



ОРИГИНАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

21. *Scharma A. M.* The Obese Patient with Diabetes Mellitus: from Research Targets to Treatment Options // *Am. J. Med.* — 2006. — Vol. 119. — № 5 (Suppl. 1). — P. S17–S23.

22. *Shields M., Tremblay V. S., Janssen I.* Abdominal Obesity and Cardiovascular disease Risk Factors within Body Mass Index Categories // *Health Reports.* — 2012. — Vol. 23. — № 2. — P. 7–15.

23. *Sookoian S., Gianotti T. F., Gonzales C. D. et al.* Association of the C-344T aldosterone synthase gene variant with essential hypertension: a meta-analysis // *J. Hypert.* — 2007. — Vol. 25 (1). — P. 5–13.

24. *Tiago A. D., Badenhorst D., Nkeh B. et al.* Impact of renin-angiotensin-aldosterone system gene variants on the severity of hypertension in patients with newly diagnosed hypertension // *Am. J. Hypertens.* — 2003. — Vol. 16 (12). — P. 1006–1010.

РЕЗЮМЕ

Д. Л. Бровин, Е. А. Баженова, Р. Э. Попов, О. Д. Беляева, А. В. Березина, Т. Л. Каронова, Н. А. Корельская, Т. Г. Иванова, С. Н. Пчелина, Е. И. Баранова, О. А. Беркович, Е. В. Шлякто

Распределение генотипов и встречаемость аллелей гена альдостерон-синтазы у больных абдоминальным ожирением

Обследованы 140 больных абдоминальным ожирением (АО) (IDF, 2005), жителей Санкт-Петербурга (44,6 ± 0,6 года). У 49,2% пациентов с АО был выявлен метаболический синдром (МС) (IDF, 2005). Самым частым компонентом МС у больных АО была артериальная гипертензия (АГ). Распределение генотипов и встречаемость аллелей гена альдостерон-синтазы у больных АО и в группе сравнения (56 обследованных без АО, 41,0 ± 1,1 года) не различалось ($p > 0,05$). Уровни артериального давления (АД), как систолического, так и диастолического, были выше у носителей -344Т-аллеля гена альдостерон-синтазы. Активность ренина плазмы крови, уровень альдостерона плазмы крови, антропомет-

рические параметры, показатели липидного спектра сыворотки крови и углеводного обмена у пациентов с АО, носителей различных генотипов гена альдостерон-синтазы, не различались. Носительство -344Т-аллеля гена альдостерон-синтазы у больных АО ассоциировано с увеличением риска развития артериальной гипертензии.

Ключевые слова: абдоминальное ожирение, артериальная гипертензия, ренин-ангиотензин-альдостероновая система, полиморфизм, альдостерон-синтаза.

SUMMARY

D. L. Brouin, E. A. Bazhenova, R. E. Popov, O. D. Belyaeva, A. V. Berezina, T. L. Karonova, N. A. Korelskaya, T. G. Ivanova, S. N. Pchelina, E. I. Baranova, O. A. Berkovich, E. V. Schlyakhto

Distribution of genotypes and alleles of the aldosterone-synthase gene in patients with abdominal obesity

We observed 140 patients with abdominal obesity (AO) (IDF, 2005), the residents of St. Petersburg (44.6 ± 0.6 years). Metabolic syndrome (MS) (IDF, 2005) was diagnosed in 49.2% of patients with AO. The most frequent component of MS in patients with AO was arterial hypertension (AH). The distribution of genotypes and -alleles of the aldosterone-synthase gene in patients with AO and in the comparison group (56 subjects without AO, 41.0 ± 1.1 years) didn't differ ($p > 0.05$). Levels of both systolic and diastolic blood pressure (BP) were higher in carriers of -344T allele of aldosterone-synthase gene. Plasma renin activity, plasma aldosterone and glucose levels, anthropometric parameters, serum blood lipids and carbohydrate metabolism indices in obese patients with different genotypes of aldosterone-synthase gene didn't differ. -344T allele of aldosterone-synthase gene in patients with AO is associated with the increased risk of AH.

Keywords: Abdominal obesity, arterial hypertension, renin-angiotensin-aldosterone system, polymorphism, aldosterone-synthase.

© Д. В. Васендин, С. В. Мичурина, И. Ю. Ищенко, 2015 г.
УДК [612.438:612.57]-092.4

**Д. В. Васендин, С. В. Мичурина,
И. Ю. Ищенко**

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТИМУСЕ В АНАБОЛИЧЕ- СКОЙ ФАЗЕ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙ- СТВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕРМИИ

Сибирский государственный университет геосистем и технологий, г. Новосибирск; Новосибирский научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН

ВВЕДЕНИЕ

Тимус, являясь центральным органом лимфоидной (иммунной) системы и эндокринной железой одновременно, представляет собой, по-существу,

связующее звено между этими двумя органами системами, ответственными за осуществление процессов адаптации к различным факторам окружающей среды, в том числе и к такому, как высокая внешняя температура. Всестороннее изучение структурных основ и регуляторных механизмов регенерации биологических тканей обеспечивает теоретическое обоснование для разработки новых технологий стимуляции репаративных процессов, что увеличивает возможность направленного на восстановление органов и тканей воздействия.

Целью исследования было выявить и оценить особенности структурных изменений в тимусе крыс Вистар в восстановительном периоде после проведения экспериментальной гипертермии (ЭГ).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте использовались крысы-самцы Вистар, по 15 животных в каждую временную точку. Разогревание экспериментальных животных

производилось в полном соответствии со «Способом экспериментального моделирования обшей гипертермии у мелких лабораторных животных» [8].

Тимус фиксировали в растворе по Телесницкому, обезживали в серии спиртов возрастающей концентрации и заливали в смесь парафина с добавлением воска. Срезы изготавливали на ротационном микротоме, окрашенные препараты заключали в канадский бальзам. Определение относительной площади коркового вещества, капсулы и междольковых перегородок проводили на срезах толщиной 10 мкм, окрашенных гематоксилином Майера и эозином, используя метод наложения точечных морфометрических сеток [1]. Срезы морфометрировали при увеличении $\times 16$, морфометрию железистых образований проводили при увеличении $\times 200$. Клеточный состав тимуса изучали на срезах толщиной 5 мкм, окрашенных азуром II и эозином. При увеличении $\times 1000$ подсчитывали абсолютное количество клеток на стандартной площади 4500 мкм², дифференцируя следующие клеточные элементы: иммунобласты, средние и малые лимфоциты, клетки с фигурами митозов, клетки с пикнотическими ядрами, эпителиальные клетки, макрофаги.

Статистическую обработку данных проводили методом вариационной статистики с применением параметрического t-критерия Стьюдента [6]. Результаты обработаны при помощи пакета программ «Statistica 7.0». Различия сравниваемых показателей принимались как статистически значимые при $p < 0,05$.

Экспериментальные работы выполнены в Центральной научно-исследовательской лаборатории Новосибирского государственного медицинского университета с соблюдением правил биоэтики, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для лабораторных или иных целей.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наши наблюдения показали, что воздействие на организм крыс ЭГ приводит к выраженным изменениям на тканевом, клеточном и субклеточном уровнях организации органа. Выявленные нами изменения описаны Ю. В. Пахомовой как катаболическая фаза постгипертермического периода, соответствующая в нашем эксперименте острому (5 ч, 3 сут.), и анаболическая, соответствующая восстановительному (7-е и 14-е сут.) постгипертермическому периоду [5].

Так, нами установлено, что при остром воздействии на организм высокой внешней температуры формируется острая (акцидентальная) инволюция тимуса в стадии гипотрофии, основу морфогенеза

которой составляет атрофический процесс, приводящий к уменьшению массы и объема органа, уменьшению размеров коркового вещества, угнетению лимфоцитопоэтической функции и усилению гибели лимфоцитов по типу апоптоза, что приводит, в конечном итоге, к снижению численности лимфоидной популяции в тимусе. Воздействие гипертермического фактора влечет за собой нарушение целостности гематотимического барьера, что является одним из основных патогенетических механизмов акцидентальной трансформации тимуса. Увеличение проницаемости гематотимического барьера морфологически проявляется увеличением объемной плотности микропиноцитозных везикул в эндотелии кортикальных капилляров и плазмочитарно-макрофагальной инфильтрацией перикапиллярных зон коркового слоя — это делает возможным проникновение в корковое вещество и капсулу тимуса антигенов, В-лимфоцитов, эозинофилов. Одновременно с этим обнаружены признаки усиления секреции тимопоэтических пептидов из ретикулярных эпителиальных клеток премедулярной и субкапсулярной зон тимуса, необходимых для обеспечения полноценного иммуногенеза. Субклеточные признаки повреждения Т-клеток и макрофагов со снижением фагоцитарной способности при воздействии гипертермического раздражителя сочетаются с нарушениями citoархитектоники клеток эпителия, эндотелия и септ, развитием на этом фоне реактивного склероза стромы. Эндокринный эпителий тканей, сопровождаемый развитием эпителиальных канальцев и увеличением частоты обнаружения паразитовидноподобных структур, свидетельствует об участии железистых образований в адаптивных реакциях тимуса на воздействие гипертермического стресса [2, 4].

К 7-м суткам после проведения ЭГ относительная масса вилочковой железы незначительно возросла по сравнению с группой «ЭГ + 3 сут.» и достигла контрольного уровня, что составило $0,15 \pm 0,02$ % по отношению к весу животного. Морфометрическое исследование структурно-функциональных зон тимуса выявило тенденцию к увеличению удельной площади коркового вещества и тенденцию к снижению относительных размеров мозгового слоя по сравнению с группой «ЭГ + 3 сут.», что привело к незначительному росту К/М-индекса.

Абсолютное количество клеточных элементов на стандартной площади на 7-е сутки постгипертермического периода в субкапсулярной зоне коркового вещества продолжало поддерживаться на низком уровне (на 12 % ниже показателя у контрольной группы животных). Во внутренней зоне коры и в мозговом слое отмечена тенденция к увеличению этого параметра. Абсолютное количество лимфоидных клеточных элементов на

стандартной площади 4500 мкм² оставалось низким (по сравнению с контрольным уровнем) в обеих зонах коркового вещества: на 13 % — в субкапсулярной зоне и на 17 % — во внутренней зоне. При этом относительные параметры сохранялись на уровне соответствующих показателей у интактных животных.

На 7-е сутки после воздействия ЭГ во всех зонах тимуса отмечалось дальнейшее падение абсолютного количества зрелых лимфоидных клеток. В результате этого абсолютное количество малых лимфоцитов оказалось меньше (по сравнению с группой контроля): на 44 % — в субкапсулярной зоне коркового слоя, на 40 % — во внутренней зоне коры, на 52 % — в мозговом веществе (стандартная площадь — 4500 мкм²). Относительные показатели придерживались такой же направленности. На фоне снижения абсолютного количества зрелых лимфоидных клеток обнаружен рост абсолютного и относительного числа средних лимфоцитов во всех структурно-функциональных зонах. В результате абсолютное количество этих малодифференцированных лимфоцитов на стандартной площади превысило группу контроля: более чем в 2 раза — в субкапсулярной зоне коркового вещества; на 127 % — во внутренней зоне коры; более чем в 3 раза — в мозговом слое тимуса. Отмечен пониженный уровень абсолютного количества иммунобластов в мозговом веществе по сравнению с контролем (на 53 %). Обнаружено увеличение (почти в 2 раза) абсолютного и относительного числа клеток, содержащих фигуры митозов, в субкапсулярной зоне коры.

Изменения содержания клеток с пикнотическими ядрами были незначительными.

На 7-е сутки после ЭГ почти в 2 раза снизилось абсолютное число макрофагов в субкапсулярной зоне коры (по сравнению с контролем).

Изменения абсолютного числа эпителиальных клеток во всех зонах тимуса были незначительными. Наряду с целыми эпителиальными клетками, продолжали встречаться клетки с признаками разрушений.

Морфометрический анализ препаратов тимуса на светооптическом уровне выявил тенденцию к снижению относительной площади железистых образований. Наряду с эпителиальными тяжами и тельцами Гассала, встречались трубчатые образования с многослойным эпителием. Отмечено снижение отечности периваскулярных пространств капилляров и венул. Светооптически в периваскулярных пространствах обнаружено значительное число лимфоидных клеточных элементов и выявлены плазматические клетки.

Тучные клетки, с I преимущественной степенью дегрануляции, выявлены в соединительнотканых прослойках и капсуле тимуса.

14-е сутки постгипертермического периода характеризовались восстановлением относительной массы тимуса до контрольного показателя, который составил $0,16 \pm 0,01$ % от веса тела животного. Дальнейшее увеличение удельной площади коркового слоя и уменьшение размеров мозгового вещества к этому сроку привело к тому, что К/М-индекс достоверно превысил контрольное значение. Общая численная плотность клеточных элементов во всех зонах тимуса, и, в частности, клеток лимфоидного ряда, постепенно возросла и достигла контрольных значений.

На 14-е сутки после ЭГ абсолютное количество зрелых лимфоцитов увеличилось во всех зонах тимуса, но только в корковом слое этот параметр восстановился до уровня показателя у интактных животных. В мозговом веществе он оказался ниже контроля на 23 %. При этом относительные количества малых лимфоцитов по-прежнему оставались ниже контрольного уровня.

Абсолютное число средних лимфоцитов, наоборот, уменьшилось по сравнению с группой «ЭГ + 7 сут.», но все же превысило группу интактных животных: почти в 2 раза — в субкапсулярной зоне коркового вещества и во внутренней зоне коры, на 172 % — в мозговом слое. Относительные количества этих малодифференцированных лимфоцитов также превысили контрольные уровни во всех зонах тимуса. Отмеченное к 14-м суткам долевое соотношение малых и средних лимфоцитов, по-видимому, отражает направленность восстановления баланса процессов созревания и миграции тимоцитов в исследованном органе. Во внутренней зоне коры на 14-е сутки после ЭГ оказалось повышенным абсолютное (на 143 %) и относительное число иммунобластов по сравнению с контролем.



Рис. 1. Тимус крыс группы «ЭГ + 14 сут.». Трубчатые железистые структуры в мозговом веществе. Окраска гематоксилином Майера и эозином. Объектив 40, окуляр 10

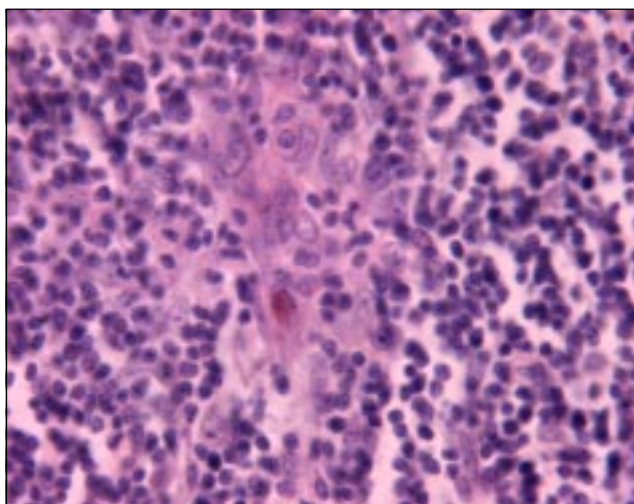


Рис. 2. Тимус крыс группы «ЭГ + 14 сут.». Тельца Гассаля, находящееся в контакте с железистым образованием. Окраска гематоксилином Майера и эозином. Объектив 40, окуляр 10

К этому сроку во всех зонах тимуса абсолютное число клеток с пикнотическими ядрами и количество макрофагов практически не отличались от группы интактных животных.

Во внутренней зоне коркового вещества отмечено достоверное уменьшение абсолютного (на 52 %) и относительного числа клеток с фигурами митозов. Содержание эпителиальных клеток на стандартной площади к 14-м суткам после ЭГ осталось на уровне контроля.

Морфометрическое исследование на светоптическом уровне показало достоверное снижение (на 61 %) относительной площади железистых об-

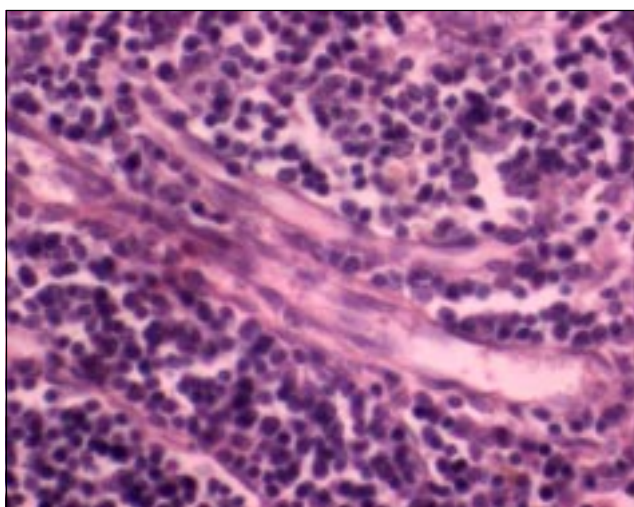


Рис. 3. Тимус крыс группы «ЭГ + 14 сут.». Отсутствие отечности периваскулярных пространств. Наличие в периваскулярном пространстве плазматических клеток. Окраска гематоксилином Майера и эозином. Объектив 40, окуляр 10

разований. К концу восстановительного периода относительная площадь эпителиальных железистых структур уменьшилась настолько, что оказалась ниже контрольного уровня. По-видимому, это свидетельствует об отсутствии острой необходимости усиления секреции тимических гормонов к 14-м суткам после ЭГ [3]. Наряду со скоплениями эпителиальных клеток, не окруженных капсулой, встречались трубчатые эпителиальные каналцы, стенка которых состояла из многослойного эпителия и была окружена капсулой (рис. 1).

В мозговом веществе встречались тельца Гассаля (рис. 2).

Светооптически отмечено значительное снижение отечности периваскулярных пространств и восстановление дренажа интерстиция в виде сужения их просветов. В периваскулярных эпителиальных клетках выявлены большие вакуоли.

В периваскулярных пространствах обнаружено значительное число лимфоидных клеточных элементов, а также выявлены активные плазматические клетки (рис. 3).

Таким образом, нами установлено, что к концу острого периода (3-и сутки после ЭГ) у крыс развивается временная, или акцидентальная, инволюция тимуса. Это можно объяснить резким превалированием в тканях органа катаболических процессов, интенсификация которых обусловлена возросшими уровнями кортикостерона и инсулина [5]. Глюкокортикоидные гормоны являются стимуляторами СТГ, в результате чего «катаболическая» фаза синдрома адаптации инициирует его «анаболическую» фазу [7]. Воздействие высокими внешними температурами, с одной стороны, вызывает развитие стресс-реакции, а с другой стороны, непосредственно является значительным повреждающим фактором. При этом происходят выброс Т-лимфоцитов в кровь и массовая гибель лимфоидных элементов в самом органе, особенно в корковом веществе [9]. Увеличение количества молодых форм лимфоидных клеток (бластов и средних лимфоцитов), выявленное в нашем исследовании, может быть связано с усилением пролиферации в тимусе и свидетельствует об активизации лимфопоэтической функции органа на данном этапе после ЭГ. В преодолении напряженного состояния при ЭГ значительное участие принимают железистые структуры эпителиального компартмента, секретирующие тимические гормоны. Однако к концу анаболической фазы постгипертермического периода восстановления баланса процессов созревания и миграции тимоцитов в органе еще не произошло. Поэтому можно говорить только о значительном восстановлении структуры самого тимуса к концу 14-х суток после проведения экспериментальной гипертермии.

В последующем (7-е и 14-е сут.) постгипертермическом периоде происходит восстановление структуры гематотимического барьера тимуса, снижение отечности периваскулярных и интерстициальных пространств в нем, появление большого количества эпителиальных клеток с признаками неизменной структурной организации, что свидетельствует об ослаблении деструктивных процессов и об усилении дренажа межклеточных пространств в органе.

Последствия воздействия ЭГ являются обратимыми: на 14-е сутки после проведения ЭГ происходит восстановление относительного веса тимуса, увеличивается относительная площадь коркового вещества, возрастает в нем общее содержание клеток до контрольного уровня, и в первую очередь — лимфоцитов; при этом увеличение количества средних лимфоцитов во всех зонах органа на фоне повышенного числа иммунобластов в корковом веществе свидетельствует об активизации лимфопоэтической функции тимуса и ускорении созревания имеющихся тимоцитов.

К 14-м суткам после ЭГ полного восстановления тимуса не происходит:

- к этому сроку еще не исчезают признаки деструктивных процессов в органе;

- долевое соотношение средних и малых лимфоцитов во всех зонах тимуса еще не достигает контрольного уровня, что позволяет говорить лишь о направленности восстановления баланса процессов созревания и миграции тимоцитов во всем органе.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Автаңдилов Г. Г.* Медицинская морфометрия: руководство. — М.: Медицина, 1990. — 384 с.
2. *Васендин Д. В., Мичурина С. В., Ищенко И. Ю.* Особенности структурных изменений в корковом веществе тимуса в катаболической фазе после воздействия экспериментальной гипертермии // Ученые записки Санкт-Петербург. гос. мед. ун-та им. акад. И. П. Павлова. — 2013. — Т. XX. — № 1. — С. 27–31.
3. *Кветной И. М., Ярилин А. А., Полякова В. О. и др.* Нейроиммуноэндокринология тимуса. — СПб.: ДЕАН, 2005. — 160 с.

4. *Мичурина С. В., Васендин Д. В., Ищенко И. Ю.* Особенности структурных и микроструктурных изменений в тимусе в «катаболической» фазе после воздействия экспериментальной гипертермии // Ученые записки Санкт-Петербург. гос. мед. ун-та им. акад. И. П. Павлова. — 2013. — Т. XX. — № 3. — С. 20–25.

5. *Пахомова Ю. В.* Системные механизмы метаболизма при общей управляемой гипертермии: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Новосибирск, 2006. — 33 с.

6. *Плохинский Н. А.* Биометрия. — М.: Изд-во МГУ, 1970. — 367 с.

7. *Селятицкая В. Г., Обухова Л. А.* Эндокринно-лимфоидные отношения в динамике адаптивных процессов. — Новосибирск: СО РАМН, 2001. — 168 с.

8. Способ экспериментального моделирования общей гипертермии у мелких лабораторных животных / А. В. Ефремов, Ю. В. Пахомова, Е. А. Пахомов [и др.] // Изобретения. Полезные модели. — 2001. — № 10. — С. 43–45.

9. *Ярилин А. А.* Гомеостатические процессы в иммунной системе. Контроль численности лимфоцитов // Иммунология. — 2004. — № 5. — С. 312–320.

РЕЗЮМЕ

Д. В. Васендин, С. В. Мичурина, И. Ю. Ищенко

Структурные изменения в тимусе в анаболической фазе после воздействия экспериментальной гипертермии

В анаболической фазе постгипертермического периода происходит восстановление структуры гематотимического барьера тимуса, снижение отечности периваскулярных и интерстициальных пространств в нем, появление большого количества эпителиальных клеток с признаками неизменной структурной организации, что свидетельствует об ослаблении деструктивных процессов и об усилении дренажа межклеточных пространств в органе.

Ключевые слова: тимус, общая гипертермия, крысы Вистар, инволюция.

SUMMARY

D. V. Vasendin, S. V. Michurina, I. Yu. Ishchenko

Structural changes in the thymus in the anabolic phase after exposure to experimental hyperthermia

In the anabolic phase of postoperational period, restoration of the structure of the blood-thymic thymus barrier, reduced edema of perivascular and interstitial spaces in the thymus barrier, and emergence of a large number of epithelial cells with signs of unmodified structural organization are observed, indicating weakening of the destructive processes and increasing drainage of interstitial spaces in the body.

Keywords: thymus, general hyperthermia, Vistar rats, involution.