

СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННАЯ АТРОФИЯ ТИМУСА И ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ

А.В. Полевщиков, В.В. Гусельникова

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

THYMIC STRESS-INDUCED ATROPHY AND MAST CELLS

A.V. Polevshchikov, V.V. Gusel'nikova

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

В работе с использованием гистологических методов оценивали динамику популяции тучных клеток тимуса в ответ на введение белым беспородным мышам гидрокортизона. Установлено, что через 48 ч после введения гормона число тучных клеток возрастает в 10 раз, при этом появляются клетки на всех стадиях созревания. Параллельно повышается уровень дегрануляции тучных клеток. Предполагается созревание тучных клеток в пределах органа и их участие в регуляции клеточной миграции и ремоделировании матрикса тимуса при стрессе.

Ключевые слова: тимус; тучные клетки; стресс.

In a study using histological methods, the dynamics of thymic mast cells was evaluated in response to the administration of hydrocortisone to white outbred mice. It was established that 48 hrs after the administration of the hormone, the number of mast cells increases 10-fold, while cells appear at all stages of maturation. In parallel, the level of mast cell degranulation increases. Maturation of mast cells within the thymus and their participation in the regulation of cell migration and remodeling of the extracellular matrix under stress is assumed.

Keywords: thymus; mast cells; stress.

Введение. Наличие контактов тучных клеток и нервных терминалей, а также существование популяции тучных клеток (ТК) в тимусе позволяют ставить вопрос о роли нейро-мастоцитарных взаимодействий в иммунофизиологии тимуса в норме и в процессе стресс-индуцированной атрофии (акцидентальной трансформации) этого органа. Данные о внутритимической локализации ТК были получены еще в 1930-е годы и в дальнейшем многократно подтверждены [1], однако морфологические свидетельства контактов ТК тимуса и катехоламинэргических нервных терминалей были получены относительно недавно [4]. В ответ на иммобилизационный стресс анализировалась динамика числа ТК тимуса и уровня их дегрануляции, но результаты были неоднозначными [3]. Однако многие аспекты нейро-мастоцитарных взаимодействий в тимусе в норме и при стрессе остаются неясными. Поэтому целью работы было изучение динамики ТК тимуса и степени их зрелости в ответ на введение гидрокортизона (ГК) экспериментальным животным.

Материалы и методы. Материалом для исследования служил тимус самцов белых нелинейных мышей (возраст 3–4 мес, $n = 30$). Для индукции акцидентальной трансформации тимуса экспериментальным животным однократно внутривенно вводили раствор гидрокортизона (Gedeon Richter, Венгрия) в дозе 125 мг/кг веса. Животных выводили из экспе-

римента путем цервикальной дислокации через 12, 24, 48, 72, 96 и 192 ч после инъекции. В качестве контроля использовали интактных мышей ($n = 5$). Образцы тимуса фиксировали смесью спирт-формалин-уксусная кислота. На ротационном микротоме (Leica RM 2125RT) изготавливали срезы толщиной 5 мкм. Для выявления тучных клеток использовали раствор толуидинового синего (LabPoint, Россия). Для выявления ТК разных стадий зрелости срезы окрашивали раствором ализанинового синего G — сафранина O по методике [5]. Для идентификации фибронектина использовали кроличьи поликлональные антитела (Abscam, Великобритания). Для флуоресцентного выявления связавшихся первичных антител использовали HRP Conjugate (Spring Bioscience, США) и козы антитела против HRP, конъюгированные с флюорохромом Cy3 (Jackson ImmunoResearch, США).

Результаты и их обсуждение. Полученные данные об изменениях структуры тимуса в ходе акцидентальной трансформации согласуются с имеющимися в литературе сведениями [2]. На сроках 12–24 ч после введения ГК в кортексе тимуса отмечено обилие апоптотических телец. Через 48 ч после введения ГК корковое вещество тимуса было полностью очищено от них, при этом плотность клеток в кортексе была значительно ниже, чем в медулле. Применение окраски анилиновым синим позволило выявить увеличение плотности

соединительной ткани в кортексе тимуса через 48 ч после введения ГК по сравнению с контролем. Через 192 ч после введения ГК общая морфология тимуса соответствовала интактным животным. Результаты выявления фибронектина в тимусе мыши подтвердили данные о существенном увеличении плотности соединительной ткани в кортексе через 48 ч после введения ГК.

Через 48 ч после введения ГК отмечается существенное увеличение количества ТК в тимусе, которое более чем в 10 раз превышает значение контроля. В дальнейшем количество ТК в тимусе постепенно снижается через 72 ч и 96 ч после введения ГК и в точке 196 ч достоверно не отличается от значений контроля.

Количественная оценка степени дегрануляционной активности в ходе акцидентальной трансформации выявила увеличение индекса дегрануляции ТК в тимусе на всех исследованных сроках после введения ГК, что может быть свидетельством функциональной вовлеченности ТК в процесс акцидентальной трансформации тимуса.

В тимусе мышей через 48, 72 и 96 ч после введения ГК было отмечено наличие ТК всех стадий созревания, неравномерно распределенных по компартментам органа: Самые незрелые (гранулы которых окрашены альциановым синим) клетки преобладали в мозговом

и корковом веществе тимуса, в то время как более зрелые формы тучных клеток преобладали в составе соединительнотканного компартмента органа.

Наибольшее количество самых незрелых ТК и ТК промежуточной степени зрелости было отмечено в тимусе через 48 ч после введения ГК. По мере восстановления тимуса (72–96 ч после введения ГК) доля незрелых и созревающих ТК в тимусе постепенно уменьшалась на фоне увеличения доли самых зрелых ТК. В точке 192 ч, как и в тимусе животных контрольной группы, все выявленные ТК характеризовались наличием исключительно зрелых гранул. Результаты свидетельствуют о том, что появление новых ТК в тимусе в ходе акцидентальной трансформации связано с их созреванием *in situ*. В ходе созревания после акцидентальной трансформации ТК перемещаются из мозгового вещества тимической дольки и глубоких слоев кортекса к соединительно-тканым междольковым трабекулам и капсуле, где устанавливают связи с катехоламиэргическими нервными терминалами. Не исключено, что дегрануляция ТК тимуса в ходе стресс-индуцированной атрофии может быть вызвана передачей сигнала от нервных терминалей и играет важную роль в экстратимической миграции клеток в ходе ранних стадий ответной реакции на стресс.

Литература

1. Кемилева З. Вилочковая железа. — М.: Медицина, 1984. — 105 с.
2. Старская И.С., Полевщиков А.В. Морфологические аспекты атрофии тимуса при стрессе // Иммунология. — 2013. — Т. 34. — № 5. — С. 271–277.
3. Юшков Б.Г., Черешнев В.А., Климин В.Г., Арташян О.С. Тучные клетки: физиология и патофизиология. — М: Медицина. — 2011. — 237 с.
4. Gusel'nikova VV, Sukhorukova EG, Fedorova EA, et al. A Method for the Simultaneous Detection of Mast Cells and Nerve Terminals in the Thymus in Laboratory Mammals. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2015;45(4):371–374.
5. Röhlich P., Csaba G. Alcian blue-safranin staining and ultrastructure of rat mast cell granules during degranulation. *Acta Biol Acad Sci Hung*. 1972;23(1):83–89.