загальної гіпертермії організму, групу лабораторних тварин поміщали в добре провітрювану термічну камеру з телекеруванням.

Як контроль служила серія № 1, що включає 18 щурів різних періодів онтогенезу: статевонезрілі, статевозрілі і старі тварини, яких витримували також протягом 5 годин в термокамері при температурі 21°C. Вплив помірної хронічної гіпертермії (ПХГ) на тваринах в нашому експерименті вивчалася на щурах 2 серії. Серія № 2 – складалася з 18 щурів, які щодня протягом 5 годин перебували в термічній камері при температурі 39,6, – 40,9°C (помірний режим).

Після закінчення гіпертермічної дії на першу добу тварин виводили з експерименту методом декапітації під ефірним наркозом відповідно до «Методичних рекомендацій по виведенню тварин з експерименту» (1985). Відразу після забою з грудної порожнини виділяли тимус. Первинний лімфоїдний орган ретельно очищали від жирової тканини і фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну. Потім виготовляли парафінові блоки, на санному мікроскопі робили парафінові серійні топографічні зрізи товщиною 3-4 мкм. Забарвлення препаратів проводили гематоксилін-еозином і по Ван-Гізону. Мікроморфометричне

**Таблиця 1.** Динаміка змін органометричних показників тимуса статевозрілих щурів після дії хронічної гіпертермії помірного ступеня вираженості (n=6)

Серія	Доба	Абсолютна маса (г)	Об'єм тимуса (мкл)	Довжина лівої частки (мм)	Довжина правої частки (мм)
1	1	243,5±10,6	430±30,9	19±0,24	16±0,15
2	1	256,3±21,9	450±3,4	19±0,12*	17±0,10

**Примітка:** \* - достовірно (P<0,001) порівняно з серією №1

При світломікроскопічному дослідженні тимусів щурів після ПХГ помітно тимічні часточки з чіткими межами кіркової і мозкової речовини (рис. 1). Досліджувані нами морфометричні показники тимуса щурів цієї серії представлені в таблиці 2.

Площа кіркової речовини тимуса щурів серії №2 перевершувала таку в контролі. «Інверсія» кіркової і мозкової речовини в часточках тимуса тварин, що піддалися помірному режиму хронічної гіпертермії, не виявлено. У всіх структурно-функціональних зонах вілочкової залози нами виявлена щільна упаковка клітин лімфоїдного ряду в мережі епітеліоретикулоцитів до терміну дослідження, що вивчається. Клітинний склад тимуса щурів серії, що вивчається, не зазнає достовірно значущих перетворень унаслідок дії ПХГ (табл.2).

Проте нами виявлено зростання щільності популяції кліток на стандартній площі зрізу. На ранніх термінах дослідження спостерігається

**Таблиця 2.** Динаміка змін морфометричних показників тимуса статевозрілих щурів після впливу хронічної гіпертермії помірного ступеня вираженості (n=6)

Серія	Доба	Площа капсули і трабекул	Площа кіркової речовини	Площа мозкової речовини	Кірко-медулярний індекс
1	1	13,43±0,087	59,67±3,16	26,90±1,12	2,21±0,019
2	1	13,11±0,143	61,48±4,49	25,41±1,27	2,41±0,014

**Примітка:** \* - достовірно (P<0,05) порівняно з серією №1

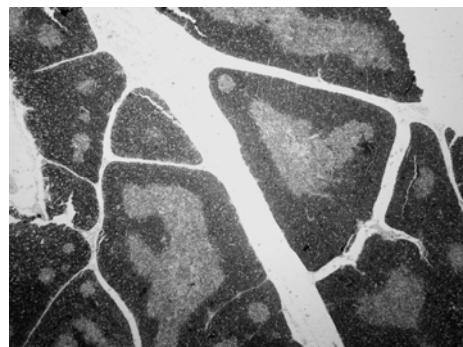
дослідження об'єктів проводили на комп'ютерному комплексі.

На зрізах гістопрепаратів тимуса вимірювали відносні площі капсули і трабекули, кіркової речовини, мозкової речовини, кірково-медулярний індекс, кількість телець Гасала. Клітинний склад і щільність популяції клітин визначали в кірковому і в мозковій речовині. Отримані цифрові зображення завантажували в оригінальну комп'ютерну програму «Morpholog», розроблену співробітниками кафедри анатомії людини ЛУГДМУ (Свідоцтво про реєстрацію авторського права №9604). Ультратонкі зрізи товщиною 0,5-1,5 мкм виготовляли на ультратомі ЛКБ-460.

**Результати досліджень:** Тривале перебування експериментальних тварин по 5 годин на добу в термічній камері при помірному температурному режимі не супроводжувалося загибеллю тварин всіх вікових груп. Ми не виявили достовірного дефіциту маси тіла щурів серії №2 порівняно з контролем.

Аналіз отриманих нами органометричних показників тимуса щурів після ПХГ не показав вираженого дефіциту абсолютної маси, загального об'єму органу і всіх досліджуваних лінійних показників порівняно з такими в серії №1 (табл.1). Більш того, по деяким величинам ми виявили тенденцію до зростання. Так на ранніх термінах зростає маса тимуса і його об'єм.

стимуляція мітотичної активності лімфобластів. Яких би то не було дисбалансів в структурі популяції лімфоцитів тимуса не виявлено. Кількість кліток нелімфоїдного мікрооточення також знаходяться на рівні контрольних значень у всі терміни спостереження.



**Рис. 1.** Тимус статевозрілого щура серії №2 на 1 добу реадaptaції після закінчення ПХГ. Гематоксилін-еозин. Наблюдження: Zoom 162. Об'єктив: Plan 4x x/-.

Помірний режим загальної екзогенної гіпертермії впродовж 2 місяців вже на 1 добу дослідження привів до реакції у відповідь з боку тимічної паренхіми. Так, в субкапсулярній зоні тимуса тварин даної експериментальної групи зростає кількість молодих форм лімфоїдних клі-

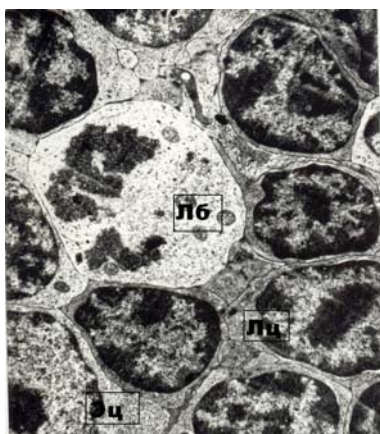
тин - бластів. У кількості середніх лімфоцитів також мала тенденція до збільшення в порівнянні з таким в контрольній групі. На тлі цього часто зустрічаються картини мітозов в ядрах лімфобластів цієї зони (рис.2).

**Таблиця 3.** Клітинний склад кіркової і мозкової речовини тимуса статевозрілих щурів після хронічної гіпертермії помірного ступеня вираженості (на стандартній площі 9000 кв.мкм)

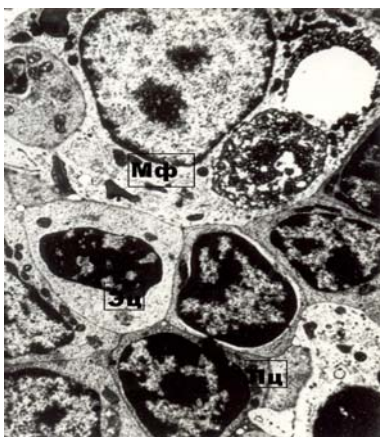
Показник	Серія №1		Серія №2	
	Кіркова речовина	Мозкова речовина	Кіркова речовина	Мозкова речовина
Щільність популяції кліток	213	192	259	204
Бласти і великі лімфоцити (%)	11,7	1,76	13,3	2,55
Середні лімфоцити (%)	7,73	11,16	8,36	12,68
Малі лімфоцити (%)	68,2	50,29	59,2	53,3
Епітеліоретікулоцити(%)	14,3	17,8	14,9	16,3
Макрофаги (%)	0,82	1,99	1,05	1,99
Зруйновані клітки (%)	2,75	0,95	2,57*	0,98
Клітки, що діляться (%)	0,96	0,78	0,92	0,76

\*- достовірно (P%0,05) порівняно з щурами серії № 1

Субмікроскопічно лімфоцити мають типову будову: хроматин у вигляді глибок розташований по периферії ядра, цитоплазма містить рибосоми і полісоми, іноді зустрічаються мітохондрії.



**Рис.2.** Лімфобласт (Лб) субкапсулярної зони тимуса щура серії №2 в оточенні лімфоцитів (Лц). 1 доба x8000



**Рис.3.** Макрофаг (Мф) з крупною фагосомою субкапсулярної зони тимуса щура серії №2 (1 доба) x8000

На електронограмах субкапсулярної зони кіркової речовини тимуса при дії УХГ часто присутні макрофаги (рис.3). Частота плазматичних

кліток і еозинофільних гранулоцитів, що зустрічаються, істотно не змінилася.

У субкапсулярній зоні тимуса піддослідних тварин у всі терміни дослідження спостерігалася також тенденція до збільшення кількості кліток, що включають субкапсулярні і світлі епітеліоретікулоцити. Окрім цього, в них були виявлені ознаки, характерні для гіпертрофії. Критеріями посиленого синтезу білка в клітках є деконденсація гетерохроматина, збільшення площі цитоплазми, займаною розвиненою гранулярною ендоплазматичною мережею, наявність великої кількості рибосом і, в окремих випадках, виявлення комплексу Гольджі. У цитоплазмі світлих епітеліоретікулярних клітин зростає кількість крупних світлих вакуолей і невеликих вакуолей з електроноплотним аморфним матеріалом.

Внутрішня зона кіркової речовини тимуса щурів серії №2 містить багато типових лімфоцитів, частота тих клітин, що мітотично діляться, збільшилася в порівнянні з контролем. У внутрішній зоні кіркової речовини у тварин даної експериментальної групи збільшився зміст епітеліоретікулярних клітин в порівнянні з контрольною групою. Кількість макрофагів також була більша, ніж у контрольних тварин. Частина макрофагів не містила фагоцитованого матеріалу. Ці макрофаги були округлої форми і розташовувалися в глибоких відділах внутрішньої кори, часто утворюючи скупчення з декількох клітин.

У мозковій речовині тимуса зміни клітинного складу лімфоїдного компоненту були не істотно вираженими. Тут також, як і в структурно-функціональних зонах кіркової речовини, збільшився зміст нелімфоїдних елементів.

Проведене нами органометричне, морфометричне і електронно-мікроскопічне дослідження лімфоїдного і епітеліального компонентів тимуса щурів, що піддалися КХГ, показало, що на ранніх термінах експерименту спостерігається стимуляція мітотичної активності лімфоцитів

внутрішньої зони кіркової речовини тимуса щурів, посилення белоксинтезуючої функції тимусних епітеліоретикулоцитів і плазмоцитарної реакції. Ці дані можуть служити морфологічним підтвердженням імуностимулюючої активності помірної гіпертермічної дії.

**Висновки:**

1. Помірний режим хронічної гіпертермічної дії не викликає зміни морфогенезу тимуса щурів.
2. Досліджений режим гіпертермічного впливу приводить до стимуляції мітотичної активності лімфоцитів внутрішньої зони кіркової речовини тимуса щурів, посилення білоксинтезуючої функції тимусних епітеліоретикулоцитів і плазмоцитарної реакції. Це може служити морфологічним підтвердженням імуностимулюючої активності помірних гіпертермічних дій.

**ЛІТЕРАТУРА:**

1. Абелев Г.И. Основы иммунитета //Соросовский Образовательный журнал.- 1996.- №5.- С. 4-10.
2. Баринов Э.Ф., Бондаренко Н.Н. Взаимосвязь изменений структурных органов тимико-лимфатической системы и суставных тканей при длительной общей гипертермии организма //Український медичний альманах. - 1998. №2. - С. 10 – 12.
3. Галактионов В.Г. Иммунология. – М.: Нива России, 2000. – 488с.
4. Жданов А.В., Сухих Г.Т., Давыдова М.П. Особенности корреляционных связей в системе цитокинов // Бюл. exper. биол. и мед. - 2003. – №9. - С. 309-311.
5. Зеленина Н. В., Андреева А. И., Горянчук В. В. Действие непродолжительного умеренного нагревания организма здорового человека на периферические лимфоциты //Цитология.- 2000.- Т. 42,№ 2.- С.166-169
6. Сувернев А.В., Верещагин И.П. Клинические эффекты общей управляемой гипертермии (43,5-44оС) //Клиническая и экономическая эффективность современных мед. технологий, методов диагностики и лечения: Тез. докладов науч.-практ. конф. - М., 2001. - С.221-222
7. Кадагидзе З.Г. Цитокины и их использование в онкологии // Иммунореабилитация. –

1997. № 6. – С. 47-55.
8. Лалаянц И.Э., Милованова Л.С. Нобелевские премии по медицине и физиологии. - М.: Знание, серия “Биология”.- 1991.- С.64.
9. Ультроструктура і фізіологія клітини / Ковешніков В.Г., Савенко Л.Д., Кащенко С.А., Абакаров М.Х., Савро В.О. – Луганськ, 1993. - 56с.
10. Хаитов Р.М. Физиология иммунной системы // Рос. физиолог. журн. им. И.М. Сеченова. – 2000. - Т. 86,№ 3. – С. 252-267.
11. Хем А., Кормак Д. Гистология / Пер. с англ. – М.: Мир, 1982. Т. 1,2.
12. Ash S.R., Steinhart C.R. et al. Extracorporeal whole body hyperthermia treatments for HIV infection and AIDS. ASAIO J 1997 Sep-Oct; 43(5):M830-8
13. Babincova M., Sourivong P. et al. Blood-specific whole-body electromagnetic hyperthermia. Med Hypotheses 2000 Dec; 55 (6):459-60
14. Blazickova S., Rovensky J. et al. Effect of hyperthermic water bath on parameters of cellular immunity. Int J Clin Pharmacol Res 2000;20(1-2):41-6
15. Broderick T.L., Currie R.W., Paulson D.J. Heat stress induces rapid recovery of mechanical function of ischemic fatty acid perfused hearts by stimulating glucose oxidation during reperfusion. Can J Physiol Pharmacol 1997 Dec; 75(12):1273-9
16. Christophi C., Winkworth A. et al. The treatment of malignancy by hyperthermia. Surg Oncol 1998 Jul-Aug; 7(1-2):83-90
17. Effect of moderate (40°) and intensive (43°) hyperthermia on spleen, lymphnode and thymus-derived murine lymphocyte in vitro / Rolzcowski W., Szmigielski S., Janiak M., Wrembel J.K. // Immunobiol. – 1980. Vol. 156, № 4-5. P. 429-440.
18. Kappel M., Gyhrs A. et al. The response on glucoregulatory hormones of in vivo whole body hyperthermia. Int J Hyperthermia 1997 Jul-Aug;13(4):413-21
19. Falk M.H., Issels R.D. Hyperthermia in oncology // Int. J. Hyperthermia. 2001. – Vol. 17. P. 1-18.

Надійшла 07.02.2009 р.  
Рецензент: проф. С.А.Кащенко