

АНАТОМИЯ И АНТРОПОЛОГИЯ

ANATOMY AND ANTHROPOLOGY

УДК 611.41:59.085+615.37
doi: 10.21685/2072-3032-2024-4-7

Влияние иммуносупрессивного воздействия на структуру тимуса экспериментальных животных во время гестации

А. А. Захаров¹, В. В. Вергунова²

^{1,2}Луганский государственный медицинский университет
имени Святителя Луки, Луганск, Россия

¹masterhist@mail.ru, ²vergunova1998@mail.ru

Аннотация. *Актуальность и цели.* Цель исследования – изучение изменений морфометрических показателей тимуса экспериментальных животных при иммуносупрессии на второй неделе гестации. *Материал и методы.* Исследование выполнено на 24 самках белых лабораторных крыс второй недели беременности с начальной массой 210–250 г. Животных разделили на две группы. Иммуносупрессию моделировали с помощью метотрексата в дозировке 10 мг/м² площади тела в начале диэструса. Крыс выводили из эксперимента в конце второй недели беременности, измеряли абсолютную и относительную массу тимуса, линейные характеристики, объем. Также определяли микроморфометрические параметры органа и уровни интерлейкинов в плазме крови. *Результаты.* В процессе изучения органомерметрических и микроморфометрических показателей было отмечено, что линейные размеры органа, его относительная и абсолютная масса и объем значимо уменьшаются. Кроме того, все микроморфометрические параметры также снижаются в течение того же периода наблюдения на фоне значимых отклонений концентрации цитокинов в плазме крови относительно контрольных данных. *Выводы.* Морфометрические изменения параметров органа на разных уровнях исследования указывают на системные изменения в структуре тимуса.

Ключевые слова: тимус, иммуносупрессия, гестация, метотрексат, крысы

Для цитирования: Захаров А. А., Вергунова В. В. Влияние иммуносупрессивного воздействия на структуру тимуса экспериментальных животных во время гестации // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. 2024. № 4. С. 87–92. doi: 10.21685/2072-3032-2024-4-7

The influence of immunosuppressive action on the structure of the thymus of experimental animals during gestation

A.A. Zakharov¹, V.V. Vergunova²

^{1,2}Lugansk State Medical University named after St. Luke, Lugansk, Russia

¹masterhist@mail.ru, ²vergunova1998@mail.ru

Abstract. *Background.* The purpose of the study was to investigate changes in the morphometric parameters of the thymus of experimental animals during immunosuppression in the second week of gestation. *Material and methods.* The study was carried out on 24 female white laboratory rats of the second week of pregnancy with an initial weight of 210–250 g. The animals were divided into 2 groups. Immunosuppression was modeled using methotrexate at a dosage of 10 mg/m² of body area at the beginning of diestrus. The rats were excised at the end of 2 weeks of pregnancy, the absolute and relative mass of the thymus, linear characteristics, and volume were measured. The micromorphometric parameters of the organ and the levels of interleukins in blood plasma were also determined. *Results.* In the process of studying organometric and micromorphometric indicators, it was noted that the linear dimensions of the organ, its relative and absolute mass, and volume significantly decrease. In addition, all micromorphometric parameters also decrease during the same observation period against the background of significant deviations in the concentration of cytokines in blood plasma relative to the control data. *Conclusions.* Morphometric changes in the parameters of the organ at different levels of the study indicate systemic changes in the structure of the thymus.

Keywords: thymus, immunosuppression, gestation, methotrexate, rats

For citation: Zakharov A.A., Vergunova V.V. The influence of immunosuppressive action on the structure of the thymus of experimental animals during gestation. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Meditsinskie nauki = University proceedings. Volga region. Medical sciences.* 2024;(4):87–92. (In Russ.). doi: 10.21685/2072-3032-2024-4-7

Введение

На сегодня интерес многих исследователей направлен на изучение иммунной системы, осуществляющей иммунологический надзор в организме с целью сохранения гомеостаза [1, 2]. Несомненно, роль флагамена в этом процессе занимает тимус – один из центральных органов иммуногенеза, в котором происходит созревание Т-клеточного пула лимфоцитов. Вилочковая железа достаточно сильно подвержена действию различных экзогенных агентов, в результате чего можно наблюдать изменения в гисто- и citoархитектонике, в том числе замещение тимической паренхимы соединительной тканью [3]. Актуальной проблемой в настоящее время является рост числа онкологических и аутоиммунных заболеваний, требующих иммуносупрессорного лечения, которое негативно сказывается на функционировании компонентов иммунной системы [4, 5]. В то же время беременность как физиологическое состояние сама по себе вызывает умеренную иммунодепрессию, предотвращая отторжение генетически чужеродного для организма плода. Несмотря на то, что на данный момент проведено большое количество исследований влияния экзогенных воздействий на морфофункциональное строение органов иммунной системы, сведения о строении вилочковой железы при иммуносупрессии во время беременности отсутствуют в доступных источниках информации, поэтому детальное изучение этого вопроса является высокоактуальной в настоящее время задачей.

В связи с этим целью данного исследования явилось изучение изменений морфометрических показателей тимуса экспериментальных животных при иммуносупрессии на второй неделе гестации.

Материалы и методы

Эксперимент выполнен на 24 белых лабораторных крысах на второй недели беременности с начальной массой 210–250 г [6]. Все процедуры про-

водились в рамках Директивы 2010/63/EU [7]. Крысы были разделены на две группы: животные на второй неделе гестации, получавшие метотрексат в дозировке 10 мг/м^2 в начале диэструса, и беременные самки, которым вводился 0,9 % NaCl в эквивалентной дозировке – группа контрольных животных.

После экстракции тимус взвешивали, определяли линейные размеры, относительную массу, объем органа. На микропрепаратах измеряли ширину коркового вещества дольки тимуса ($Ш_k$), площадь мозгового вещества (S_m), площадь коркового вещества (S_k), корково-мозговой индекс (КМИ), подсчитывали количество клеток субкапсулярной зоны (N_k) на единицу площади (1000 мкм^2). Для установления особенностей состояния иммунной системы определяли концентрации цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-6 и TNF α в плазме крови животных методом иммуноферментного анализа.

Полученные данные были обработаны с применением методов непараметрической статистики с оценкой значимости различий с помощью *U*-критерия Манна – Уитни ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

При анализе иммунологических параметров плазмы крови после применения метотрексата было обнаружено снижение уровня медиаторов межклеточного взаимодействия: IL-1 β – на 2,08 %, IL-2 – на 3,74 % и IL-6 – на 2,28 %, а также повышение уровня TNF α на 4,29 % в крови экспериментальных животных по сравнению с группой контроля, что свидетельствует о развитии состояния иммуносупрессии.

В результате эксперимента установлено, что иммуносупрессия оказывает заметное влияние на органомерические и морфометрические параметры тимуса при сохранении качественных характеристик органа (рис. 1).

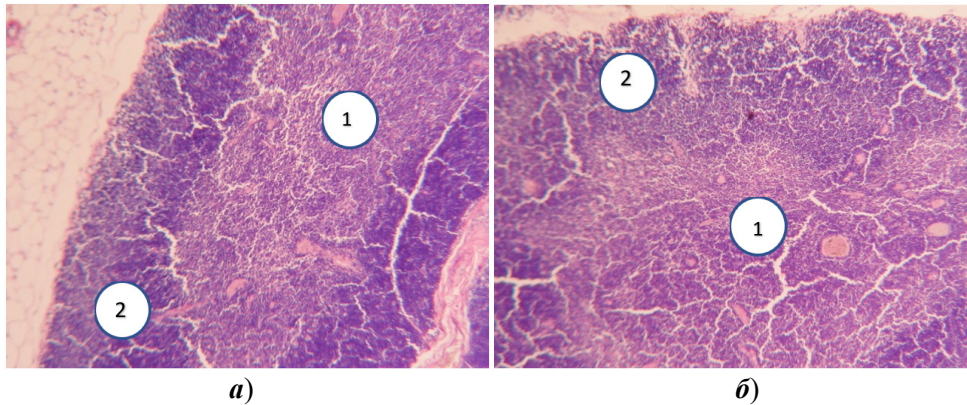


Рис. 1. Фрагмент паренхимы тимуса в конце второй недели гестации:
а – после введения метотрексата; *б* – контроль; 1 – мозговое вещество;
 2 – корковое вещество. Окраска гематоксилином и эозином.
 Приближение: окуляр $\times 10$, объектив – Plan 10 $\times$ /0,25 ∞ /–/

Так, абсолютная и относительная масса тимуса уменьшилась на 22,80 и 12,50 % соответственно в сравнении с показателями контрольной группы животных. Остальные органомерические параметры органа претерпевали схо-

жие изменения: длина, ширина и толщина уменьшились на 10,10; 12,05 и 11,40 % соответственно, объем тимуса снизился на 16,00 %.

На светооптическом уровне также были отмечены сходные статистически значимые отклонения изученных параметров от аналогичных показателей контрольной группы (табл. 1).

Таблица 1

Микроморфометрические показатели тимуса
экспериментальных животных при иммуносупрессии
в конце второго триместра гестации ($M \pm m$, $n = 12$)

Показатель	$Ш_k$, мкм	S_k , мкм ²	S_m , мкм ²	КМИ	N_k
Метотрексат	$465,87 \pm 0,84^*$	$1\,604\,298,44 \pm 1029,04^*$	$759\,122,57 \pm 944,97^*$	$2,31 \pm 0,03^*$	$101,54 \pm 1,24^*$
Контроль	$425,17 \pm 2,12$	$1\,450\,972,69 \pm 998,46$	$698\,578,39 \pm 968,98$	$2,08 \pm 0,02$	$90,45 \pm 0,31$

* Статистически значимое отличие от контрольных данных ($p < 0,05$).

В результате ряда исследований тимуса было установлено, что орган при влиянии различных экзо- и эндогенных воздействий претерпевает типичные изменения структуры. Так, в эксперименте С. М. Шакировой было установлено, что интоксикация тетрахлорметаном приводит к значительным морфологическим преобразованиям тимуса крыс, затрагивающим корковое и мозговое вещество органа, а также его сосудистую систему [8].

В то же время в работах Д. Т. Хасановой указано, что воздействие генетически модифицированных организмов вызывает избирательное повреждение паренхимы и стромы тимуса [9]. Исследования А. Э. Эседовой, Т. С. Гусейнова и А. Ш. Кадиева показали, что йодобромные воды воздействуют на тимус, вызывая в нем заметные изменения на уровне структуры и функций во всех зонах [10].

Наряду с этим, результаты эксперимента Е. П. Тимохиной, Н. В. Ягловой и В. В. Яглова подчеркивает потенциальные риски даже небольших доз дихлордифенилтрихлорэтана для гистофизиологии тимуса, включая ускорение инволютивных процессов, усиление р53-зависимого апоптоза тимоцитов и снижение их пролиферативной активности [11].

Результаты настоящего исследования подтверждают, что тимус во время гестации является высокоактивным органом, способным интенсивно реагировать на внешние воздействия. Статистически значимые различия между данными экспериментальной и контрольной групп животных указывают на то, что иммуносупрессивное состояние вызывает выраженные изменения структуры органа уже к концу второй недели беременности.

Заключение

Введение метотрексата в дозе 10 мг/м² площади тела, вызывающее состояние иммуносупрессии, подтвержденное иммунологически, оказывает выраженный эффект на морфометрические параметры тимуса самок крыс во время беременности. Статистически значимое снижение изученных показателей органа в сравнении с контрольными значениями на разных уровнях исследования, отмеченное в конце второй недели гестации, свидетельствует о

системной реакции тимуса и вызывает интерес к изучению его ультраструктуры при иммуотропных воздействиях.

Список литературы

1. Захаров А. А., Лозыченко В. Г. Изменения строения селезенки крыс при иммуностимуляции в разные сроки гестации // Морфологический альманах имени В. Г. Ковешникова. 2023. № 21 (1). С. 81–86.
2. Кащенко С. А., Захаров А. А. Изменения строения предстательной железы крыс репродуктивного возраста в условиях иммуносупрессии // Пермский медицинский журнал. 2018. Т. XXXV, № 3. С. 79–86.
3. Стручко Г. Ю., Москвичев Е. В., Меркулова Л. М. [и др.]. Морфологическая картина и иммуногистохимический фенотип тимуса после введения полиоксидония // Иммунология. 2014. № 35 (5). С. 260–263.
4. Бобрышева И. В. Морфологические изменения в тимусе крыс репродуктивного периода на фоне введения иммунодепрессанта циклофосамида // Казанский медицинский журнал. 2016. № 97 (4). С. 578–585.
5. Бобрышева И. В. Морфофункциональные особенности тимуса крыс различных возрастных периодов после экспериментальной иммуносупрессии // Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2014. № 13 (1). С. 48–55.
6. Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А. [и др.]. Лабораторные животные. Киев : Вища школа, 1983. 383 с.
7. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях / НП «Объединение специалистов по работе с лабораторными животными». СПб. : Rus-Lasa, 2012. 48 с.
8. Шакирова С. М. Морфология тимуса при воздействии ксенобиотиков и после коррекции // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. 2018. № 236 (4). С. 200–203.
9. Хасанова Д. Т. Морфологические особенности тимуса в норме и при влиянии генно-модифицированного продукта в эксперименте // Общество и инновации. 2021. № 2 (2/S). С. 407–411.
10. Эседова А. Э., Гусейнов Т. С., Гусейнова С. Т., Кадиев А. Ш. Цитологическая характеристика тимуса при воздействии йодобромных ванн // Астраханский медицинский журнал. 2012. № 7 (4). С. 270–272.
11. Тимохина Е. П., Яглова Н. В., Яглов В. В., Обернихин С. С. Гистофизиологические изменения тимуса крыс при длительном воздействии низких доз дихлордифенилтрихлорэтана // Медицина труда и промышленная экология. 2018. № 4. С. 42–46.

References

1. Zakharov A.A., Lozychenko V.G. Changes in the structure of the rat spleen during immunostimulation at different stages of gestation. *Morfologicheskij al'manakh imeni V.G. Koveshnikova = Morphological almanac named after V.G. Koveshnikov*. 2023;(21):81–86. (In Russ.)
2. Kashchenko S.A., Zakharov A.A. Changes in the structure of the prostate gland of reproductive-age rats under conditions of immunosuppression. *Permskiy meditsinskiy zhurnal = Perm medical journal*. 2018;XXXV(3):79–86. (In Russ.)
3. Struchko G.Yu., Moskvichev E.V., Merkulova L.M. et al. Morphological picture and immunohistochemical phenotype of the thymus after the introduction of polyoxidonium. *Immunologiya = Immunology*. 2014;(35):260–263. (In Russ.)
4. Bobrysheva I.V. Morphological changes in the thymus of reproductive-age rats following administration of the immunosuppressant cyclophosphamide. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan medical journal*. 2016;(97):578–585. (In Russ.)

5. Bobrysheva I.V. Morphofunctional features of the thymus of rats of different ages after experimental immunosuppression. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Bulletin of Vitebsk State Medical University*. 2014;(13):48–55. (In Russ.)
6. Zapadnyuk I.P., Zapadnyuk V.I., Zakhariya E.A. et al. *Laboratornye zhivotnye = Laboratory animals*. Kiev: Vishcha shkola, 1983:383. (In Russ.)
7. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union on the allocation of animals used in scientific research / NP “On the unification of specialist staff for work with laboratory animals”. Saint Petersburg: Rus-Lasa, 2012:48. (In Russ.)
8. Shakirova S.M. Morphology of the thymus under the influence of xenobiotics and after correction. *Uchenye zapiski Kazanskoy gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny im. N.E. Bauman = Proceedings of Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman*. 2018;(236):200–203. (In Russ.)
9. Khasanova D.T. Morphological features of the thymus in the norm and under the influence of a genetically modified product in an experiment. *Obshchestvo i innovatsii = Society and innovations*. 2021;(2):407–411. (In Russ.)
10. Esedova A.E., Guseynov T.S., Guseynova S.T., Kadiev A.Sh. Cytological characteristics of the thymus under the influence of iodine-bromine baths. *Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal = Astrakhan Medical Journal*. 2012;(7):270–272. (In Russ.)
11. Timokhina E.P., Yaglova N.V., Yaglov V.V., Obernikhin S.S. Histophysiological changes in rat thymus during long-term exposure to low doses of dichlorodiphenyltrichloroethane. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya = Occupational medicine and industrial ecology*. 2018;(4):42–46. (In Russ.)

Информация об авторах / Information about the authors

Алексей Александрович Захаров

доктор медицинских наук, профессор,
профессор кафедры гистологии,
цитологии и эмбриологии, Луганский
государственный медицинский
университет имени Святителя Луки
(Россия, г. Луганск, квартал 50-летия
Обороны Луганска, 1Г)

E-mail: masterhist@mail.ru

Aleksey A. Zakharov

Doctor of medical sciences, professor,
professor of the sub-department of histology,
cytology and embryology, Lugansk State
Medical University named after St. Luke
(1G 50-letiya Oborony Luganska
Block, Lugansk, Russia)

Влада Валерьевна Вергунова

аспирант, Луганский государственный
медицинский университет имени
Святителя Луки (Россия, г. Луганск,
квартал 50-летия Обороны Луганска, 1Г)

E-mail: vergunova1998@mail.ru

Vlada V. Vergunova

Postgraduate student, Lugansk State
Medical University named after St. Luke
(1G 50-letiya Oborony Luganska
Block, Lugansk, Russia)

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.

Поступила в редакцию / Received 05.04.2024

Поступила после рецензирования и доработки / Revised 26.09.2024

Принята к публикации / Accepted 05.10.2024