

УДК 616.438:616-002-092.9-091.8

С.В. Татарко

Харьковский национальный медицинский университет

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТИМУСА ПРИ РАЗНЫХ ПО ТЕЧЕНИЮ И ЭТИОЛОГИИ ВИДАХ ВОСПАЛЕНИЯ

На моделях разных по течению и этиологии видов воспаления (острое инфекционное, вторичное и первично хроническое гранулематозное, хроническое иммунное) у крыс с помощью гистологических, гистохимических и иммуногистохимических методов исследования изучено морфофункциональное состояние тимуса. При хроническом воспалении происходит более выраженная активация тимуса, чем при остром. В то время как при остром процессе отмечается временная акцидентальная трансформация тимуса, при хроническом воспалении также развивается персистирующая гиперплазия. При остром воспалении в тимусе возрастает хелперная активность, при хроническом процессе увеличивается супрессорная активность. При всех видах воспаления усиливается миграция В-лимфоцитов в тимус, особенно при остром процессе. Макрофагальная реакция возрастает лишь при первично хроническом неиммунном и остром воспалении.

Ключевые слова: *воспаление, тимус, гистологическая структура, иммуногистохимический статус лимфоидной популяции.*

Воспаление остается одной из основных проблем современной теоретической и практической медицины. При этом острые воспалительные процессы чаще, чем ранее, принимают затяжное течение, и возрастает количество первично хронических воспалительных заболеваний, что, по-видимому, связано с ухудшением экологической ситуации и снижением общей и иммунологической реактивности под неблагоприятным воздействием факторов внешней среды [1–3].

Количество исследований, посвященных состоянию иммунной системы при воспалении, как остром, так и хроническом, особенно в клинике, огромно, поскольку возникновение, развитие, течение и исход воспаления определяются прежде всего реактивностью организма, главным образом иммунологической [4–6]. При этом, естественно, в основном базируются на изменениях иммунологических показателей периферической крови. Однако первоочередной интерес представляют события в органах иммунной системы, что можно исследовать в основном экспериментально или патоморфологически.

Теоретический и практический интерес представляет изучение особенностей морфофункционального состояния тимуса при разных по течению воспалительных процессах.

Цель данного исследования – изучить морфофункциональное состояние тимуса при разных по течению и этиологии видах воспаления у крыс.

Материал и методы. Опыты поставлены на 246 крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г. Острое инфекционное воспаление вызывали введением в область бедра суточной культуры *Staphylococcus aureus*, штамм АТСС-25923, содержащей 2 млрд микробных тел в 1 мл изотонического раствора хлорида натрия [7]. Вторично хроническое воспаление вызывали подкожным введением в область бедра 5 мг λ-карагинена (Sigma, США) в 1 мл изотонического раствора натрия хлорида [8]. Первично хроническое неиммунное (гранулематозное) воспаление вызывали введением в область бедра сефадекса А-25 в дозе 1 мг в 1 мл изотонического раствора натрия хлорида [9]. Первично хроническое иммунное воспаление типа адьювантного артрита вызывали субплантарным введением полного адьюванта Фрейнда в дозе 0,1 мл [10].

Начиная с 6-го часа и по 28-е сутки воспаления кусочки тканей тимуса фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, затем подвергали стандартной проводке через спирты возрастающей концентрации, после чего заливали парафином. Из пригото-

© С.В. Татарко, 2014

ленных таким образом блоков делали серийные срезы толщиной 4–5 мкм. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином и использовали в дальнейшем для общей оценки гистоструктуры и фукселемом на эластические волокна по Вейгерту с докрасиванием пикрофусином по методу ван Гизон для выявления и дифференцировки соединительнотканых структур. Окраску по Маллори осуществляли для выявления как склеротических изменений, так и альтерации.

Комплекс гистохимических реакций использовали для изучения особенностей метаболизма в клетках и тканях тимуса. ШИК (PAS)-реакцию по Мак Манусу–Хочкису (контроль с амилазой) использовали для идентификации нейтральных мукополисахаридов, Хейл-реакцию с толуидиновым синим – для идентификации гликозаминопротеогликанов (контроль по В.В. Виноградову и Б.Б. Фиксу), реакцию Браше – для идентификации РНК (контроль с кристаллической рибонуклеазой), реакцию Фельгена – Россенбека – для определения ДНК (контроль – гидролиз соляной кислотой). Гистологические и гистохимические методики выполняли по прописям, изложенным в руководствах по гистологической технике и гистохимии [11, 12].

Микропрепараты изучали на микроскопе Olympus BX-41 (Япония). Количественную морфометрическую оценку осуществляли с помощью компьютерного цитоанализатора «Olympus», окуляр-микрометра АМ9-2 и сетки Автандилова. Для характеристики компонентов исследуемых органов на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, с помощью сетки Автандилова определяли средние относительные объемы коркового и мозгового вещества тимуса [13]. Кроме того, в коре и мозговом веществе тимуса при $\times 400$ определяли плотность клеток в 1 мм^2 площади среза.

Иммуногистохимические исследования проводили на парафиновых срезах толщиной 5–6 мкм прямым методом Кунса по методике Brosnan [14]. Иммунные клетки дифференцировали с помощью крысиных моноклональных антител (Serotec, Великобритания) к различным типам клеток. Использовали антитела к CD3 (общие Т-лимфоциты), CD4 (Т-лимфоциты-хелперы), CD8 (Т-лимфоциты-супрессоры), CD45RA (В-лимфоциты), ED1 (макрофаги),

а также к клеткам-продуцентам иммуноглобулинов Е, G и М. Коллагены типировали моноклональными антителами к коллагенам I, III и IV типов (Novocastra Laboratories Ltd., Великобритания). В качестве люминесцентной метки использовали F(ab)-2 – фрагменты кроличьих антител против иммуноглобулинов мыши, меченных ФИТЦ. Препараты изучали в люминесцентном микроскопе ЛЮМАМ-2 с использованием светофильтров ФС-1-2, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3. Относительные объемы основных клонов иммунных клеток определяли с помощью сетки Автандилова [13]. Также подсчитывали иммунорегуляторный индекс (ИРИ) – отношение относительного объема CD4⁺-клеток к относительному объему CD8⁺-клеток (CD4/CD8).

Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента [15].

Результаты и их обсуждение. При сопоставлении изученных параметров на всех четырех моделях воспаления, которые отражают его хронизацию в процессе и в зависимости от этиологии, обнаруживается, что плотность тимоцитов в коре тимуса до двух суток практически не отличается как от таковой в контроле, так и между видами воспаления, а в дальнейшем при остром и хроническом воспалении обнаруживаются разнонаправленные изменения.

В первом случае клеточность коры тимуса постепенно сначала снижается с минимумом на 10-е сутки, а затем восстанавливается к 28-м суткам. В трех остальных случаях клеточность возрастает. При этом в меньшей степени она увеличивается при вторично хроническом воспалении, где достигает максимума на 10-е сутки и затем постепенно возвращается к исходной, хотя и остается повышенной на 28-е сутки. В большей степени клеточность коры тимуса возрастает при первично хроническом воспалении. При этом при иммунном воспалении она заметно увеличивается уже к 3-м суткам и затем постепенно нарастает к 28-м суткам. При неиммунном она, постепенно увеличиваясь, заметно отстает от таковой при иммунном до седьмых суток, затем возрастает более резко к 10-м суткам и начинает преобладать над таковой при иммунном до конца эксперимента (до 28-х суток), но с 10-х и до 28-х суток находится практически

на одном уровне, то есть разница в ней при этих видах воспаления постепенно сокращается.

Плотность тимоцитов в мозговом веществе возрастает начиная со 2-х – 3-х суток во всех случаях. При остром воспалении она повышается временно, в основном на 5-е – 10-е сутки и к 28-м возвращается к исходной. При хроническом воспалении она остается увеличенной и на 28-е сутки. При этом ее динамика аналогична таковой в коре тимуса.

Из сказанного следует, что при остром воспалении происходит временная выраженная акцидентальная трансформация тимуса, то есть уменьшение клеточности в коре связано с миграцией тимоцитов в мозговое вещество. При этом уменьшение клеточности в коре выражено больше, чем ее увеличение в мозговом веществе, что указывает на то, что снижение количества тимоцитов в коре также связано с миграцией их в кровь и, по-видимому, с усилением апоптоза. При хроническом же воспалении одновременное увеличение плотности тимоцитов и в коре, и в мозговом веществе указывает на усиление их пролиферации. Гиперплазия в большей степени наблюдается в коре, чем в мозговом веществе. Наименее она выражена при вторично хроническом воспалении, хотя и развивается быстрее, чем при первично хроническом. При последнем она выражена наиболее. Быстрее всего гиперплазия развивается при иммунном воспалении.

Таким образом, при остром воспалении в тимусе преобладает акцидентальная трансформация, а при хроническом – гиперплазия. Последняя более выражена в коре, чем в мозговом веществе. Она быстрее развивается при вторично хроническом воспалении, чем при первично хроническом и при иммунном, чем при неиммунном, и наиболее выражена при первично хроническом воспалении. Следовательно, при хронизации воспаления в тимусе быстро развивается и нарастает гиперплазия, а при иммунном воспалении она развивается еще быстрее.

Сказанное подтверждается показателями относительных объемов коры и мозгового вещества тимуса. При остром воспалении относительный объем коры уменьшается, а мозгового вещества увеличивается, а при хроническом воспалении – наоборот. В последних случаях изменения выражены в такой

степени: вторично хроническое воспаление < первично хроническое < иммунное.

При иммуногистохимических исследованиях тимуса установлено, что относительный объем CD3⁺-клеток при остром воспалении постепенно сначала снижается с минимумом на 7-е сутки а затем восстанавливается к 28-м суткам; при хроническом колеблется менее значительно; при вторично хроническом воспалении в основном в сторону уменьшения, при первично хроническом – равно в обе стороны, при иммунном – преимущественно в сторону увеличения.

Относительный объем CD4⁺-клеток при остром воспалении постепенно сначала возрастает с максимумом на 1-е и 5-е – 7-е сутки, а затем возвращается к исходному на 21-е сутки; при вторично хроническом воспалении снижается с минимумом на 14-е сутки, при первично хроническом фазно повышается на 3-и-5-е и 21-е сутки, при иммунном снижается на 5-е – 7-е и 21-е сутки.

Относительный объем CD8⁺-клеток изменяется в обратном направлении.

ИРИ, соответственно, увеличивается при остром воспалении (достоверно на 1-е и 5-е – 7-е сутки), в основном снижается при вторично хроническом воспалении (достоверно на 7-е – 21-е сутки), незначительно колеблется в обе стороны при первично хроническом воспалении и особо снижается при иммунном воспалении (достоверно с 3-х по 28-е сутки с минимумом на 5-е).

Таким образом, содержание CD3⁺-клеток в тимусе заметно уменьшается при остром воспалении, несколько при вторично хроническом, колеблется в обе стороны при первично хроническом и увеличивается при иммунном.

Более информативным является содержание CD4⁺- и CD8⁺-клеток. Как и в норме, во всех случаях преобладает хелперная активность, однако еще больше она преобладает при остром воспалении и меньше при вторично хроническом и особенно иммунном воспалении, то есть в двух последних случаях нарастает супрессорная активность. При первично хроническом воспалении ИРИ в динамике меняется мало и равно колеблется в обе стороны.

Следовательно, при обычном течении воспаления возрастает хелперная активность, при формирующемся необычным и особенно при иммунном воспалении – супрессорная.

Относительный объем CD45RA⁺-клеток в тимусе увеличивается при всех видах воспаления, особенно при остром. При хроническом воспалении он выглядит следующим образом: первично хроническое иммунное > вторично хроническое > первично хроническое неиммунное. Иными словами, миграция В-клеток из крови в тимус особенно усиливается при остром воспалении, но наблюдается также и при хроническом, при этом ее выраженность прямо зависит от степени вовлечения иммунной системы в целом в процесс.

Относительный объем ED1⁺-клеток в тимусе особенно возрастает при первично хроническом воспалении и практически во все сроки (достоверно с 1-х по 28-е сутки). Значительно он также увеличивается при остром воспалении (достоверно на 2-е и с 5-х по 28-е сутки с пиком на 7-е). При вторично хроническом воспалении он в основном несколько снижается, а при иммунном в равной степени колеблется в обе стороны. Таким образом, увеличение количества макрофагов в тимусе прямо зависит от степени вовлечения макрофагальной системы в патогенез воспаления.

Как известно, гранулематозное воспаление является в основном макрофагальным; при вторично хроническом воспалении моноцитарно-макрофагальная реакция в очаге значительно усилена по сравнению с острым, по видимому, прежде всего компенсаторно, ввиду недостаточности нейтрофильной реакции, а при первично хроническом иммунном воспалении лимфоцитарная реакция преобладает над макрофагальной [16–18].

Экспрессия IgE⁺-клеток при остром воспалении отсутствовала в контроле и в период с 6-го часа по 7-е сутки, а в дальнейшие сроки исследования обнаруживались следы IgE. В то же время по мере хронизации воспаления IgE⁺-клетки появлялись раньше и в большем количестве. Так, при вторично хро-

ническом воспалении они обнаруживались с 10-х до 28-х суток с пиком на 21-е, при первично хроническом – с 5-х до 28-х суток с пиком на 10-е – 14-е, при иммунном – с 1-х до 28-х суток с двумя максимумами – на 5-е – 7-е и на 28-е. Следует заметить, что при иммунном воспалении относительный объем IgE⁺-клеток был заметно выше, чем при неиммунном.

Относительный объем IgG⁺-клеток при всех видах воспаления, за исключением первично хронического, сначала снижался на 6-й ч – 1-е сутки, а затем возвращался к исходному на 2-е сутки. В последующие сроки динамика была различной. При остром воспалении он был достоверно повышен на 3-и – 5-е и 14-е – 28-е сутки с пиком на 28-е, тогда как при вторично хроническом практически не отличался от контроля, кроме повышения на 14-е сутки. В то же время при иммунном воспалении повышение отмечалось с 3-х по 14-е сутки с пиками на 5-е и 10-е, тогда как при неиммунном увеличение начиналось раньше (на 1-е – 3-и сут) и держалось дольше – до 28-х суток.

Что касается относительного объема IgM⁺-клеток, то при остром и первично хроническом воспалении его повышение отмечалось с первых и до 28-х суток, тогда как при вторично хроническом и хроническом иммунном – с 5-х до 28-х суток. Важным представляется то, что наибольшие значения относительного объема IgM⁺-клеток наблюдаются при остром воспалении, а при хроническом они значительно меньше.

Таким образом, на основании исследования иммуноглобулинпродуцирующих клеток можно сделать вывод, что количество IgE⁺-клеток значительно больше при хроническом, особенно иммунном, воспалении, чем при остром, тогда как содержание IgG⁺- и особенно IgM⁺-клеток – наоборот (табл. 1). Эти

Таблица 1. Сравнительное содержание иммуноглобулинпродуцирующих клеток в тимусе в процессе хронизации воспаления

Воспаление	Тимус		
	Е	G	M
Острое	0	+++	+++**
Вторично хроническое	+	+	++
Первично хроническое неиммунное	++	++*	+++
Первично хроническое иммунное	+++	++	++

Примечание. * выше, чем при первично хроническом иммунном воспалении; ** чем при первично хроническом неиммунном воспалении.

отличия, видимо, связаны с уменьшением участия В-клеточного компонента и нарастанием роли Т-клеточного в клеточных реакциях в тимусе (табл. 2).

соотношения пролиферации и миграции лимфоцитов и выглядит так: первично хроническое неиммунное воспаление > первично хроническое иммунное > вторично хроническое.

Таблица 2. Выраженность реакций гуморального и клеточного иммунитета в тимусе и их соотношение в процессе хронизации воспаления

Воспаление	Иммунитет в тимусе	
	гуморальный	клеточный
Острое	++++	+
Вторично хроническое	++	++
Первично хроническое неиммунное	+	+++*
Первично хроническое иммунное	+++	+++

Примечание. * более поздняя активация, чем при первично хроническом иммунном воспалении.

Гуморальные иммунные реакции в тимусе наиболее выражены при остром воспалении. Клеточные иммунные реакции в тимусе, напротив, наименее выражены при остром воспалении. В то же время при вторично хроническом воспалении они выражены наименее среди всех исследованных видов хронического воспаления, что, по-видимому, обусловлено значительной миграцией Т-клеток из тимуса в кровь и далее в очаг при вторично хроническом воспалении и является компенсаторной реакцией, направленной на предупреждение хронизации воспаления.

Выводы

1. При хроническом воспалении происходит более выраженная активация тимуса, чем при остром, в то время как при остром процессе отмечается лишь временная акцидентальная трансформация тимуса. При хроническом воспалении также развивается персистирующая гиперплазия, что обеспечивает больший объем миграции лимфоцитов в кровь и очаг. Выраженность гиперплазии зависит от

2. В то время как при остром воспалении по сравнению с нормой в тимусе снижается содержание CD3⁺-клеток (Т-лимфоцитов) и возрастает хелперная активность (содержание CD4⁺-лимфоцитов), при хроническом воспалении увеличивается количество CD3⁺-клеток и супрессорная активность (количество CD8⁺-лимфоцитов).

3. При всех видах воспаления усиливается миграция В-лимфоцитов (CD45RA⁺-клеток) в тимус, особенно при остром процессе. При хроническом воспалении ее выраженность прямо зависит от степени вовлечения иммунной системы в целом в процесс: первично хроническое иммунное воспаление > вторично хроническое > первично хроническое неиммунное.

4. Макрофагальная реакция (содержание ED1⁺-клеток) в тимусе возрастает лишь при первично хроническом неиммунном и остром воспалении, то есть в основном зависит от степени вовлечения макрофагальной системы в патогенез воспаления.

Литература

1. Clavel T. Molecular interactions between bacteria, the epithelium, and the mucosal immune system in the intestinal tract: implications for chronic inflammation / T. Clavel, D. Haller // Curr. Issues Intest. Microbiol. – 2007. – Vol. 8, № 2. – P. 25–43.
2. Нагорнев В.А. Атерогенез как отражение иммунного воспаления в сосудистой стенке / В.А. Нагорнев, О.А. Яковлева, С.В. Мальцева // Вестник РАМН. – 2000. – № 10. – С. 45–50.
3. Физиология иммунной системы и экология / В.А. Черешнев, Н.Н. Кеворков, Б.А. Бахметьев [и др.] // Иммунология. – 2001. – № 3. – С. 12–16.
4. Кеворков Н.Н. Экологическая иммунология: реальность и перспективы / Н.Н. Кеворков, Б.А. Бахметьев, С.В. Ширшев // Вестник Уральск. мед. академ. науки. – 2004. – № 4. – С. 36–42.
5. Регада М.С. Запалення – типовий патологічний процес : довідник / М.С. Регада. – Львів : Сполом, 2005. – 53 с.
6. Романюха А.А. Иммунная система: норма и адаптация / А.А. Романюха // Иммунология. – 2009. – № 1. – С. 7–13.

7. Чернух А.М. Инфекционный очаг воспаления / А.М. Чернух. – М.: Медицина, 1965. – 323 с.
8. Клименко Н.А. Роль лейкоцитов в реакции тучных клеток очага воспаления / Н.А. Клименко // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1993. – Т. 116, № 9. – С. 249–253.
9. Экспериментальная модель неинфекционного гранулематоза легких / О.В. Макарова, В.Л. Ковалева, А.С. Сладкопечев [и др.] // Пульмонология. – 1996. – № 1. – С. 76–79.
10. Чернух А.М. Воспаление: очерки патологии и экспериментальной терапии / А. М. Чернух. – М.: Медицина, 1979. – 448 с.
11. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники / Г. А. Меркулов. – Л. : Медгиз, 1961. – 340 с.
12. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли. – М. : Мир, 1969. – 648 с.
13. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Г.Г. Автандилов. – М. : Медицина, 2002. – 240 с.
14. Brosman M. Immunofluorescence vysetrovanie formalinovego materialu / M. Brosman // Čes. Patol. – 1979. – Vol. 15, № 4. – P. 215–220.
15. Кулаичев А.П. Методы и средства анализа данных в среде Windows STADIA / А.П. Кулаичев. – М. : Информатика и компьютеры, 1999. – 341 с.
16. Маянский Д.Н. Хроническое воспаление / Д.Н. Маянский. – М.: Медицина, 1991. – 272 с.
17. Семинский И.Ж. Особенности клеточных реакций в очагах воспаления разной этиологии. Факторы, механизмы и критерии хронизации воспаления / И.Ж. Семинский, А.А. Майборода // Журнал инфекционной патологии. – 2000. – Т. 7, № 3–4. – С. 33–38.
18. Клименко Н.А. Гематологические механизмы хронизации воспаления / Н.А. Клименко, А.Н. Шевченко. – Харьков, 2010. – 89 с.

С.В. Татарко

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ТИМУСА ПРИ РІЗНИХ ЗА ТЕЧІЄЮ ТА ЕТІОЛОГІЄЮ ВИДАХ ЗАПАЛЕННЯ

На моделях різних за течією та етіологією видів запалення (гостре інфекційне, вторинно і первинно хронічне гранулематозне, хронічне імунне) у щурів за допомогою гістологічних, гістохімічних та імуногістохімічних методів дослідження вивчено морфофункціональний стан тимуса. При хронічному запаленні відбувається більш виражена активація тимуса, ніж при гострому. В той час як при гострому процесі відмічається лише тимчасова акцидентальна трансформація тимуса, при хронічному запаленні також розвивається персистувальна гіперплазія. При гострому запаленні в тимусі зростає хелперна активність, при хронічному процесі збільшується супресорна активність. При всіх видах запалення підсилюється міграція В-лімфоцитів у тимус, особливо при гострому процесі. Макрофагальна реакція зростає лише при первинно хронічному неімунному і гострому запаленні.

Ключові слова: запалення, тимус, гістологічна структура, імуногістохімічний статус лімфоїдної популяції.

S.V. Tatarko

MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THYMUS AT DIFFERENT TYPES OF INFLAMMATION BY ETIOLOGY AND COURSE

On different models of inflammation by etiology and course, an acute infectious, secondary chronic, primary chronic non-immune and primary chronic immune in rats we studied morphofunctional state of thymus using histological, histochemical and immunohistochemical methods. At chronic inflammation activation of the thymus occurs more pronounced than at acute inflammation. While temporary accidental thymus transformation is noted at acute inflammation, at chronic inflammation we also observed persistent hyperplasia. At acute inflammation in the thymus T-helper activity was increased and at chronic inflammation increases T-suppressor activity was increased. At all types of inflammation we noted enhanced migration of B-lymphocytes to the thymus, especially at acute inflammation. Macrophage reaction was increased only at the primary non-immune chronic and acute inflammation.

Key words: inflammation, thymus, histological structure, immunohistochemical status of lymphoid populations.

Поступила 27.08.14