



В.І. Літус<sup>1</sup>, Ю.Б. Чайковський<sup>2</sup>

## ВПЛИВ МІКРОМЕРКУРІАЛІЗМУ Й ПРОТЕКТОРНОЇ ТЕРАПІЇ НА УЛЬТРАСТРУКТУРНУ ХАРАКТЕРИСТИКУ РЕТИКУЛО-ЕПІТЕЛІАЛЬНИХ КЛІТИН ТИМУСУ ЩУРІВ

<sup>1</sup>Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, м. Київ,

<sup>2</sup>Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ

**Ключові слова:** тимус, мікромеркуріалізм, тіотриазолін, мілдронат, ретикуло-епітеліальні клітини.

**Ключевые слова:** тимус, микромеркуриализм, тиотриазолин, милдронат, ретикуло-эпителиальные клетки.

**Key words:** thymus, micromercurialism, thiotriazolin, mildronatum, reticulo-epithelial cells.

Досліджено вплив мікромеркуріалізму на ультраструктурну характеристику ретикуло-епітеліальних клітин тимусу білих щурів до і після застосування препарату протекторної дії тіотриазолін у комбінації з мілдронатом. Показано, що короткотривала інтоксикація викликає більш виражені, ніж довготривала, деструктивні зміни в цитоплазмі цих клітин. Комбіноване застосування препаратів сприяє нормалізації ультраструктурної організації компартментів ретикуло-епітеліальних клітин, особливо після короткотривалої інтоксикації.

Исследовано влияние микромеркуриализма на ультраструктурную характеристику ретикуло-эпителиальных клеток тимуса белых крыс до и после применения препарата протекторного действия тиотриазолин в комбинации с милдронатом. Показано, что кратковременная интоксикация вызывает более выраженные, чем долговременная, деструктивные изменения в цитоплазме этих клеток. Комбинированное применение препаратов способствует нормализации ультраструктурной организации компартментов ретикуло-эпителиальных клеток, особенно после кратковременной интоксикации.

The influence of micromercurialism on ultrastructural characteristic of reticulo-epithelial thymus cells of white rats before and after the use of protective drug thiotriazolin together with mildronatum was studied. It has been shown that short-term intoxication causes more prominent destructive changes in cytoplasm of these cells, compared to the long-term one. Combinatory application of these drugs favors normalization of ultrastructural organization of the reticulo-epithelial cells compartments, especially after short-term intoxication.

Не зважаючи на численні дослідження патогенезу токсичної дії ртуті, окреслена проблема ще далеко не вирішена. Особливо це стосується питання про механізм адаптації організму, в залежності від дози й часу дії солей ртуті й ефективних способів корекції інтоксикації [5]. Зокрема, не вивчено морфологічні зміни ретикуло-епітеліальних клітин за умов мікромеркуріалізму.

Між тим, тимус, в аспекті виконуваних функцій, є «загальною ланкою», або «перехрестям» імунної й ендокринної систем [6]. Він впливає на формування імунної та нейро-ендокринної систем, а впродовж усього життя прямо або опосередковано бере участь у фізіологічних і патологічних процесах, пов'язаних з цими системами [4]. До строми вилочкової залози належать кілька типів епітеліальних клітин, що, можливо, представляють різні гістогенетичні лінії. Серед них веретенноподібні клітини, що складають каркас кортикальної зони; округлі й полігональні клітини «плоскоепітеліального» типу й епітеліальні клітини з ознаками залозистого диференціювання, що локалізуються винятково в медулярній зоні [1,3].

У субкапсулярній зоні розташовані високоспеціалізовані епітеліальні клітини-«няньки», що мають глибокі вдавлення (кавеоли), в яких розташовуються малодиференційовані (молоді) Т-лімфоцити. Кавеоли додатково ізолюють Т-лімфоцити. Клітини-«няньки» відіграють роль трофічного забезпечення, контактної взаємодії з мембранами інших епітеліальних клітин, забезпечення комунікації з ретикуло-епітеліальними клітинами, стимулювання їх до диференціювання й виділення розчинних факторів – гормонів.

Морфологічна гетерогенність епітеліальних клітин строми

вилочкової залози пояснюється даними імуно-гістохімічних і ембріологічних досліджень, які свідчать про те, що кортикальний ретикуло-епітелій походить з ектодерми, а медулярний – з ентодерми третьої глоткової кишені [7].

Мережа епітеліальних клітин утворює петлі, в яких з різною мірою щільності залягають лімфоцити (тимоцити). У тимусі також виявляються ретикулярні клітини мезенхімального походження. Існує думка, що ці клітини мають великі функціональні й трансформативні можливості [2].

### МЕТА РОБОТИ

Встановлення ультраструктурних змін ретикуло-епітеліальних клітин під впливом малих доз сполук ртуті в коротко- й довготривалому експерименті до та після протекторної дії тіотриазоліну в комбінації з мілдронатом.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальні дослідження проведені на 30 білих щурах лінії Вістар масою 190–210 г, що були розподілені на 5 серій. У першій серії показники, що досліджувались, вивчали на інтактних тваринах (контрольна серія). У другій серії – при введенні хлориду ртуті в дозі  $1/100$  ЛД<sub>50</sub> внутрішньоочеревинним шляхом у кількості 10 введень протягом 2 тижнів (короткотривала інтоксикація). У третій серії – при введенні хлориду ртуті в дозі  $1/100$  ЛД<sub>50</sub> внутрішньоочеревинним шляхом у кількості 50 введень протягом 10 тижнів (довготривала інтоксикація). У четвертій серії здійснювали короткотривалу інтоксикацію з наступним застосуванням препарату «Тіотриазолін» у комбінації з «Мілдронатом». У п'ятій серії здійснювали довготривалу інтоксикацію з наступним введенням зазначених препаратів, які вводили внутрішньоочеревинним шляхом



10-разово протягом 2 тижнів, починаючи за два тижні до забою у дозі 10 мг на 1 кг маси.

Усіх тварин утримували у стандартних умовах віварію. Матеріал у експериментальних тварин отримували через 2 тижні після закінчення моделювання мікромеркуріалізму. Перед забором матеріалу тваринам вводили надлишкову дозу гексеналу (200 мг/кг).

Для досліджень шматочки тимусу подрібнювали до 1 мм<sup>3</sup> і фіксували в 2% розчині глютаральдегіду на фосфатному буфері при рН 7,2–7,4 протягом 18–24 год. Дофіксацію проводили в 1% розчині тетраокису осмія за Міллонінгом протягом 1 год, після чого дегідрували в етанолах з підвищенням концентрації 50–100° за методом [8]. Потім шматочки тканини обробляли ацетоном у суміші 1:1 з епоном 812 + аралдит М протягом 18–24 год. Після цього шматочки переносили в поліетиленові капсули з епоном 812 + аралдит М і полімеризували за температури 35; 45; 60°C протягом 12–18 год за кожної температури. Отримані блоки різали на ультрамікротомі ЛКБ – 8801А. Зрізи товщиною до 2000 Å фарбували толуїдиновим синім і розглядали під оптичним мікроскопом. У подальшому виготовляли ультратонкі зрізи товщиною 500–700 Å, переносили на електролітичні сіточки без підкладок, контрастували цитратом свинцю за Рейнольдсом і ураніл-ацетатом. Проглядання й фотографування зрізів проводили в електронному мікроскопі ЕМВ 100–АК при прискореній напрузі 75 кВ і збільшенні в діапазоні 8–30 тисяч разів.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При дослідженні часточок тимусу контрольних тварин виявлялися ретикуло-епітеліальні клітини з рівномірним розподілом гетерохроматину в ядрі, а в цитоплазмі, як правило, спостерігалися гранули секрету й мітохондрії з чітко контурованими кристами.

У кірковій і мозковій речовині тимусу за умов короткотривалої інтоксикації хлоридом ртуті цитоплазма ретикуло-епітеліальних клітин мала сітчасту будову, в ній

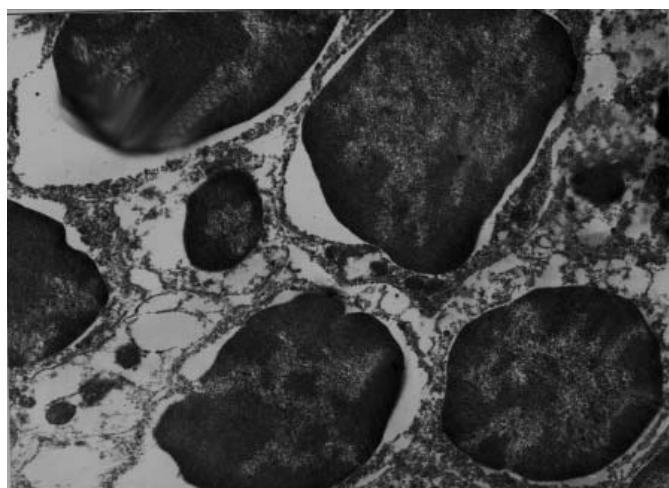


Рис. 1. Ділянка медулярної зони тимусу щура після короткотривалої інтоксикації хлоридом ртуті. Виявляються глибокі порушення ультраструктурної організації цитоплазми ретикуло-епітеліальних клітин і тимоцитів. Електроннограма, х 9500.

часто виявлялися лізосоноподібні утворення, а цитоплазма тимоцитів не мала щільних контактів (рис. 1).

Довготривала інтоксикація хлоридом ртуті викликала менш виражені деструктивні прояви в цитоплазмі ретикуло-епітеліальних клітин і тимоцитів. Виявлялися малих розмірів порожні вакуолі й гранули секрету (рис. 2). Це можна пояснити тим, що організм тварин адаптувався до довготривалої меркуріалізації.

Цікаво, що у мозковій речовині після короткотривалої інтоксикації виявлялися кровоносні капіляри з менш вираженими деструктивно-дистрофічними змінами ендотеліальних клітин, ніж після довготривалої інтоксикації.

Після короткотривалої інтоксикації солями ртуті й застосування препаратів протекторної дії в кірковій і мозковій речовині тимусу часто виявлялися ретикуло-епітеліальні клітини з чіткими контурами цитоплазматичних мембран з розрідженою цитоплазмою, в якій виявлялися мітохондрії з осміофільним матриксом, що свідчить про виражені енергетичні й метаболічні процеси й тимоцити з чіткою, без змін цитоплазмою й мітохондріями. У ядрі еухроматин переважав над гетерохроматином (рис. 3).

У мозковій речовині тимусу щурів після довготривалої інтоксикації хлоридом ртуті й застосування препаратів «Тіотриазолін» і «Мілдронат» виявлялися клітини-«няньки» з непошкодженими мітохондріями й великою кількістю вільних рибосом і рибосомальних розеток (рис. 4), що свідчить про виражені метаболічні й синтетичні процеси. Тимоцити щільно контактували з цитоплазматичною мембраною клітин-«няньок» і мали рівномірне розміщення еу- й гетерохроматину в ядрі. Отже, застосування препаратів «Тіотриазолін» і «Мілдронат» сприяє нормалізації ультраструктурної організації ретикуло-епітеліальних клітин, у тому числі клітин-«няньок».

### ВИСНОВКИ

1. Короткотривала інтоксикація хлоридом ртуті викликає більш виражені ультраструктурні деструктивно-дистрофічні

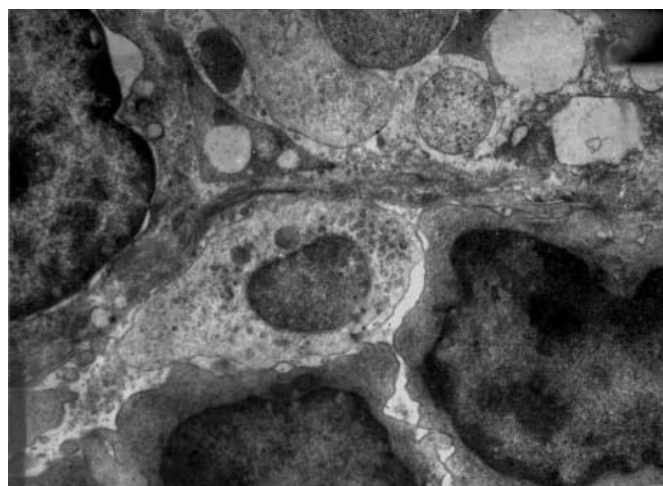


Рис. 2. Ділянка медулярної зони тимусу щура після довготривалої інтоксикації хлоридом ртуті. Незначні деструктивні зміни в цитоплазмі ретикуло-епітеліальних клітин і тимоцитів. Виявляються вакуолі малих розмірів і гранули секрету. Електроннограма х 9500.

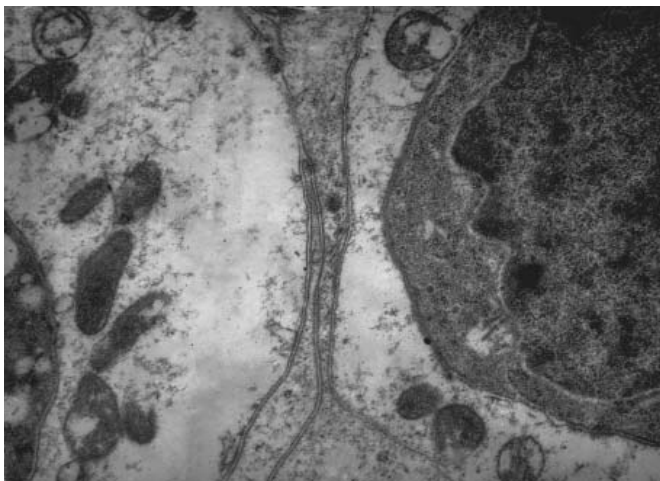


Рис. 3. Ділянка мозкової речовини тимусу щура після короткотривалої інтоксикації хлоридом ртуті й застосування препаратів протекторної дії. Цитоплазматичні мембрани ретикуло-епітеліальних клітин з чіткими контурами, а в цитоплазмі виявляються осміофільні мітохондрії. В цитоплазмі тимоцитів мітохондрії мають чіткі кристи, в ядрі переважає еухроматин. Електронограма,  $\times 11000$ .

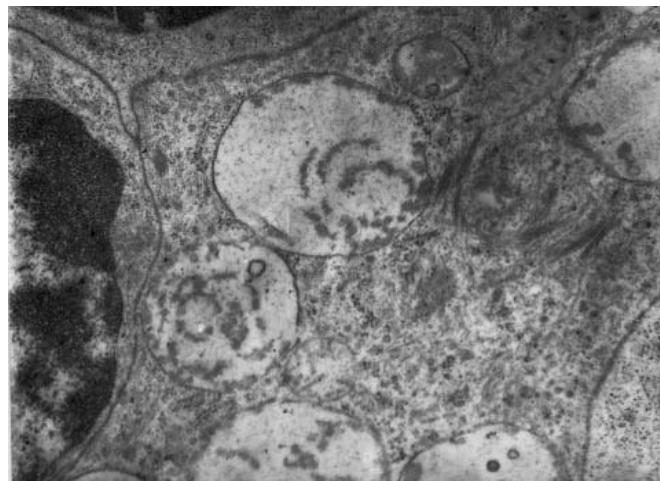


Рис. 4. Ділянка мозкової речовини тимусу щура після довготривалої інтоксикації хлоридом ртуті й застосування препаратів протекторної дії. Цитоплазматичні мембрани клітин-«няньок» з чіткими контурами, в цитоплазмі виявляються непошкоджені мітохондрії та велика кількість вільних рибосом і рибосомальних розеток. У цитоплазмі тимоцитів мітохондрії мають чіткі кристи, в ядрі переважає еухроматин. Електронограма,  $\times 11000$ .

зміни в цитоплазмі ретикуло-епітеліальних клітин різних зон тимусу, ніж довготривала.

2. Кровоносні капіляри при довготривалій інтоксикації хлоридом ртуті мають більш виражені ультраструктурні зміни ендотеліальних клітин, ніж при короткотривалій.

3. Виявляється виражена дія препаратів на нормалізацію ультраструктурних показників ретикуло-епітеліальних клітин, в тому числі й клітин-«няньок», за умов короткотривалої та довготривалої інтоксикації хлоридом ртуті.

В подальших дослідженнях буде здійснено аналіз морфофункціональних змін у клітинних елементах центральних і периферійних органів імунної системи до й після мікромеркуріалізації та під впливом інших фармакологічних препаратів і їх комбінацій.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Болезни вилочковой железы / В.П. Харченко, Д.С. Саркисов, П.С. Ветшев [и др.] – М.: Триада-Х, 1998. – 231 с.

2. Ветшев П.С. Диагностика пораженной вилочковой железы при генерализованной миастении / П.С. Ветшев, Л.И. Воронов, А.П. Соколов // Хирургия. – 2001. – №10. – С. 143.

3. Галил-Оглы Г.А. Сравнительная ультраструктурная характеристика эпителиальных клеток паренхимы вилочковой железы и тимом / Г.А. Галил-Оглы, Я.Х. Ингберман, А.М. Берцанская // Архив патологии. – 1998. – №9. – С. 51–59.

4. Зайратьянц О.В. Патология вилочковой железы и аутоиммунные болезни: дис. ... д-ра мед. наук / О. В. Зайратьянц. – М., 1998. – С. 5–15.

5. Сидорин Г.И. Ртуть как ксенобиотик (обзор литературы) / Г.И. Сидорин // Вестник Санкт-Петербургской Гос. мед. академии им. И.И. Сеченова. – 2001. – №1 (2). – С. 78–86.

6. Содержание гормонов тимуса и аутоантител к его эпителиальным клеткам в сыворотке крови больных тимомой и миастенией / Н.И. Шарова, А.А. Ярилин, Е.С. Шумилина [и др.] // Иммунология. – 2005. – №5. – С. 50–52.

7. Castro C.Y. Cytology and surgical pathology of the mediastinum / C.Y. Castro, D.C. Chieng // Adv. Exp. Med. Biol. – 2005. – Vol. 563. – P. 42–54.