

19. Prehn R. T. The immune reaction as stimulator of tumor growth // Science.—1972.—176, N 4031.— P. 170—171.
20. Till J. E. McCulloch E. A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells // Radiat. Res.—1961.—14, N 2.— P. 213—222.
21. Wilson D. B. Quantitative studies on the behavior of sensitized lymphocytes in vitro. I. Relationship of destruction of homologous target cells to number of lymphocytes and to the time of contact in culture and consideration of isoimmune serum // J. Exp. Med.—1965.—122, N 1.— P. 143—166.

Ин-т иммунологии МЗ СССР

Поступила 06.12.85

УДК 611—018.2.428.438:616.451—089.87

К. П. Зак, М. Л. Винницкая

## ВЛИЯНИЕ АДРЕНАЛЭКТОМИИ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ЛИМФОИДНЫХ И СТРОМАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ТИМУСА

Последнее десятилетие характеризовалось интенсивным изучением роли вилочковой железы в физиологических и патологических процессах. Были получены неоспоримые доказательства огромного значения тимуса в иммунных реакциях гомеостаза. Показано, что тимус — не только центральный орган лимфоидной системы, генерализующий иммунокомпетентные клетки, но и важная эндокринная железа, регулирующая внутри- и внетимическую дифференцировку Т-клеток и некоторые другие физиологические функции [12]. На субмикроскопическом уровне было выявлено значительное разнообразие структуры лимфоидных и особенно стромальных элементов тимуса, которые составляют микроокружение и отвечают за секрецию гормональных факторов. Было установлено, что различные виды лимфоидных и стромальных клеток эпителиального и мезенхимального происхождения, экспрессирующих неодинаковые наборы мембранных антигенов, находятся в сложных морфологических и функциональных взаимоотношениях, образуя клеточные ассоциации — «клетки-няньки», макрофагальные розетки и др. [9, 11, 13].

Известно, что в организме человека и животных тимус находится в тесной взаимосвязи с другими железами внутренней секреции, прежде всего с корой надпочечников. Инволюция тимуса — один из наиболее характерных признаков гиперкортицизма [2, 7]. С другой стороны, значительное увеличение массы вилочковой железы наблюдается после адреналэктомии [1, 4, 5]. Однако механизм взаимодействия этих двух желез в иммунном гомеостазе во многом остается еще неясным. Полученные в последние годы данные о структуре и функции различных видов тимоцитов и особенно клеток, составляющих микроокружение, позволяют рассмотреть этот вопрос с новых позиций. Цель настоящей работы — субмикроскопическое изучение лимфоидных и стромальных элементов тимуса мышей при недостатке кортикостероидов.

### Методика

Исследования проведены на 35 мышках-самцах линии СВА, массой 18—20 г. Двустороннюю адреналэктомию проводили под эфирным наркозом по общепринятой методике. После операции мышам давали для питья 1 %-ный раствор хлористого натрия.

Изучение ультраструктуры клеток тимуса проводили через 7, 14 и 21 сут после адреналэктомии. Животных декапитировали, вилочковую железу отделяли от прилегающих тканей, взвешивали на торсионных весах и измельчали. Кусочки органа фиксировали в 2,5 %-ном растворе глутаральдегида (фирма «Мегск»), приготовленном на фосфатном сбалансированном буфере (концентрация 0,1 моль/л, рН 7,3), постфиксировали в 1 %-ном растворе осмия, приготовленном на том же буфере, обезвоживали в спиртах восходящей крепости и в абсолютном ацетоне, затем заключали в аралдит (фирма

«Schuchart»). Срезы, изготовленные с помощью ультратонкого микротома JEM-100С (фирма «JEOL»).

Через 7 и 14 сут после операции отмечали увеличение абсолютного содержания лимфоцитов в тимусе.



Рис. 1. Фрагмент субкапсулярного лимфоидного элемента тимуса.

ЛБ — лимфобласт, МЛ — макрофагальная розетка.

$P < 0,01$ ), через 14 сут —  $P < 0,01$ ), у контрольных соответственно.

**Лимфоидные клетки.** При адреналэктомии у мышей (после операции) отмечалось расширение коры тимуса. Расположались более крупные лимфоциты, в следствии субкапсулярного увеличения числа лимфобластов, что было связано с четко выраженным увеличением их числа. В большом числе свободных эндоплазматических ретикулумов (рис. 1). Возрастное изменение пикнотического индекса с новыми ядрами отмечалось в гигантских клетках, называемых «клетки-няньки».

В мозговом слое желтого вещества тимуса заметно повышено. Увеличение количества субкапсулярных лимфоцитов, в котором электроносветлых набухших лимфоцитов.

Через 21 сут после операции отмечалось нормализацию состава лимфоидных элементов тимуса. Объясняется быстрым возвращением к норме этих видов животных в

of tumor growth // Science.—1972.—

of the radiation sensitivity of por-  
1961.— 14, N 2.— P. 213—222.  
of sensitized lymphocytes in vit-  
target cells to number of lymphocy-  
consideration of isoimmune serum //

Поступила 06.12.85

ицкая

## УЛЬТРАСТРУКТУРУ ЭЛЕМЕНТОВ ТИМУСА

лось интенсивным изучением  
их и патологических процес-  
ельства огромного значения  
Показано, что тимус — не  
стемы, генерализующий им-  
ндокринная железа, регули-  
енцировку Т-клеток и неко-  
2]. На субмикроскопическом  
образии структуры лимфо-  
тимуса, которые составляют  
гормональных факторов.  
лимфоидных и стромальных  
происхождения, экспрессиру-  
х антигенов, находятся в  
ых взаимоотношениях, обра-  
и», макрофагальные розет-

животных тимус находится  
внутренней секреции, пре-  
одия тимуса — один из на-  
дизма [2, 7]. С другой сто-  
рочковой железы наблюдает-  
о механизм взаимодействия  
о многом остается еще не-  
ые о структуре и функции  
еток, составляющих микро-  
рос с новых позиций. Цель  
изучение лимфоидных и  
при недостатке кортикосте-

нии СВА, массой 18—20 г. Дву-  
наркозом по общепринятой мето-  
ный раствор хлористого натрия.  
дили через 7, 14 и 21 сут после  
овую железу отделяли от при-  
измельчали. Кусочки органа фик-  
ма «Merck»), приготовленном на  
(1 моль/л, рН 7,3), постфиксиро-  
том же буфере, обезвоживали в  
плате заключали в аралдит (фирма

«Schuchart»). Срезы, изготовленные на ультрамикротоме LKB-8 800, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и исследовали под электронным микроскопом JEM-100C (фирма «JEOL»).

## Результаты и их обсуждение

Через 7 и 14 сут после удаления надпочечников у мышей отмечали увеличение абсолютной и относительной массы тимуса: через 7 сут после операции —  $41,9 \pm 2,68$  мг и  $2,38 \pm 0,19$  мг/г ( $P < 0,001$  и



Рис. 1. Фрагмент субкапсулярной зоны тимуса адrenaлэктомированной мыши:

ЛБ — лимфобласт, МЛ — малые лимфоциты, ЭК — эпителиальная клетка. Электронограмма.  $\times 5000$ .

$P < 0,01$ ), через 14 сут —  $42,5 \pm 2,87$  мг и  $2,34 \pm 0,23$  мг/г ( $P < 0,001$  и  $P < 0,01$ ), у контрольных животных —  $29,1 \pm 1,46$  мг и  $1,7 \pm 0,12$  мг/г соответственно.

**Лимфоидные клетки.** Через 7 и 14 сут после двусторонней адrenaлэктомии у мышей (по сравнению с интактными животными) отмечалось расширение корковой зоны тимуса, малые тимоциты в которой располагались более плотно. При электронно-микроскопическом исследовании субкапсулярной области наблюдали некоторое увеличение числа лимфобластов, характеризующихся эухроматиновыми ядрами с четко выраженными ядрышками, обильной цитоплазмой, большим числом свободных рибосом и полисом, развитым шероховатым эндоплазматическим ретикулумом, набухшими митохондриями (рис. 1). Возрастало число клеток в состоянии митоза, в то же время пикнотический индекс снижался. Преобладание клеток с эухроматиновыми ядрами отмечалось и среди тимоцитов, расположенных интрацеллюлярно в гигантских лимфоэпителиальных многоклеточных комплексах, называемых «клетками-няньками».

В мозговом слое железы содержание малых тимоцитов было также заметно повышено. Увеличивалось и число лимфобластов, отличающихся от субкапсулярных более крупными размерами и широким ободком цитоплазмы, в которой находилось значительное число полисом и электронносветлых набухших митохондрий.

Через 21 сут после удаления надпочечников наблюдали тенденцию к нормализации состава и строения лимфоидных элементов тимуса, что объясняется быстрым восстановлением содержания кортикостерона у этих видов животных в связи с наличием у них добавочной надпо-

чечниковой ткани. Как показали наши предыдущие исследования [3], через 14 сут после двусторонней адреналэктомии происходит восстановление содержания кортикостерона в плазме крови оперированных мышей линии СВА. В то же время у адреналэктомированных собак, у которых отсутствуют добавочные надпочечники, увеличение массы и размера тимуса с течением времени продолжает прогрессировать [1], что является еще одним убедительным доказательством зависимости состояния тимуса от содержания кортикостероидов в организме.

**Стромальные эпителиальные клетки.** Особенно значительные изменения у адреналэктомированных мышей наблюдали в стромальных

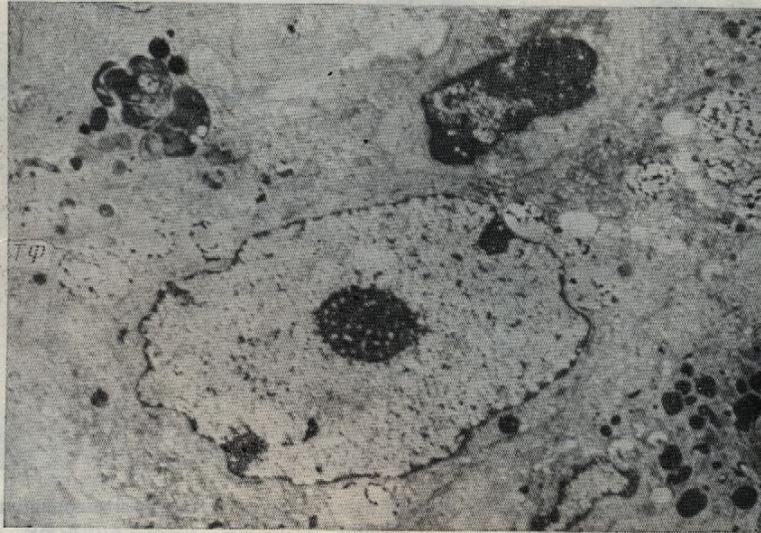


Рис. 2. Светлая звездчатая эпителиальная клетка коры тимуса адреналэктомированной мыши:

ТФ — тонофибриллы. Электронограмма.  $\times 7000$ .

элементах тимуса. Эпителиальные клетки железы, характеризуясь некоторыми присущими только им общими признаками (тонофибриллы, десмосомы), по своему субмикроскопическому строению весьма гетерогенны. Различные авторы идентифицируют от двух до шести типов клеток [8, 10, 14]. Согласно нашим данным, в тимусе мышей на ультраструктурном уровне можно условно выделить следующие 4 типа эпителиальных клеток:

1-й тип. Светлые звездчатые клетки с длинными, отходящими в разные стороны цитоплазматическими отростками, которые соединены между собой десмосомами. В цитоплазме содержится хорошо развитая зона Гольджи, многочисленные везикулы, встречаются электронноплотные гранулы. Эти клетки располагаются в основном в корковой части тимуса, их считают ответственными за секрецию гормонов [14].

2-й тип. Темные клетки, характеризующиеся высокой электронной плотностью ядра и цитоплазмы. В последней много вакуолей, иногда содержащих аморфный осмиофильный материал, набухшие митохондрии и расширенные элементы ШЭР. Клетки располагаются преимущественно в глубокой зоне коры тимуса.

3-й тип. Промежуточные клетки, имеющие субмикроскопические признаки, присущие клеткам 1-го и 2-го типов.

4-й тип. Большие медуллярные клетки — крупные клетки с обильной электронносветлой цитоплазмой и округлыми эухроматиновыми ядрами. В цитоплазме содержатся многочисленные элементы ШЭР,

митохондрии, рибосомы, число везикул, иногда с тем, что это секреторные везикулы. Через 7 и 14 сут после операции в клетках (тип 1) корковой части тимуса по размеру и форме ядерных включений. В последних иногда видны (рис. 2). Незначительное уве-



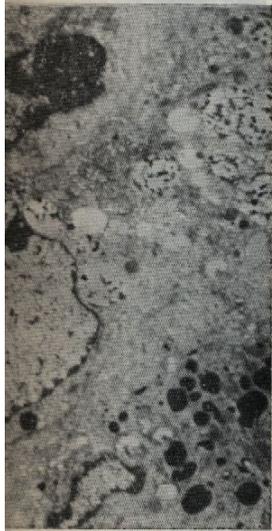
Рис. 3. Эпителиальная клетка коры тимуса адреналэктомированной мыши с большим количеством гранул. Десмосома ука-

заны также в клетках пролиферативных клеток (тип 2). В этих клетках наблюдается некое разделение и цистерн ШЭР. В некоторых клетках интактных тимусов увеличивается содержание  $\beta$ -гранул. Необходимо отметить, что у старых животных значительно возрастает количество гранул различного размера и целые скопления (рис. 3) гранул, что свидетельствует о секреторной природе этих клеток.

Как известно, в тимусе присутствуют клетки-киллеры, а также гранулы в цитоплазме — (БГЛ). Причем показано, что число БГЛ повышено [3]. Вывод: выделяемые клетки разнообразны по строению эпителиальных клеток (не имеют десмосом и тонофибрилл). Вывод: выделяемые клетки нельзя отнести к эпителиальным. Возможно, это э-

едыдущие исследования [3], эктомии происходит в сосудах плазме крови оперированных адrenaлэктомированных собак, печенки, увеличение массы продолжает прогрессировать и доказательством зависимости от кортикостероидов в орга-

Особенно значительные изменения наблюдали в стромальных



а коры тимуса адrenaлэктомированной мыши.  $\times 7000$ .

железы, характеризующаясь признаками (тонофибриллы, строению весьма гетерогенны от двух до шести типов и, в тимусе мышечной ткани выделить следующие 4 типа

с длинными, отходящими в отростками, которые соединены содержатся хорошо разветвленные, встречаются электроны в основном в кортикальных за секрецию гормо-

ющиеся высокой электронной плотности много вакуолей, темный материал, набухшие цистерны. Клетки располагаются

обладающие субмикроскопические

— крупные клетки с обильными округлыми эухроматиновыми ядрами и цистерны ШЭР,

митохондрии, рибосомы и полисомы. Под плазмолеммой — большое число везикул, иногда с электронноплотной сердцевиной. Полагают, что это секреторные везикулы. С помощью десмосом эти клетки контактируют с другими видами эпителиальных клеток.

Через 7 и 14 сут после адrenaлэктомии в светлых звездчатых клетках (тип 1) корковой части тимуса увеличивается число варьирующих по размеру и форме осмиофильных гранул (ОГ), а также липидных включений. В некоторых клетках наблюдали явления дегрануляции и прослеживали все этапы превращения гранул в вакуоли. В последних иногда видны мелкие электронноплотные включения (рис. 2). Незначительное увеличение числа ОГ, часто запустевших, отме-

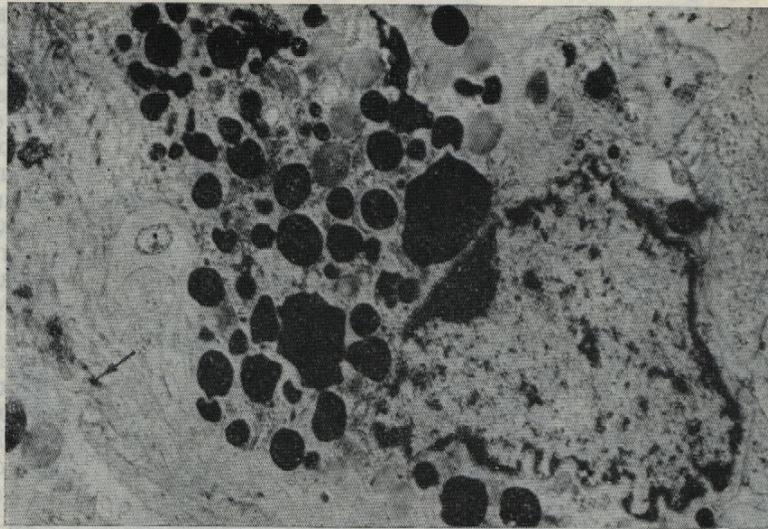


Рис. 3. Эпителиальная клетка корковой зоны тимуса адrenaлэктомированной мыши с большим количеством осмиофильных гранул; Десмосома указана стрелкой. Электронограмма.  $\times 10\ 000$ .

чали также в клетках промежуточного, 3-го типа. В темных эпителиальных клетках (тип 2) субмикроскопические изменения менее выражены, наблюдается некоторое расширение перинуклеарного пространства и цистерны ШЭР, митохондрии более набухшие, чем в аналогичных клетках интактных животных. В клетках 4-го типа уменьшено число электронноплотных гранул, появляются большие вакуоли, увеличивается содержание  $\beta$ -гранул гликогена.

Необходимо отметить, что в тимусе адrenaлэктомированных мышечной значительно возрастает число клеток, очень редко встречающихся у интактных животных. Это крупные клетки с эухроматиновыми ядрами с извилистой поверхностью, в цитоплазме — большое число ОГ различного размера и электронной плотности, иногда образующих целые скопления (рис. 3), тубулярные образования, свидетельствующие о секреторной природе этих клеток.

Как известно, в тимусе выявляются (небольшое число) естественные клетки-киллеры, а также содержащие электронноплотные гранулы в цитоплазме — большие гранулосодержащие лимфоциты (БГЛ). Причем показано, что в крови адrenaлэктомированных мышечной число БГЛ повышено [3]. Возникает вопрос: «Не являются ли описываемые клетки разновидностью БГЛ?» Однако БГЛ (в отличие от эпителиальных клеток) не имеют длинных цитоплазматических отростков, десмосом и тонофибрилл. Исходя из этих же признаков, рассматриваемые клетки нельзя отнести и к другим видам гранулосодержащих клеток. Возможно, это эпителиальные клетки, субмикроскопическое

строение которых изменено вследствие нарушения их функционального состояния.

К сожалению, достоверная информация о содержании и секреции тимических факторов при недостатке кортикостероидов чрезвычайно ограничена. По данным Комса и соавт. [6], через 15 сут после адrenaлэктомии содержание тимического гормона в ткани зубной железы крыс снижено. Кортикостерон (но не кортизол!) вызывает резкое повышение уровня гормона. Однако кроме фактора Комса описаны еще не менее пяти других тимических гуморальных факторов, содержание которых после адrenaлэктомии пока не изучено. Нет еще достаточных сведений и о том, какой именно тип эпителиальных клеток секреторирует тот или иной гормон. Существуют лишь фрагментарные

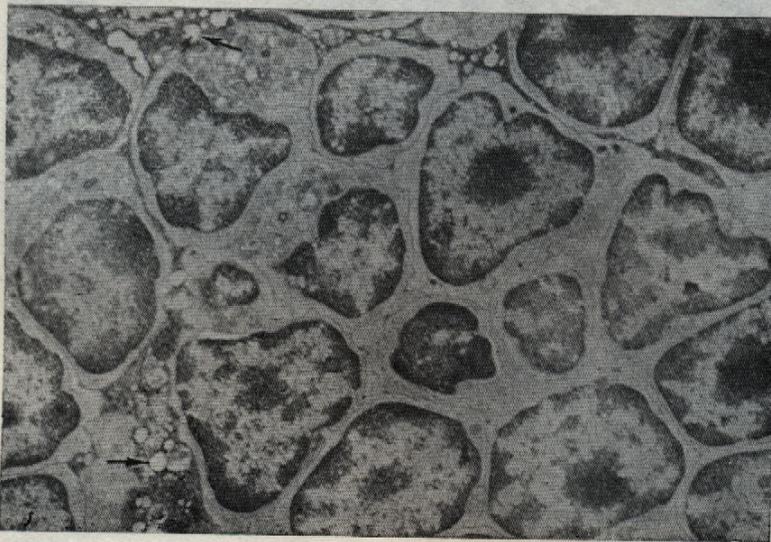


Рис. 4. Фрагмент «клетки-няньки» в коре тимуса адrenaлэктомированной мыши:

Многочисленные вакуоли в дендритных отростках эпителиальных клеток указаны стрелкой. Электронограмма.  $\times 5000$ .

данные, указывающие на то, что тимозины вырабатываются только светлыми эпителиальными клетками коры, а тимопоэтин — большими медуллярными. Следовательно, выявленные изменения ультраструктуры обоих типов клеток эндокринного эпителия позволяют высказать предположение лишь о дисфункции гормонообразования, но не о его характере в тимусе при недостатке кортикостероидов.

**Стромальные мезенхимальные клетки.** Существенных изменений числа макрофагов и их субмикроскопической организации после удаления надпочечников у мышей не обнаружено. Макрофаги — характерные гигантские клетки, не содержащие десмосом и тонофиламентов, как и в тимусе интактных животных, располагались в основном на границе между корковым и мозговым слоями, содержали в цитоплазме хорошо развитую зону Гольджи, обилие цистерн ШЭР, фрагменты клеток, находящихся на разных стадиях утилизации, различные лизосомы и фагосомы.

В мозговом слое тимуса изредка встречались дендритные (интердигитирующие) клетки или клетки Лангерганса, которые, как предполагают, секреторируют фактор, активизирующий тимоциты, необходимый для оптимального ответа Т-клеток [15]. Это крупные клетки характерной формы, с неровными краями, длинными отростками, охватывающими прилегающие лимфоциты, обильной светлой цитоплазмой, в которой содержится большое число мелких везикул и скопления элементов гладкого эндоплазматического ретикулума, а также хоро-

шо развитая зона Гольджи с верхностью, гетерохроматической узкой полоской, центральным ядром — одна-две нуклеолы и десмосомы отсутствуют. Цифрических палочкообразных томированных мышечных волокон в поле зрения не было. Число электронноплотных

**Лимфостромальные клетки.** Что элементы стромы в тимусе в сложных морфологических структурах, что отражает их функцию, — это отражает их функцию. Два наиболее изученных типа — макрофагальные розетки

Эпителиальные клетки тимуса по сравнению с нормальными мышцами ризовались увеличенным количеством вакуолей в дендритных отростках цитоплазме и отростках. В тимусе лимфоидных элементов в комплексах, были описаны лимфоидные комплексы, были описаны лимфоидные комплексы и ультраструктуры выявлены.

У некоторых адrenaлэктомированных мышей 7, 14 и 21 сут после операции числа больших гранулоцитов и базофилов. В плазме иногда образование в них

Таким образом, проведенные исследования литературы и наших предположений о влиянии кортикостероидов в организме на тимус. При адrenaлэктомии в тимусе происходят существенные изменения ультраструктуры лимфоидных элементов и лимфостромальных клеток. Эти изменения регулируют внутри тимическую регуляцию Т-клеток, а также секреторную активность. Это может дать прямой ответ на вопрос о влиянии кортикостероидов на тимус. Эти данные могут дать прямой ответ на вопрос о влиянии кортикостероидов на тимус. Эти данные условно указывают на его

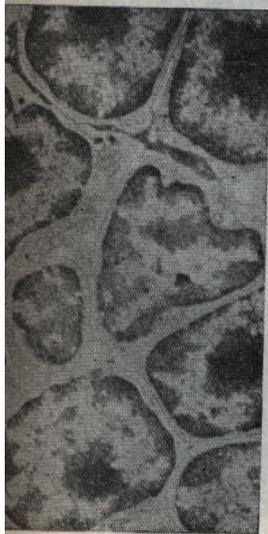
К. Р.

#### ADRENALECTOMY OF THYMIC LY

Bilateral adrenalectomy in mice, ultrastructure of its different associations in CBA mice. The number of nurse cells increases in cortical and medullary layers of the light star-shaped epithelial cells of «nurse cells». Cells containing complete accumulations in the cytoplasm. Those and other submicroscopic changes in the mechanism of thymic lymphocyte deficiency as well as disturban

Institute of Endocrinology and M

рушения их функционально-го содержания, особенно о содержании и секреции глюкокортикоидов [6]. Через 15 сут после адrenaлэктоми (она в ткани зубной желе-ортизол!) вызывает резкое фактора Комса описаны моральных факторов, содер-ка не изучено. Нет еще до-тип эпителиальных клеток вуют лишь фрагментарные



са адrenaлэктомированной  
телиальных клеток указаны  
5000.

ы вырабатываются только а тимопоэтин — большими изменения ультраструкту-ия позволяют высказать образования, но не о его стероидов.

Существенных изменений й организации после уда-кено. Макрофаги — харак-есмосом и тонофиламен-располагались в основном лоями, содержали в цито-илие цистерн ШЭР, фраг-диях утилизации, различ-

ались дендритные (интер-са, которые, как предпо-ий тимоциты, необходи-Это крупные клетки ха-инными отростками, охва-ной светлой цитоплазмой, х везикул и скопления гикулума, а также хоро-

шо развитая зона Гольджи. Бухтообразное ядро — с зубчатой по-верхностью, гетерохроматин расположен у ядерной мембраны в виде узкой полоски, центральная часть ядра имеет «пятнистый» вид. В ядре — одна-две нуклеоли с размытыми очертаниями. Тонифибриллы и десмосомы отсутствуют. Для этих клеток характерно наличие специфических палочкообразных телец — гранул Бирбека. У адrenaлэктомированных мышей в этих клетках отмечалось некоторое увеличение числа электронноплотных включений и фаголизосом.

**Лимфостромальные клеточные комплексы.** Выше уже указывали, что элементы стромы в тимусе расположены не хаотично, а находятся в сложных морфологических ассоциациях с лимфоидными элементами, что отражает их функциональную взаимозависимость. Мы рассмотрели два наиболее изученных вида клеточных комплексов: «клетки-няньки» и макрофагальные розетки.

Эпителиальные клетки в «клетках-няньках» у адrenaлэктомированных мышей по сравнению с таковыми у интактных животных характеризовались увеличенным числом осмиофильных гранул в цитоплазме и вакуолей в дендритных отростках (рис. 4). Многие митохондрии в цитоплазме и отростках были набухшими. Изменения ультраструктуры лимфоидных элементов, расположенных интрацеллюлярно в этих комплексах, были описаны выше. Отчетливые изменения топографии и ультраструктуры лимфоцитомacroфагальных комплексов не выявлены.

У некоторых адrenaлэктомированных мышей в коре тимуса через 7, 14 и 21 сут после операции отмечали незначительное увеличение числа больших гранулосодержащих лимфоцитов, плазмоцитов и тканевых базофилов. В плазмocyтах наблюдали набухание митохондрий иногда образование в них миелиновых фигур.

Таким образом, проведенные исследования подтвердили данные литературы и наших предыдущих работ о том, что недостаток кортико-стероидов в организме сопровождается гипертрофией лимфоидных клеток тимуса. При адrenaлэктомии впервые были выявлены значительные изменения ультраструктуры различных видов стромальных элементов и лимфостромальных комплексов этого органа, которые регулируют внутритимические процессы созревания и дифференцировки Т-клеток, а также секрецию гормональных факторов, что указывает на существенную роль микроокружения в механизме действия кортико-стероидов на тимоциты. Полученные результаты, хотя и не могут дать прямого ответа о количественных и качественных изменениях секреторной активности тимуса после адrenaлэктомии, но безусловно указывают на его дисфункцию.

K. P. Zak, M. L. Vinnitskaya

#### ADRENALECTOMY EFFECT ON THE ULTRASTRUCTURE OF THYMIC LYMPHOID AND STROMAL ELEMENTS

Bilateral adrenalectomy induces considerable changes in thymic cellular structure, ultrastructure of its different lymphoid and stromal elements as well as in their associations in CBA mice. The number of densely arranged lymphocytes, especially blasts increases in cortical and medullary layers. The number of osmiophilic granules rises in the light star-shaped epithelial cells and in the reticular cells of functional complexes of «nurse cells». Cells containing nuclei with winding surface and a great number of nuclear pores appear. Electron-dense granules of different sizes and shapes form complete accumulations in the cytoplasm of such cells. Signs of vacuolization are observed. Those and other submicroscopic changes show an essential role of microenvironment in the mechanism of thymocyte proliferation and differentiation under corticosteroid deficiency as well as disturbance of thymic secretory function.

Institute of Endocrinology and Metabolism, Kiev

