

## СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ТИМУСА КРЫС РАННЕГО ПОСТНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА ПРИ ПАРЕНТЕРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ

Кривенцов М.А.

ГУ "Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского"

В связи с увеличением доли нарушений иммунного статуса различного генеза, поиск эффективных препаратов биогенного происхождения в настоящее время является приоритетным в медицине и ветеринарии. Среди возможных сырьевых источников получения высокоэффективных иммуностроительных препаратов рассматривают спинномозговую жидкость (СМЖ), которая является гуморальной средой центральной нервной системы. Учитывая широкий спектр биологических реакций СМЖ, обширную сырьевую базу и относительную простоту получения и обработки ликвора в качестве приоритетного направления выступает разработка биогенного препарата, который найдет применение при различных патологических состояниях, сопряженных с функциональным нарушением иммунного статуса организма [2, 9].

Несмотря на обширные литературные данные в отношении эффектов парентерального введения СМЖ [5], источников, касающихся всестороннего морфологического изучения органов иммуногенеза в условиях парентерального введения СМЖ, нами обнаружено не было. Таким образом, в рамках запланированной тематики научных исследований (№0112U003085), в качестве объекта эксперимента нами был выбран тимус, как ключевой орган иммуногенеза, выступающий в качестве возможного органа-мишени в отношении биологических эффектов ксеногенной спинномозговой жидкости.

### Цель исследования:

1. Описать структурную организацию тимуса крыс в условиях парентерального введения спинномозговой жидкости, начиная с периода новорожденности;

2. Выявить возможные гистопатологические изменения в тимусе экспериментальных крыс, ассоциированные с парентеральным введением спинномозговой жидкости.

**Материал и методы исследования.** Спинномозговую жидкость получали от коров путем субокципитальной пункции с дальнейшей криоконсервацией в жидком азоте при температуре –196°C [4]. В качестве экспериментальных животных использовали самцов белых крыс линии Вистар, которые были объединены в экспериментальную и контрольную серию опытов. В соответствии с поставленной целью в эксперименте использовали крыс периода новорожденности (3 сутки после рождения на момент начала эксперимента). Количество животных в экспериментальной и контрольной серии опытов составляло по 6 крыс.

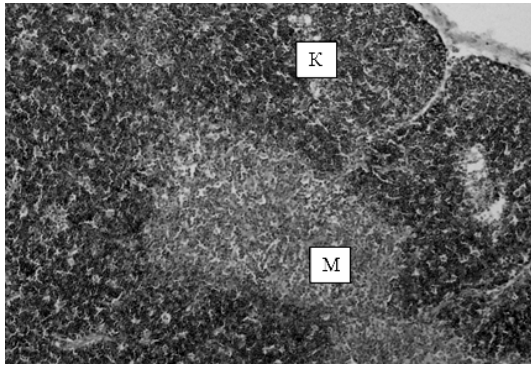
Крысам экспериментальной серии опытов парентерально вводили спинномозговую жидкость из расчета 2 мл/кг массы животного (внутрибрюшинно). Кратность введения СМЖ составляла один раз в 3 дня. Крысам контрольной серии опытов аналогичным образом, с аналогичной кратностью и дозой вводили физиологический раствор. Животных выводили из эксперимента на 7-е, 30-е и 90-е сутки эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом. Экспериментальное исследование было проведено в соответствии с принципами международного права [2].

После декапитации крыс и вскрытия грудной клетки производили выделение тимуса. После проведения макроскопического и органомерического исследований, тимус фиксировали в 10% нейтральном формалине. Проводка и заливка материала в парафиновые блоки осуществлялась по общепринятым методикам [1]. Изготавливали серийные срезы толщиной 4–6 мкм с последующей окраской гематоксилином и эозином. Просмотр, гистологическое описание и получение цифровых фотографий микропрепаратов осуществляли с помощью цитоморфометрического комплекса «Olympus CX-41».

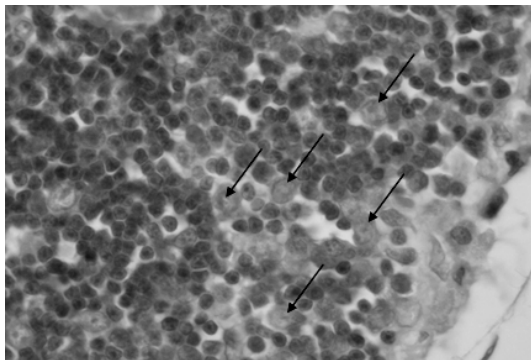
**Результаты исследований и их обсуждение.** В целом, гистологическая организация тимуса крыс, которым парентерально вводили СМЖ, соответствовала контролю. Вне зависимости от сроков эксперимента, тимус экспериментальных животных на микропрепаратах был представлен в качестве паренхиматозного органа дольчатого строения, покрытого хорошо выраженной соединительнотканной капсулой с отходящими от нее перегородками. В паренхиме четко различали корковое и мозговое вещество, а в корковом веществе – внешнюю кору (включая субкапсулярную зону) и внутреннюю кору (включая кортико-медулярную зону) (рис. 1).

Как и в тимусе крыс контрольной серии, на всех сроках эксперимента на микропрепаратах органа животных после введения СМЖ доля коркового вещества значительно преобладает над долей мозгового вещества.

При большем увеличении, корковое вещество тимуса экспериментальных крыс представлено, преимущественно, плотно расположенными малыми и средними лимфоцитами, а также клетками микроокружения: эпителиальными клетками и макрофагами. Встречали клетками с изменениями, характерными для апоптоза. В субкапсулярной зоне коркового вещества определяли значительное количество малодифференцированных больших лимфоцитов (рис. 2).



**Рис. 1.** Тимус крысы после парентерального введения СМЖ. 30-е сутки эксперимента. К – корковое вещество, М – мозговое вещество. Окраска гематоксилином и эозином. Приближение: Zoom 162. Объектив: Plan 10x ∞/-.



**Рис. 2.** Субкапсулярная зона тимуса крысы после парентерального введения СМЖ. Субкапсулярная зона коркового вещества. 30-е сутки эксперимента. Стрелки – большие лимфоциты. Окраска гематоксилином и эозином. Приближение: Zoom 162. Объектив: Plan 100x ∞/-.

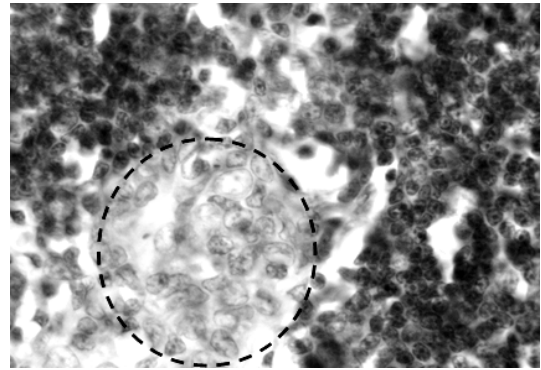
Клеточный состав мозгового вещества также характеризовался преобладанием малых и средних лимфоцитов. Однако плотность расположения клеток была ниже, чем в корковом веществе, за счет чего визуализировали большое количество эпителиальных клеток и макрофагов.

В качестве общих, неспецифических особенностей гистологической структуры тимуса крыс, которым вводили СМЖ, следует отметить расширение просвета сосудов микроциркуляторного русла, увеличение количества и фагоцитарной активности макрофагов. Данные изменения были выявлены на всех сроках эксперимента, однако наибольшую выраженность носили на 7-й день, что, вероятно, обусловлено реактивными изменениями в ответ на введение ликвора. На 30-й и 90-й дни эксперимента данные изменения имели менее выраженный характер.

Следует отметить, что каких-либо гистопатологических преобразований тимуса у экспериментальных крыс в виде некроза, дистрофии, выраженного апоптоза лимфоцитов и клеток микроокружения, воспаления, злокачественных новообразований, выраженных изменений целостности или проницаемости стенок сосудов микроциркуляторного русла и др., выявлено не было.

На некоторых препаратах, вместе с тем, выявляли единичные структуры, расположенные преимущественно в мозговом веществе и в области междольковых перегородок, представлен-

ные, по всей видимости, макрофагально-эпителиальной клеточной ассоциацией (рис. 3). Данные структуры обнаруживали лишь при увеличении срока эксперимента до 90 суток. На 7-дневном и 30-дневном сроках эксперимента подобных изменений выявлено не было. Размер данных образований варьировал от небольших (несколько десятков микрометров) до значительных (300 мкм).



**Рис. 3.** Тимус крысы после парентерального введения СМЖ. Формирование макрофагально-эпителиальной клеточной ассоциации (пунктирная линия). 90-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. Приближение: Zoom 162. Объектив: Plan 100x ∞/-.

Анализ литературных данных позволяет, предположительно, идентифицировать подобные образования, как очаговую гиперплазию эпителиальных клеток тимуса [7, 10], либо как эпителиоидную гранулему [6, 8, 11]. По данным литературы, этиологические причины развития данных изменений также различны. Несмотря на то, что эпителиоидная гранулема является характерным проявлением Т-лимфоцитарной реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), ряд авторов указывает на спорадичность и идиопатический характер возникновения подобных гистопатологических изменений. Так, например, Susan A. Elmore [7] указывает на то, что возникновение гиперплазии эпителиальных клеток в тимусе в области междольковых перегородок, которая зачастую носит обширный характер, является частой гистологической находкой у крыс линии F344. Вместе с тем, учитывая обнаружение подобных изменений лишь при увеличении срока эксперимента до 90 суток, нельзя исключить и аллергический механизм развития данных гистопатологических преобразований. Несмотря на то, что спинномозговая жидкость в силу низкого содержания белка и особенностей ее консервации (криоконсервация с последующим размораживанием) обладает низким антигенным потенциалом, наличие определенной антигенной и иммуногенной активности ликвора отрицать нельзя. В качестве предрасполагающих факторов в данной ситуации могут выступать многократное (30-кратное) введение СМЖ и незрелость адаптационной системы организма-реципиента в периоде новорожденности.

**Выводы и перспективы дальнейшего научного поиска.** Гистологическая организация

тимуса крыс, которым парентерально вводили спинномозговую жидкость, начиная с периода новорожденности, соответствует контролю. Анализ гистологических препаратов тимуса экспериментальных животных не выявил каких-либо гистопатологических изменений, за исключением единичных случаев развития, предположительно, очаговой гиперплазии эпителиальных клеток тимуса (эпителиоидной гранулемы) при увеличении срока эксперимента до 90 суток.

Учитывая полученные гистологические находки, с целью их окончательной идентификации и возможного установления механизма развития целесообразным является проведение комплексного иммуногистохимического исследования. Также, в дальнейшем с целью установления закономерностей и механизмов воздействия ксеногенной СМЖ на органы иммунной системы, планируется проведение гисто- и цитоморфометрических исследований.

## ЛІТЕРАТУРА:

1. Меркулов Г. А. Кудс патогистологической техники / Г. А. Меркулов. – Л.: Медицина, 1969. – 423 с.
2. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Ю.М.Кожемякін, О.С.Хромов, М.А.Філоненко та ін.]. — К.: Авіцена, 2002. — 156 с.
3. Пат. 2101774РФ G09B23/28 Способ лечения острой лучевой болезни у экспериментальных животных: Пат. 2101774РФ G09B23/28 [В.В.Ткач, О.М.Атаманова, И.Е.Андрянова и др.] № 3182147 15.10.87; Опубл. 10.01.98; Бюл. № 1. — 46 с.
4. Пат. на корисну модель 65154 Україна, МПК А 61К 35/24, А 61К 35/12 Спосіб отримання біологічного препарату ліквору / Пикалюк В.С., Ткач В.В., Кривенцов М.А., Шаймарданова Л.Р., Бессалова Є.Ю., Кісельов В.В., Зайвий Ю.П., Лесковський А.О., винахідники Пикалюк В.С., Ткач В.В., Кривенцов М.А., Шаймарданова Л.Р., Бессалова Є.Ю., Кісельов В.В., Зайвий Ю.П., Лесковський А.О. власник ДУ «Кримський державний медичний університет імені С.І.Георгієвського». – № u201106266; заявл. 19.05.2011, опубл. 25.11.2011, Бюл. № 22.
5. Пикалюк В.С., Бессалова Е.Ю., Ткач В.В. и др. Ликвор как гуморальная среда организма. – Симферополь, ИТ «Ариал». – 2010. – 192 с.
6. Baba Y. Thymic granulomatous lesions in pigs / Y. Baba, H. Nakayama, A. Yasoshima [et al.] // Veterinary pathology. — 2006. — Vol. 43, No. 6. — P. 1037–1040.
7. Elmore S. A. Enhanced histopathology of the thymus / S. A. Elmore // Toxicologic pathology. — 2006. — Vol. 34, No. 5. — P. 656–665.
8. Gormsen H. On the occurrence of epithelioid cell granulomas in the organs of bcg-vaccinated human beings / H. Gormsen // Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica. — 1956. — Vol. 38, No. S111. — P. 117–120.
9. Kriventsov M.A. Cerebrospinal fluid review: considerations for immunoregulatory role and current trends / M.A. Kriventsov // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – №1, ч.2(61). – С. 257–265.
10. Pearse G. Histopathology of the thymus / G. Pearse // Toxicologic Pathology. — 2006. — Vol. 34, No. 5. — P. 515–547.
11. Tanaka A. Epithelioid granuloma formation requiring no t-cell function. / A. Tanaka, K. Emori, S. Nagao[et al.] // The American Journal of Pathology. — 1982. — Vol. 106, No. 2. — P. 165–170.

**Кривенцов М.А.** Структурная организация тимуса крыс раннего постнатального периода при парентеральном введении спинномозговой жидкости // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 2. – С. 40–42.

Изучена структурная организации тимуса самцов крыс линии Вистар, которым парентерально вводили спинномозговую жидкость, начиная с периода новорожденности. В качестве характерных неспецифических изменений выявлено расширение и полнокровие сосудов микроциркуляторного русла, а также увеличение макрофагальной активности. При увеличении срока эксперимента до 90 суток в тимусе некоторых крыс определялись очаги гиперплазии эпителиальных клеток (эпителиоидные гранулемы). С целью окончательной идентификации обнаруженных образований и возможного установления их механизма развития целесообразным является проведение комплексного иммуногистохимического исследования.

**Ключевые слова:** спинномозговая жидкость, тимус, гистология, крысы.

**Кривенцов М.А.** Структурна організація тимуса шурів раннього постнатального періоду при парентеральному введенні спинномозгової рідини // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 2. – С. 40–42.

Вивчена структурна організації тимуса самців шурів лінії Вистар, яким парентерально вводили спинномозгову рідину, починаючи з періоду новонародженості. В якості характерних неспецифічних змін виявлено розширення і повнокров'я судин мікроциркуляторного русла, а також збільшення макрофагальної активності. При збільшенні терміну експерименту до 90 діб в тимусе деяких шурів визначали вогнища гіперплазії епітеліальних клітин (епітеліоїдні гранулеми). З метою остаточної ідентифікації виявлених утворень і можливого встановлення їх механізму розвитку доцільним є проведення комплексного імуногістохімічного дослідження.

**Ключові слова:** спинномозгова рідина, тимус, гістологія, шури.

**Kriventsov M.A.** Structural organization of the thymus of the neonatal rats after parenteral administration of the cerebrospinal fluid // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 2. – С. 40–42.

The aim of this research is to study the histological organization of the rats' thymus after parenteral administration of the cerebrospinal fluid, starting from the neonatal period, as well as the evaluation of possible histopathological changes. In general, the histological organization of the thymus of the experimental rats corresponds to the control. Some notable non-specific changes were expansion of the microvascular bed, as well as an increase in macrophage activity. Histological sections of the thymus of experimental animals did not reveal any histopathological changes, except for isolated cases of the focal epithelial hyperplasia of the thymus cells or epithelioid granulomas with increasing duration of the experiment up to 90 days. To provide the final identification of the detected changes a comprehensive immunohistochemical study is appropriate.

**Key words:** cerebrospinal fluid, thymus, histology, rats.

Надійшла 12.01.2013 р.  
Рецензент: проф. В.І.Лузін