

УДК 591.443-1:591.044. 618.29

В.Г. Ковешников

д. мед. н.

Е.Ю. Бибик

к. мед. н.

Луганский государственный медицинский университет

**МОРФОГЕНЕЗ ТИМУСА БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНОЙ
ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРТЕРМИИ В СОЧЕТАНИИ С ФИЗИЧЕСКОЙ
НАГРУЗКОЙ**

Были изучены основные особенности морфофункциональных изменений тимуса крыс после 60-дневного воздействия экстремальной хронической гипертермии (44-45°C по 5 часов ежедневно) на фоне физических нагрузок. Установлены существенный дефицит массы этого первичного лимфоидного органа, инверсия слоев коркового и мозгового вещества, резкая депрессия кортико-медуллярного индекса, усугубляющаяся к более поздним срокам исследования. Выявлены стойкие и необратимые дефекты микроорганизации тимуса крыс, что требует адекватной рациональной медикаментозной коррекции.

Актуальность темы

В настоящее время на производстве организм человека подвергается влиянию различных неблагоприятных факторов, что не может не сказываться на его иммунореактивности и частоте встречаемости инфекционной, аллергологической, ревматологической и онкологической патологий у трудящихся [4, 5]. В этой связи экспериментальные исследования, направленные на изучение морфологических особенностей функционирования органов иммунной системы в условиях, максимально приближенным к производственным, весьма ценны и актуальны [1, 3].

В ранее проведенных нами исследованиях были изучены структурно-функциональные изменения первичного лимфоидного органа – тимуса крыс после воздействия на них различных режимов хронической экзогенной гипертермии. Поскольку для региона Донбасса характерным производственным фактором является работа в условиях микроклимата глубоких угольных шахт, актуальным нам видится изучение морфологических реакций тимуса на повышение температуры окружающей среды при мышечной работе [2,6].

Связь работы с научными программами, планами, темами: работа является фрагментом НИР Луганского государственного медицинского университета „Влияние хронической гипертермии и физической нагрузки на морфогенез органов иммунной, эндокринной и костной систем организма” (государственный регистрационный номер 0107U004485).

Целью настоящего исследования было выявить особенности морфогенеза тимуса белых крыс при хроническом гипертермическом воздействии, усугубленном интенсивной физической нагрузкой.

Объекты и методика исследований

Объектом исследования служили 54 белых беспородных крыс-самцов репродуктивного возраста массой 185–235 г. Экспериментальные животные были равномерно распределены на 2 группы: I гр. – группа ложноперегреваемых животных (контроль); II гр. – крысы, которые на протяжении 60 суток ежедневно по 5 часов подвергались воздействию экстремальной общей хронической гипертермии при температуре 44–45°C на фоне динамической физической нагрузки (плавание крыс до появления признаков утомления). Крыс выводили из эксперимента соответственно на 1, 7, 15, 30 и 60 сутки после окончания 60-дневного курса хронического воздействия экстремальной гипертермии и физических нагрузок. Во время эксперимента крысы содержались в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (Страцбург, 1986) и «Общими этическими принципами экспериментов на животных», утвержденными I Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001).

Сразу после забоя подопытных животных из их грудной полости извлекали тимус, тщательно очищали от окружающей ткани, взвешивали на торсионных весах, измеряли и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Парафиновые серийные топографические срезы толщиной 3–5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизон и по способу Маллори.

Детали гистологического строения срезов лимфоидных органов изучали с помощью микроскопа Olympus BX 41, используя объективы Plan 4x ∞/-, Plan 10x x/0,25, Plan 40 x x/0,65, ∞/0,17. Морфометрическое исследование объектов проводили на компьютерном комплексе, в состав которого входят: микроскоп Olympus BX 41, цифровой фотоаппарат Olympus C 5050Z с пяти мегапиксельной матрицей, соединенные с микроскопом системой адаптеров этой же фирмы.

Полученные цифровые изображения загружали в оригинальную компьютерную программу «Morpholog» [5]. Измеряли относительные площади капсулы и трабекул, коркового и мозгового веществ, вычисляли корково-медулярный индекс, количество телец Гассала. Клеточный состав и плотность популяции клеток определяли на единице площади среза (9000 мкм²) в корковом и мозговом веществе тимуса. Данные морфометрического исследования экспортировали в программу Excel для статистической обработки.

Результаты исследований

Пребывание подопытных животных в условиях экстремального хронического гипертермического воздействия на фоне физической нагрузки в течение 60 суток привело к тому, что масса тела крыс на момент завершения эксперимента уменьшилась на 20,5% по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе.

Анализ органомерических данных показал, что у крыс второй группы, достоверно уменьшалась абсолютная масса тимуса, его общий объем, длина

правой и левой долей, толщина и ширина органа во все сроки наблюдения (табл.1). Эти животные имели тимус значительно меньших размеров. Дефицит абсолютной массы вилочковой железы крыс изучаемой группы по сравнению с контролем к моменту окончания срока эксперимента составил 44%. При дальнейшем ходе наблюдения этот дефицит прогрессировал, через 2 месяца масса тимуса животных этой группы уменьшилась вдвое. Подобная картина была нами выявлена и с объемом тимуса. Изучаемые нами линейные показатели первичного лимфоидного органа крыс второй группы имели достоверно ($P < 0,001$) низкие значения.

Таблица 1. Динамика изменений органомерических показателей тимуса половозрелых крыс после воздействия экстремальной хронической гипертермии на фоне физических нагрузок (n=6)

Группа	Сутки	Абсолютная масса (г)	Объем тимуса (мкл)	Длина левой доли (мм)	Длина правой доли (мм)
I	1	243,5±10,6	430±30,9	19±0,24	16±0,15
	7	239,1±9,8	424±28,6	19±0,21	16±0,14
	15	242,2±10,8	428±27,7	18±0,17	16±0,16
	30	240,9±11,1	429±26,2	18±0,20	15±0,15
	60	238,9±9,71	423±28,5	19±0,23	16±0,13
II	1	136,6±8,4*	247±1,9*	11±0,08*	7,9±0,08*
	7	125,5±13,7*	247±2,1	11±0,10	7,5±0,07
	15	123,3±12,9*	243±1,9	11±0,12	7,5±0,06
	30	120,8±11,2*	244±2,5	10±0,13	7,2±0,09
	60	118,9±10,4*	239±2,6	10±0,10	7,1±0,08

Примечание: * – достоверно ($P < 0,001$) по сравнению с контрольной группой

На гистологических срезах тимуса крыс после экстремальной хронической гипертермии и физических нагрузок отмечалось уменьшение площади долек, отсутствие четкой границы между корковым и мозговым веществом в них, уменьшение по сравнению с контролем адипоцитарной инфильтрации стромальных элементов во все сроки наблюдения (рис.).

При оценке морфометрических показателей тимуса выявлено, что площадь коркового вещества после окончания экзогенного влияния на организм подопытных животных сочетавшего воздействие физических факторов экстремальной степени выраженности регрессировала в 1,7 раза. Со временем этот процесс не останавливался, достигая уменьшения в 1,9 раза к 60 суткам наблюдения за животными (табл. 2).

Параллельно с существенным уменьшением площади, приходящейся на корковое вещество на серийных топографических срезах тимуса крыс второй группы по сравнению с контролем, мы обнаружили возрастание площади мозгового вещества. В тимической дольке оно превалировало, что привело к

достоверно ($P < 0,001$) значимой существенной (в 3 раза) депрессии кортико-медулярного индекса.



Рис. Тимус крысы второй группы на 30 сутки после окончания воздействия экстремальной хронической гипертермии и физических нагрузок. Гематоксилин-эозин.

Приближение: Zoom 162. Объектив: Plan 10^x ∞/-

Таблица. 2 Динамика изменений морфометрических показателей тимуса половозрелых крыс после воздействия экстремальной хронической гипертермии на фоне физических нагрузок (n=6)

Группы	Сутки	Площадь капсулы и трабекул	Площадь коркового вещества	Площадь мозгового вещества	Кортико-медулярный индекс
I	1	13,43±0,087	59,67±3,16	26,90±1,12	2,21±0,019
	7	12,95±0,094	60,02±3,35	27,03±1,16	2,22±0,017
	15	12,88±0,091	60,07±3,26	27,10±1,21	2,22±0,019
	30	13,13±0,086	59,89±3,19	26,87±1,17	2,23±0,017
	60	12,89±0,090	59,80±3,21	26,89±1,19	2,23±0,019
II	1	19,84±0,219	35,50±0,38*	44,66±0,468*	0,80±0,009*
	7	22,53±0,194*	32,55±0,30*	44,92±0,464*	0,72±0,006*
	15	20,62±0,192*	32,41±0,29*	46,97±0,398*	0,69±0,007*
	30	20,15±0,167*	31,98±0,31*	47,87±0,374*	0,69±0,007*
	60	21,94±0,215*	31,26±0,38*	46,80±0,460*	0,67±0,006*

Примечание: * – достоверно ($P < 0,001$) по сравнению с первой группой

В обеих структурно-функциональных зонах коркового вещества резко уменьшается плотность клеточных элементов. Количество представителей лимфоидного компонента снижается. Возрастает количество дегенеративно

измененных клеток, особенно на ранних сроках исследования. Концентрация макрофагов достоверно увеличивается как в корковом, так и в мозговом веществе вилочковой железы крыс второй группы по сравнению с контролем. На долю эпителиоретикулоцитов приходится значительный процент клеточного состава, больший нежели в серии животных без экстремального сочетанного внешнего воздействия.

Выводы

1. Длительное пребывание крыс в гипертермических условиях экстремальной степени выраженности на фоне физических нагрузок приводит к резкому достоверному уменьшению всех исследуемых органометрических показателей. Особенно выражен дефицит массы этого первичного лимфоидного органа у подопытных животных опытной группы.

2. Проведенное морфометрическое исследование указывает на инверсию слоев коркового и мозгового вещества, резкую депрессию К/М, усугубляющуюся к поздним срокам наблюдения.

3. Клеточный состав тимуса подвержен существенным преобразованиям за счет дефицита молодых и делящихся форм лимфоцитов, возрастания количества макрофагов, разрушенных клеток и эпителиоретикулоцитов.

Перспективы дальнейших исследований

Дальнейшие наши исследования будут направлены на изучение морфогенеза тимуса крыс-самцов после экстремального хронического гипертермического воздействия, сочетанного с физической нагрузкой, на фоне рациональной фармакокоррекции.

Литература

1. Андреева Л.И., Банников А.В., Горанчук В.В. Особенности реакции организма здорового человека на гипертермическое воздействие // Медицина труда и промышленная экология. – 1999. – №6. – С. 22–26
2. Баринев Э.Ф., Бондаренко Н.Н. Взаимосвязь изменений структурных элементов органов тимико-лимфатической системы и суставных тканей при длительной общей гипертермии организма // Український медичний альманах. – 1998. – №2. – С.10–12
3. Вихрук Т.И. Ультрамикроскопические особенности клеток тимуса и паховых лимфатических узлов белых крыс при иммунокоррекции в процессе адаптации к физическим нагрузкам // Морфология. – 1995. – Т.108, № 3. – С.35–38
4. Влияние нагревающего производственного микроклимата на темпы биологического старения организма / Шлейфман Ф.М., Тацкер И.Д., Лацук А.А., Вялая Л.С. // Вестник РАМН. – 1992. – № 1. – С. 15–18.
5. Овчаренко В.В., Маврич В.В. Комп'ютерна програма для морфометричних досліджень «Morpholog» // Свідectво про

реєстрацію авторського права на твір № 9604, дата реєстрації 19.03.2004р.

6. Cytokine induction by 41,8 degrees C whole body hyperthermia / *Robins H.I., Kutz M., Wiedemann G.J. et al.* // *Cancer Lett.* – 1995. – Vol.97, №2. – P.195–201
7. Hyperthermia in humans enhances interferon-gamma synthesis and alters the peripheral lymphocyte population / *Downing J.F., Martinez-Valdez-H., Elizondo R.S. et al.* // *J. Interferon Res.* – 1988. – Vol.8, № 2. – P. 143–150
8. In vitro effect of hyperthermia on natural cell-mediated cytotoxicity / *Fuggetta M.P., Alvino E., Tricarica M. et al.* // *Anticancer Res.* – 2000. – Vol.20, №3₄ – P.1667–1672