

DOI 10.31718/2077–1096.23.3.130

УДК 611.43:616.151.1-092.9

Приходько О.О., Понирко А.О.

СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ ТИМУСА ПРИ КЛІТИННОМУ ЗНЕВОДНЕННІ

Сумський державний університет

Мета дослідження полягала у вивчені закономірностей субмікроскопічних змін паренхіми тимуса щурів за умов дії клітинного зневоднення. Матеріал та методи. Дослідження проводилося на 45 білих шурах-самцях зрілого віку. Використано електронно-мікроскопічний метод дослідження. Результати. Нестача води є одним з найбільш стресових станів для організму, що призводить до змін у всіх досліджуваних органах. Важливість функціонального стану лімфоїдних органів для гомеостазу всього організму обумовлює актуальність іх дослідження за дії різних чинників, в тому числі дегідратації. Встановлено, що через 10 діб експерименту розвивається легкий ступінь клітинного зневоднення, за якого частина клітин має ознаки апоптозу на різних стадіях. Виявлено також багато клітин в стані мітозу, зокрема в кірковій речовині часточок тимуса та субкапсулярній зоні. Було проаналізовано, що через 20 діб експерименту розвивається середній ступінь клітинного зневоднення, характерним для якого є те, що як малі, так і середні тимоцити мають деформоване ядро, контур їх каріолеми нерівний. Через 30 діб за умов тяжкого ступеню клітинного зневоднення зафіксовано зменшення кількості малодиференційованих лімфоїдних клітин, які є попередниками Т-лімфоцитів. Каріолема тимоцитів з нечітким контуром, підвищеної осміофільноти. Всі судини в паренхімі залози розширені і повнокровні, частина має пошкоджену стінку, що призвело до мікро-крововиливів, в просвіті ознаки стазу та сладж-синдрому. Висновки. Отже, через 10-30 діб клітинної дегідратації з'являються ознаки акцидентальної трансформації загруднинної залози. Зі збільшенням терміну експерименту всі зміни наростиють. Отримані результати можуть бути використані морфологами та імунологами, адже їх можна інтерполювати на інші лімфоїдні органи за умов зневоднення, а також вони є підґрунттям для розробки методів профілактики та лікування станів, пов'язаних з дегідратацією

Ключові слова: загруднинна залоза, дегідратація, апоптоз, сладж-синдром, тимоцити.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дане дослідження є частиною планової науково-дослідної роботи кафедри морфології Сумського державного університету «Морфологічні аспекти експериментальної патології внутрішніх органів та опорно-рухового апарату», № державної реєстрації 0123U101135.

Вступ

Нестача води є одним з найбільш стресових станів для організму людини і тварин [1]. Вода бере участь у майже всіх процесах в організмі [2]. Зважаючи на зростання частоти захворювань, які призводять до такого ускладнення як зневоднення, а також непередбачуваності умов навколишнього середовища актуальним завданням є вивчення особливостей впливу зневоднення на організм [3, 4]. При внутрішньоклітинній гіперосмолярній дегідратації дефіцит розвивається в більшій мірі води, а не електролітів. При цьому стані позаклітинна рідина має підвищена осмоляльність, тому відбувається вихід рідини з клітини, спостерігається недостатність всіх рідин організму [5].

За умов дегідратації організму змін зазнають всі досліджувані органи та тканини. R.J. Perry зі співаторами дослідили, що позаклітинне зневоднення призводить до збільшення концентрації кортикостерону і катехоламінів у плазмі крові, підвищує ризик кетоацитодозу [2]. Y.-H. Tsai з колегами підтвердили, що стан дегідратації пов'язаний із прогресуванням об'єму інфаркту та зниженням церебрального кровотоку під час гострої стадії ішемічного інсульту [3]. T.W. Bailey, N.C. Nascimento, а також M. Alves з колегами стверджують, що зневоднення негативно впливає на фонацію, викликаючи зменшення товщини та еластичності голосових зв'язок [4, 6, 7]. В.Ю. Ковчун та ін. описують в дослідженнях, що

зневоднення призводить до деформації судин підшлункової залоз, їх розширення та повнокрів'я [5]. О.Є. Ніпот зі співавторами виявили взаємозв'язок між рівнем постгіпертонічного гемолізу еритроцитів та ступенем зневоднення, що пов'язано зі збільшенням концентрації солі та підвищеннем чутливості еритроцитів ссавців за таких умов [8]. Організм спортсменів та фізично активних людей також зазнає зневоднення під час тренувань [9]. Вираженість змін залежить від ступеню зневоднення, його виду, умов навколишнього середовища, а також режиму харчування [1, 5].

Вивчення впливу екзогенних факторів на органи лімфоїдної (імунної) системи, зокрема на первинний орган тимус, є важливим завданням морфологів. Загруднинна залоза відповідає за антигеннезалежну проліферацію та диференціацію Т-лімфоцитів [10]. Тимус є унікальним комплексним органом нейроендокринної та імунної системи, здатним продукувати різні біологічно активні речовини, що відіграють головну роль в імунологічних та багатьох інших фізіологічних процесах [11]. На будову загруднинної залози різni фактори впливають по-різному, але основний напрямок дії спрямований або на пригнічення її функції, або на стимулування. Проте все залежить від дози та тривалості впливу [12, 13]. Деякі чинники при короткотривалому впливі діють як імуностимулятори, а за довготривалого впливу призводять до виснаження та/або атрофії паре-

нхіми тимуса [14, 15].

В сучасній науковій літературі немає даних щодо закономірностей змін структурних компонентів паренхіми тимуса щурів на субмікроскопічному рівні за умов клітинного зневоднення.

Мета дослідження

Дослідити та проаналізувати закономірності змін паренхіми загруднинної залози щурів за умов дії різних ступенів клітинного зневоднення на клітинному рівні.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження проведено в 2020-2021 рр. на кафедрі морфології Сумського державного університету на 45 білих щурах-самцях зрілого віку масою 165-195 г.

30 експериментальних тварин були піддані клітинній дегідратації шляхом отримання 1,2% гіпертонічного розчину кухонної солі як напою та гранульованого комбікорму як їжі впродовж 10 (перша група), 20 (друга група) та 30 днів (третя група). Контрольні групи тварин перебували на стандартному питтевому та харчовому раціоні віварію впродовж 10, 20 та відповідно 30 днів. Ступінь дегідратації визначали за різницею висушеноті тушки. За показником водного дефіциту розрізняють три ступені дегідратації: легкий (дефіцит води досягає 2-5%), середній (5-10%) і важкий (більше 10%) [5].

У першій групі моделювалася клітинна дегідратація легкого ступеню. Тваринам за дві години до виведення з експерименту вводили внутрішньоочеревинно 3% розчин радонату натрію і визначали в крові воду позаклітинного сектору. Потім тушку висушували в сушильній шафі при $t=105^{\circ}\text{C}$ і вираховували загальну вологість. За різницею між показниками загальної та позаклітинної вологи вираховували клітинну воду. В цій групі дефіцит клітинної води по відношенню до контролю складав 2-5% – легкий ступінь зневоднення (досягається протягом 7-10 днів). Друга група щурів – протягом 16-20 днів досягався 5-10% дефіцит клітинної вологи, тобто середній ступінь даного зневоднення. Третя група – моделювання важкого ступеня клітинної дегідратації, коли дефіцит клітинної води стосовно до контролю становив вище 10%. Сублетальний ступінь клітинного зневоднення досягався за 28-30 днів досліду.

Перед забором матеріалу тварин знечулювали передозуванням наркозу. Забір матеріалу проводили згідно із загальноприйнятими правилами. Зразки тканини тимуса фіксували у глютаральдегіді за Карновським, після чого у 1 % тетраоксиді осмію за Паладе. Після проводили через спирти зростаючої концентрації (50%, 70%, 80%, 96%, абсолютний спирт) та заливали у суміш епоксидних смол і полімеризували. Ультра-

тонкі зрізи готували на ультрамікротомі УМТП-4. Вивчення та фотографування об'єктів проводили за допомогою мікроскопу ПЕМ-125 при прискорюючій напрузі 90 кВ і збільшеннях на екрані мікроскопу 4050x-10000x.

Усіх піддослідних тварин утримували в умовах віварію Сумського державного університету. Дослідження проводили згідно положень «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), Директивам Ради Європи 86/609/EEC (1986), Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001).

Результати дослідження та їх обговорення

Субмікроскопічна будова тимуса білих щурів-самців контрольної групи тварин відповідає видовій нормі. Зовні орган оточений капсулою, що віддає в товщу паренхіми залози перегородки, які поділяють її на часточки. Кожна часточка побудована з кіркової та мозкової речовини. В кірковій речовині часточек тимуса морфологічно диференціюються наступні клітини: епітеліоретикулоцити (формують кіркову клітинну сітку), макрофаги, клітини-ннянки, клітини-попередники тимоцитів (пролімфоцити, лімфобласти). В мозковій речовині тимуса – епітеліоретикулоцити (формують мозкову клітинну сітку), макрофаги, дендритні клітини, клітини-попередники тимоцитів (пролімфоцити, лімфобласти), а також тільце Гассаля (рис. 1 Б). На межі між кірковою та мозковою речовиною часточек спостерігаються епітеліоретикулоцити з округлим ядром, що містить глибки гетерохроматину і ядерце. Цитоплазма збіднена органелами, з поодинокими рибосомами, мітохондріями, комплексом Гольджі та невеликими скupченнями тонофіламентів. Під капсулою між епітеліоретикулоцитами спостерігаються густо розташовані малодиференційовані лімфоїдні клітини (пролімфоцити та лімфобласти), які є попередниками Т-лімфоцитів. В кірковій речовині часточек загруднинної залози контрольних зрілих щурів виявлено малі тимоцити, для яких характерним є округла форма з великом чітко окресленим округлим ядром, що займає майже всю клітину (рис. 1 А). В мозковій речовині часточек загруднинної залози містяться більш зрілі тимоцити, більших розмірів, меншої електронної щільності (світлі), з більшою площею цитоплазми, ніж в лімфоцитів кіркової речовини (рис. 1 Б).

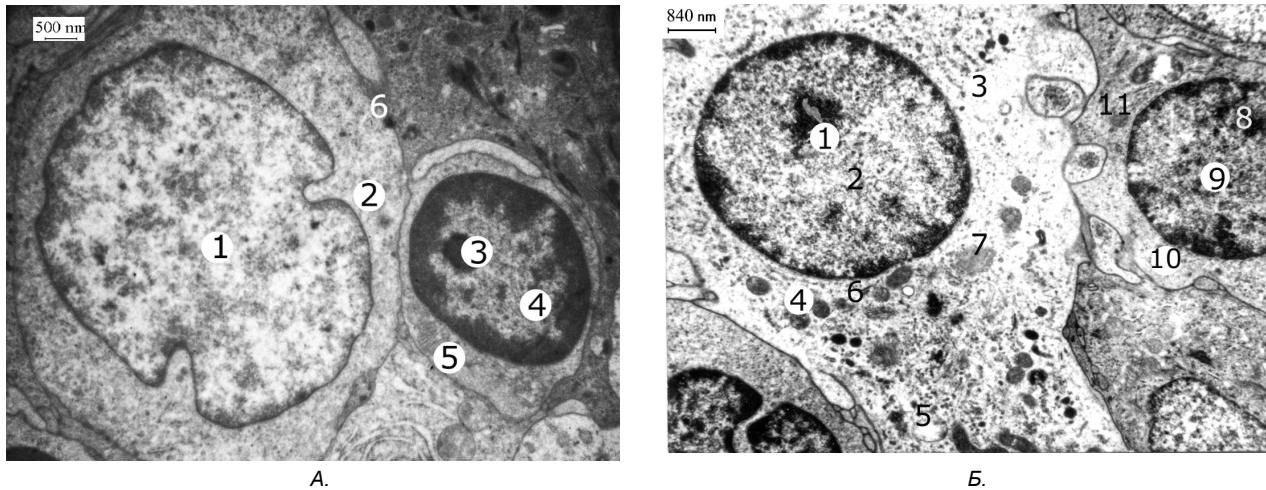


Рис. 1. Фрагмент кіркової (А) та мозкової (Б) речовини щура-самця контролальної групи тварин.
Електронна фотографія. Зб.: ×8000.

Позначення: А: 1 – ядро епітеліоретикулоцита з переважанням еухроматину; 2 – цитоплазма епітеліоретикулоцитів; 3 – ядерце в ядрі (4) тимоцита; 5 – мітохондрії в цитоплазмі тимоцита; 6 – десмосома. Б: 1 – ядерце в ядрі (2) епітеліоретикулоцитів; 3 – цитоплазма епітеліоретикулоцитів містить мітохондрії (4), вакуолі (5), кератинові тонофіламенти (6), комплекс Гольджі (7); 8 – ядерце в ядрі (9) тимоцита; 10 – цитоплазма тимоцита містить мітохондрії (11).

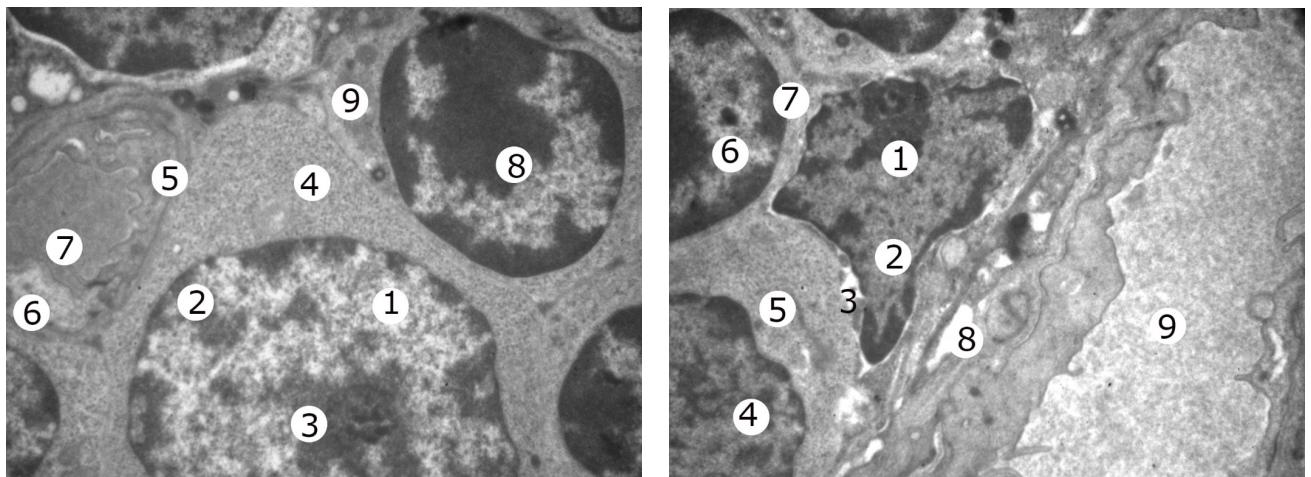


Рис. 2. Ультраструктурна організація кіркової речовини тимуса експериментальної тварини. Клітинна дегідратація, 10-та доба. Електронна фотографія. Зб.: ×8000.

Позначення: 1 – еухроматин у ядрі лімфобласта; 2 – гетерохроматин у ядрі лімфобласта; 3 – ядерце лімфобласта; 4 – цитоплазма лімфобласта; 5 – базальна мембрана гемокапіляра; 6 – цитоплазма ендотеліоцита в стінці гемокапіляра; 7 – просвіт гемокапіляра; 8 – ядро тимоцита; 9 – цитоплазма тимоцита.

В усіх спостереженнях в тимусі експериментальних тварин візуалізуються ознаки вираженої акцидентальної трансформації з картиною «зорянного неба». На 10-ту добу від початку експерименту розвинувся легкий ступінь клітинного зневоднення. При вивчені субмікроскопічної будови загруднинної запози виявлено, що на 10 добу клітинного зневоднення епітеліоретикулоцити тимусу мають зірчасту форму, з'єднуються між собою довгими відростками. Форма ядра найчастіше округла, воно містить переважно еухроматин, ядерце добре візуалізується. Цитоплазма містить органели, а саме пучки тонофіламентів, мітохондрії, рибосоми, канальці грану-

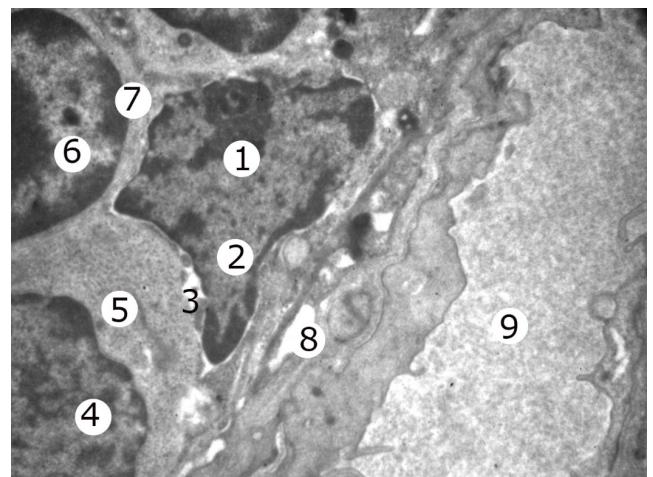


Рис. 3. Фрагмент кіркової речовини тимуса експериментальної тварини. Клітинна дегідратація, 10-та доба. Електронна фотографія. Зб.: ×8000.

Позначення: 1 – ядерце в деформованому ядрі інтердигітуючої клітин; 2 – еухроматин в ядрі; 3 – розширений навколо-ядерний простір; 4 – ядро лімфобласта; 5 – цитоплазма лімфобласта; 6 – ядро тимоцита; 7 – цитоплазма тимоцита; 8 – розшаровання базальної мембрани судини; 9 – деформований просвіт судини.

лярної ендоплазматичної сітки (ГЕС) та гранули. Кіркова речовина в основному представлена малими та середніми лімфоцитами та макрофагами. Субкапсулярна зона містить лімфобласти типової будови. Ядра лімфобластів типової переважно округлої форми, світлі, з одним або двома ядерцями. Гетерохроматин розміщений у вигляді малих глибок по периферії ядра, переважає еухроматин. Багато клітин на різних стадіях апоптозу (рис. 2).

Мозкова речовина представлена малими, середніми та великими Т-лімфоцитами, макрофагами та епітеліоретикулоцитами. Всі вищезгадані клітини мають типову будову. Відбувається

зменшення щільності розташування тимоцитів як в кірковій, так і в мозковій речовині часточок загруднинної залози. Малі тимоцити мають округле ядро з компактним розташуваним хроматином, ядерцем та вузьким обідком цитоплазми. Частина тимоцитів має ознаки апоптозу на різних стадіях. Гетерохроматин розташований вздовж ядерної оболонки, конденсований. Кариолема має нерівні та нечіткі контури. Навколо ядерний простір клітин розширеній, електронно-світлий. Цитоплазма просвітлена, місяцями чергується з ущільненою цитоплазмою. Кристи мітохондрій в цитоплазмі тимоцитів розташовані невпорядковано, матрикс неоднорідний та переважно електронно-світлий. Частина клітин містить мітохондрії середніх розмірів, що розташуються вздовж каналців, кристи розміщені нещільно.

Частина клітин з ознаками апоптозу на різних стадіях, багато преапоптичних клітин. Одночасно з цим багато клітин в стані мітозу, особливо в кірковій речовині та субкапсулярній зоні. Ядерна оболонка тимоцитів має нечіткий контур, підвищеної осміофільноти. ГЕС розвинена слабо, наявні ділянки її фрагментації та лізису. Пікнотично змінені ядра тимоцитів є темними, менших розмірів та зміненої форми, містять конденсований хроматин. Навколо ядерний простір нерідко розширеній, виражений. Мітохондрії зменшені в розмірах, дещо деформовані, матрикс ущільнений.

Кількість макрофагів з ознаками вираженої фагоцитарної активності та вираженої лізосомальної реакції помірна. Їх цитоплазма містить залишки фагоцитованих апоптозних тілець. Форма клітин частіше продовгувата. Будова дендритних клітин типова, проте в деяких клітинах довгі інтер-

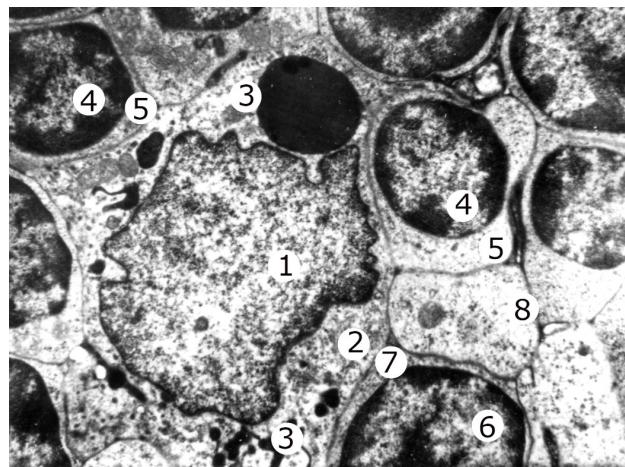


Рис. 4. Ультраструктурна організація мозкової речовини тимуса щура. Клітинна дегідратація, 20-та доба. Електронна фотографія. 36.: ×8000.

Позначення: 1 – деформоване ядро макрофага; 2 – цитоплазма макрофага; 3 – включення в цитоплазмі макрофага; 4 – конденсація хроматину в ядрі малого тимоцита; 5 – безорганельна цитоплазма малого тимоцита; 6 – ядро середнього тимоцита; 7 – цитоплазма середнього тимоцита; 8 – вакуолеподібні структури в міжклітинному просторі, ділянка клітинної деструктуризації.

дигітуочі цитоплазматичні відростки є звуженими, деформованими, не утворюють чітких контактів з іншими клітинами. Чітко візуалізуються межі між клітинами. У цитоплазмі незначна кількість органел, присутні лізосоми та фаголізосоми. У поодиноких випадках окремі дендритні клітини мають ознаки електронно-ущільненої цитоплазми, деформовані, інвагіновані та значно електронно-ущільнені ядра. В мозковій речовині часточок тимуса виявлено зменшення кількості дрібних тілець тимуса (Гассаля). Переважна частина судин гемомікроциркуляторного русла не зазнала структурних змін. Проте поодинокі гемокапіляри та артеріоли були повнокровними. Базальна мембрана судин розшарована, потовщенна (рис. 3).

При проведенні субмікроскопічного дослідження тканини загруднинної залози через 20 діб клітинної дегідратації всі зміни подібні до попереднього терміну дослідження, проте ознаки зневоднення клітин є більш вираженими. Зросла кількість активних макрофагів по всій паренхімі органа (рис. 4). Ознакою їх активності є те, що цитоплазма заповнена численними електронно-ущільними включеннями. Це і неперетравлені рештки інших клітин, і залишки еритроцитів в місцях мікрокроволививів. Форма клітин частіше продовгувата, проте контури клітинної оболонки місяцями не чіткі. Форма ядра неправильна, дещо зморщена, ядерна оболонка утворює численні випини і заглибини. Дрібні гранули та вакуолі розкидані по всій цитоплазмі. Цитоплазма містить невелику кількість мітохондрій, вони частково зруйновані, кристи мітохондрій помірно ущільнені.

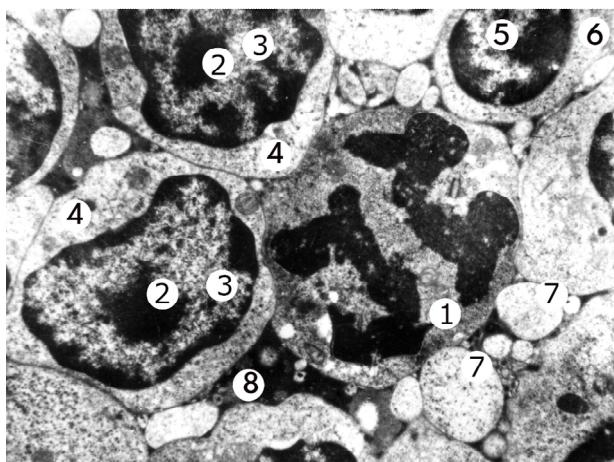


Рис. 5. Ультраструктурна організація мозкової речовини тимуса щура. Клітинна дегідратація, 20-та доба. Електронна фотографія. 36.: ×8000.

Позначення: 1 – клітина в стані мітозу; 2 – ядерце Т-лімфобласті; 3 – конденсація хроматину в ядрі Т-лімфобласті; 4 – цитоплазма Т-лімфобласті; 5 – конденсація хроматину в ядрі тимоцита; 6 – цитоплазма тимоцита; 7 – вакуолеподібні структури в міжклітинному просторі; 8 – клітинний дегрим.

Клітинний склад кіркової та мозкової речовини часточок загруднинної залози щурів-самців через 20 діб клітинного зневоднення відповідав контролю. Проте як малі, так і середні тимоцити мають дещо зморщене, деформоване ядро, контур каріолеми нерівний. Гетерохроматин в ядрі конденсований грудками, в деяких клітинах ознаки каріопікнозу, еухроматин взагалі відсутній. Цитоплазма займає меншу частину клітини, ніж в контрольної групи тварин. Навколоядерний простір в частині клітин розширеній. Контур клітинної оболонки також є нерівним і нечітким, а міжклітинний простір розширений. Багато клітин на різних стадіях апоптозу. Щодо органел, які знаходяться в цитоплазмі тимоцитів, то кристи мітохондрій розташовані невпорядковано, їх матрикс неоднорідний та переважно електронно-світлий. Канальці ГЕС майже відсутні, рибосоми також. Частим є явище вакуолізації цитоплазми клітин, електронно-світлі пухирці мають полігональну форму. Багато клітин в стані мітозу, особливо в підкапсульній зоні (рис. 5).

Також присутня велика кількість моноцитів та полісегментоядерних нейтрофілів. Моноцити мають типову будову, їх ядро не зазнає виражених змін. Мають округлу форму з невеликою кількістю слабо виражених сферичних інвагінацій плазматичної мембрани та бобоподібної форми ядро. У їх цитоплазмі присутні поодинокі округлі, зменшені в розмірах мітохондрії з однорідним

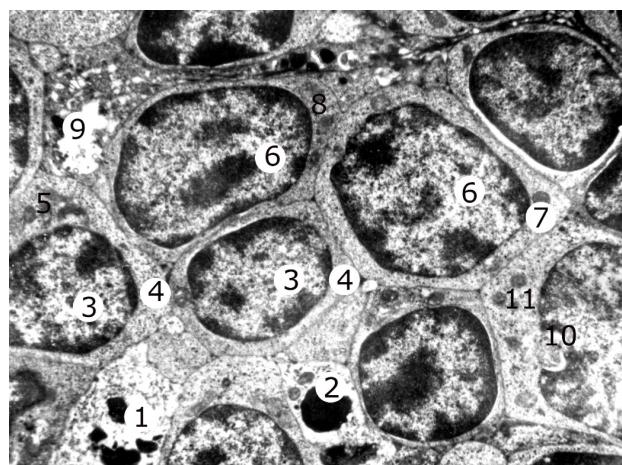


Рис. 6. Ультраструктурна організація кіркової речовини тимуса щура. Клітинна дегідратація, 30-та доба. Електронна фотографія. 3б.: ×6000.

Позначення: 1 – клітина в стані каріолізу; 2 – клітина в стані каріопікнозу; 3 – ядро тимоцита; 4 – цитоплазма тимоцита; 5 – мітохондрії в цитоплазмі тимоцита; 6 – ядро Т-лімфобласта; 7 – цитоплазма Т-лімфобласта; 8 – мітохондрії в цитоплазмі Т-лімфобласта; 9 – клітинний дегерит; 10 – інвагінація каріолеми епітеліоретикулоцита; 11 – ланцюжок дрібних мітохондрій в цитоплазмі епітеліоретикулоцита.

Через 30 діб клітинного зневоднення на субмікроскопічному рівні, як і в попередньому терміні спостереження, виявлено клітини на різних стадіях апоптозу та некрозу (рис. 6). В ділянках гніздового спустошення щільність клітин дуже

матриксом помірної електронної щільності та лізосоми. У мозковій речовині тимусу зрідка зустрічаються тільця Гассала. Структури поверхневого шару тілець мають невелику кількість виражених виростів цитоплазми та не мають кератинового ядра. Епітеліальні клітини, які є за морфологією нагадували клітини-няньки, не виявлено. Дендритні клітини переважно розташовані на межі між кірковою та мозковою речовиною часточок тимуса, поодинокі спостерігаються в мозковій речовині. Характерним для даного терміну дослідження є те, що вони не утворюють кластери з тимоцитами. Ядро містить в основному еухроматин, гетерохроматин дрібними глибками розташований вздовж контуру ядерної оболонки, остання нерівна, з випинаннями. Клітини не утворюють чітких контактів з іншими клітинами. Межі між ними добре візуалізуються, що пов'язано з розширенням міжклітинних просторів та відсутністю чітких контактів, десмосом. У цитоплазмі незначна кількість органел, є лізосоми та фаголізосоми.

Всі судини гемомікроциркуляторного русла зазнають структурних змін. Артеріоли та венули дещо розширені, повнокровні. Кровоносні капіляри переважно повнокровні, частина з пошкоджено стінкою. Деякі гемокапіляри навпаки звужені із замкнутим просвітом.

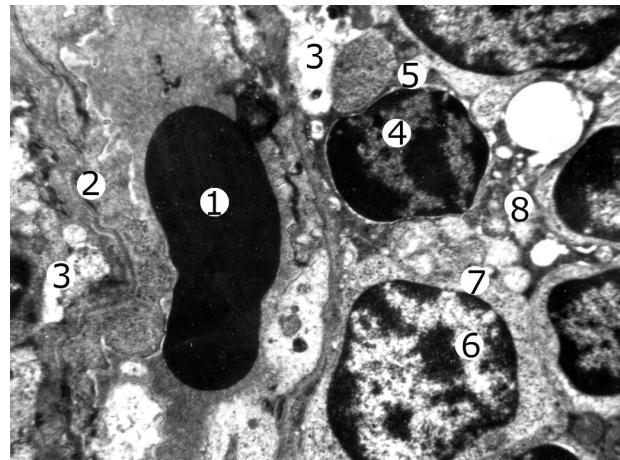


Рис. 7. Фрагмент мозкової речовини тимуса експериментальної тварини. Клітинна дегідратація, 30-та доба. Електронна фотографія. 3б.: ×8000.

Позначення: 1 – еритроцит в просвіті кровоносного капіляра; 2 – потовщена та набрякла базальна мембра; 3 – навколосудинний набряк; 4 – зморщене ядро тимоцита з конденсованим хроматином та розширенім навколоядерним простором; 5 – вузький обідок цитоплазми тимоцита; 6 – ядро лімфобласта; 7 – просвітлена безорганельна цитоплазма лімфобласта; 8 – вакуолеподібні структури у міжклітинному просторі.

мала, міжклітинні простори відповідно розширені, контакти між клітинами відсутні, простір заповнений аморфною рідинкою. Епітеліоретикулоцити мають зірчасту форму, ядро неправильної форми, контури каріолеми посиленої осміофіль-

ності, нерівні, з множинними інвагінаціями та випинаннями, подекуди з ділянками лізису (рис. 6). Навколоядерний простір добре виражений. В частини клітин цитоплазма просвітлена, не містить органел. Частина містить пошкоджені органели – мітохондрії неправильної овальної форми з осміофільно ущільненим матриксом, по однокі пучки тонофіламентів, канальці гранулярної ендоплазматичної сітки звужені та деформовані. Часто спостерігаються епітеліоретикулоцити неправильної форми з ядром, що містить конденсований хроматин та з вакуолізованим цитоплазмою. В підкапсульній зоні та кірковій речовині порушені контакти між клітинами, вони чітко не візуалізуються. Лімфобласти мають деформовані ядра, контури ядерної оболонки нерівні, нечіткі. Гетерохоматин розміщений у вигляді глибок по периферії ядра. Цитоплазма містить осміофільні включення (рис. 6).

У цитоплазмі окремих лімфобластів присутні вакуолі з електронно-прозорим вмістом та ділянками цитолізу у вигляді просвітлення. Комплекс Гольджі розташований у оточенні множинних везикул. Мітохондрії у невеликій кількості, збільшені в розмірах, мають електронно-світливий матрикс та часто редуковані дезорієнтовані кристи. Фігури мітозу виявлені на різних стадіях. Зменшується кількість малодиференційованих лімфоїдних клітин, які є попередниками Т-лімфоцитів. Частина клітин з ознаками апоптозу на різних стадіях, багато преапоптичних клітин. Одночасно з цим багато клітин в стані мітозу, особливо в кірковій речовині та субкапсулярній зоні. Ядерна оболонка тимоцитів має нечіткий контур підвищеної осміофільноті. ГЕС розвинена слабо, наявні ділянки її фрагментації та лізису. Мітохондрії менших розмірів, деякі з них мають щільно розміщені кристи та ділянки просвітлення матриксу, часто розташовуються ланцюжками. Навколоядерний простір в багатьох клітинах розширеній. Ядро оточене вузьким обідком цитоплазми, зростає ядерно-цитоплазматичне співвідношення (рис. 6, 7). Вона містить поодинокі органели. Комплекс Гольджі зменшених розмірів, канальці ГЕС деформовані, вкорочені, містять поодинокі рибосоми. В частині клітин як ядро, так і цитоплазма електронно-ущільнені. Контур клітинної оболонки, як і плазматичної, нерівний. Частина клітин має вакуолізований цитоплазму, електронно-світлі пухирці мають полігональну форму.

Тільця Гассаля є поодинокими, сконцентровані в мозковій речовині часточок загруднинної залози. Дендритні клітини розташовані на межі між кірковою та мозковою речовою часточкою тимуса. Мають деформоване, дещо зморщене ядро, яке нерідко є гіперхромним, цитоплазма містить мітохондрії з просвітленим матриксом та зменшеною кількістю крист, вакуолізований комплекс Гольджі, канальці ГЕС із ділянками фрагментації та лізису.

Всі судини гемомікроциркуляторного русла

зазнають структурних змін, які подібні до попереднього терміну спостереження. Судини розширені, повнокровні, частина з пошкоджено стінкою, що призвело до мікрокрововиливів. Частина є явище стазу та сладж-синдрому. Базальна мембрана судин розшарована, набрякла, потовщена (рис. 7). Ядра ендотеліоцитів деформовані, часто з перегином, набряклі. Люменальна поверхня плазматичної оболонки утворює численні мікроворсинки, що спрямовані в просвіт судини. Цитоплазма ендотеліоцитів є електронно-ущільненою, містить поодинокі органели. Частина кровоносних капілярів має звужений деформований просвіт.

Схожі зміни всіх ланок судинного русла виявлено авторами при вивчені впливу зневоднення на структурну організацію підшлункової залози. Описується, що на 10 добу гіперосмолярного зневоднення розвивається повнокров'я судин, на 20 добу вени та венули розширені, повнокровні, деформовані, артеріоли мають різний діаметр просвіту, гемокапіляри розширені, навколосудинні простири з ознаками набряку. На 30 добу всі зміни ще більш виражені [5]. Отже реакція судин є неспецифічною.

R.G. Perry зі співавторами вводили тваринам фуросемід, провокуючи еуглікемічний кетоацидоз у шурів за умов позаклітинного зневоднення. Виявлено порушення процесу ліполізу і кетогенезу. Дані патологічні процеси також опосередковано впливають на інші органи, не враховуючи прямої дії зневоднення [2].

N.C. Nascimento та ін. моделювали загальне зневоднення за допомогою діуретика, після чого вивчали будову голосових складок кролів, та їх протеомний профіль. Понад 1600 білків були успішно ідентифіковані у всіх зразках голосових складок. Зниження регуляції білків, що беруть участь у мітохондріальному метаболізмі в голосових складках, свідчить про механізм запобігання окисного стресу, пов'язаного із системною дегідратацією [6, 16].

C. Duan з колегами дослідили, що зневоднення, спричинене обмеженим доступом до води, підвищує рівень експресії гена ren1n у нирках, знижує експресію генів інтерлейкіну-1 α та десмогліну-1. Експресія гена гіалуронідази-2 зростає після дегідратації. Отже, дефіцит щоденного споживання води впродовж 5 днів погіршує стан голосових складок, порушує вивільнення запальних цитокінів, знижує цілісність плазматичної мембрани клітин [17].

Авторами досліджено, що надмірна маса тіла та ожиріння є факторами, що зменшують вираженість наслідків дії зневоднення на організм. При відтворенні в експерименті умов внутрішньоклітинної дегідратації у шурів після восьмиденної гіперосмотичного поїння втрата маси тіла становила 15% у шурів без ожиріння, на 10 % у шурів з ожирінням. Незважаючи на зневоднення, кількість прийомів їжі у тварин з ожирінням не зменшилася, на відміну від тварин без ожиріння [18].

Схожі зміни на клітинному рівні виявлено авторами в структурі язика за умов клітинного зневоднення. Описують, що ядра міосимпластів мали зменшені розміри, контур каріолеми нерівний, з численними інвагінаціями, навколоядений простір клітин розширювався, цитоплазма містила зменшені в розмірах мітохондрії. Всі зміни поглиблювалися зі збільшенням терміну проведення експерименту [19].

В дослідженні при вивчені впливу пташиного ретровіруса на організм також виявлено збільшення кількості клітин з ознаками апоптозу та некрозу в паренхімі тимуса, проте на відміну від отриманих нами результатів кількість клітин з ознаками мітозу була меншою. Одержані авторами результати свідчать про те, що інфекція REV викликає апоптоз лімфоцитів тимусу, пригнічує проліферацію Т-лімфоцитів, змінює підмножини Т-клітин і посилює імуносупресивну дію [20].

Т.А. Deshayes з колегами проаналізували вплив зневоднення під час тренувань у спортсменів, а також фізично активних людей. Автори відзначили, що клінічно значимим зневодненням, що чинить вплив на організм людини, є дегідратація з рівнем втрати маси тіла мінімум 3 % [9].

Y-H. Tsai зі співавторами дослідили, що дегідратаційний стан призводить до зниження церебральної перфузії та загострення ішемічного ураження мозку. Це пов'язано з розвитком стазу та сладж-синдрому в судинах, що лише загострює клінічну картину, викликану спазмом судини. Всі зміни в судинах майже ідентичні [3].

Отже, зневоднення організму викликає зміни у всіх досліджуваних органах та тканинах. Зміни в судинному руслі є неспецифічними в різних органах.

Висновки

За умов впливу на організм клітинного зневоднення в паренхімі тимуса візуалізуються ознаки вираженої акцидентальної трансформації загруднинної залози. Через 10 діб клітинного зневоднення в паренхімі тимуса багато клітин в стані мітозу, зокрема в кірковій речовині часточок тимуса та субкапсулярній зоні. Через 20 діб експерименту малі та середні тимоцити з деформованим ядром, багато преапоптичних клітин та клітин в стані апоптозу, некрозу, кількість яких зі збільшенням терміну дослідження зростає. Всі судини розширені, повнокровні, в їх просвіті ознаки стазу та сладж-синдрому. Частина судин з пошкоджено стінкою, що призвело до мікрокрововиливів. Найбільш виражені зміни спостерігаються через 30 діб клітинної дегідратації.

Перспективи подальших досліджень пов'язані з вивченням субмікроскопічних змін структурної організації загруднинної залози за умов позаклітинного та загального зневоднення.

References

- Oleson S, Cox A, Liu Z, et al. In Vivo Magnetic Resonance Imaging of the Rat Vocal Folds After Systemic Dehydratation and Rehydration. J Speech, Language, and Hearing Research. 2020;63(1):135-42.
- Perry RJ, Rabin-Court A, Song JD, et al. Dehydration and insulinopenia are necessary and sufficient for euglycemic ketoacidosis in SGLT2 inhibitor-treated rats. Nat Commun. 2019;10:548.
- Tsai Y-H, Yang J-L, Lee I-N, et al. Effects of Dehydration on Brain Perfusion and Infarct Core After Acute Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats: Evidence From High-Field Magnetic Resonance Imaging. Imaging Front Neurol. 2018;9:786.
- Bailey TW, Nascimento NC, Dos Santos AP, et al. Comparative proteomic changes in rabbit vocal folds undergoing systemic dehydration and systemic rehydration. J Proteomics. 2023;270:104734.
- Kovchun Vlu, Sikora VZ, Lyndin MS, Sikora VV. Histomorfometrychna otsinka zmin parenkhimi pidshlunkovoj zalozy za umov vplivu hiperosmoliarnoi dehidratacii [Histomorphometric assessment of pancreatic parenchyma changes under the influence of hyperosmolar dehydration]. Bukovynskyi medychnyi visnyk. 2020;24,2(94):52-6. (Ukrainian).
- Nascimento NC, Dos Santos AP, Mohallem R, et al. Furosemide-induced systemic dehydration alters the proteome of rabbit vocal folds. J Proteomics. 2022;252:104431.
- Alves M, Kruger E, Pillay B, et al. The effect of hydration on voice quality in adults: A systematic review. J Voice Off J Voice Found. 2019;33(1):125.
- Nipot Ole, Shapkina OO, Zubov PM, et al. Rol etapu dehidratacii v rozvityku posthipertornichnoho hemolizu erytrotsitiv ssavtsiv [The role of the dehydration stage in the development of posthypertensive hemolysis of mammalian erythrocytes]. Biolozhia tvaryn. 2021;23,2:32-6. (Ukrainian)
- Deshayes TA, Pancrate T, Goulet EDB. Impact of dehydration on perceived exertion during endurance exercise: A systematic review with meta-analysis. J Exercise Sci Fitness. 2022;20(3):224-35.
- Adane F, Asres K, Ergete W, et al. The Developmental Toxicity of Thymus schimperi Essential Oil in Rat Embryos and Fetuses. J Toxicol. 2022;2022:4091839.
- Bhalla P, Su DM, Oers NSC. Thymus Functionality Needs More Than a Few TECs. Front Immunol. 2022;13:864777.
- Breed ER, Voboril M, Ashby KM, et al. Type 2 cytokines in the thymus activate Sirpa⁺ dendritic cells to promote clonal deletion. Nature Immunol. 2022;12:18.
- Shyian D, Avilova O, Ladnaya I. Organometric changes of rats thymus after xenobiotics exposure. Arch Balk Med Union. 2019;54(3):422-30.
- Wee T, Lee AF, Nadel H, Bray H. The paediatric thymus: recognizing normal and ectopic thymic tissue. Clin Radiol. 2021;76(7):477-87.
- Yang S-P, Su Q, Zhang Y-R, et al. Metformin ameliorates thymus degeneration of mice by regulating mitochondrial function. Int Immunopharmacol. 2022;108:108744.
- Nascimento NC, Bailey TW, Santos AP, et al. Proteomic analysis reveals that aging rabbit vocal folds are more vulnerable to changes caused by systemic dehydration. BMC Genomics. 2022;23:762.
- Duan C, Nascimento NC, Calve S, et al. Restricted water intake adversely affects rat vocal fold biology. Laryngoscope. 2021;131(4):839-45.
- Fetissov SO, Meguid MM. Food intake and meal pattern in response to hyperosmotic-induced dehydration in obese and lean Zucker rats. Nutrition X. 2020;6:100011.
- Davydova LM. Strukturni zminy yazyka za umov znevodneniya organizmu (anatomo-eksperimentalne doslidzhennia) [Structural changes of the tongue under conditions of dehydration (anatomical and experimental research)] [dysertatsia]. Sumy: Sumskyi derzhavnyi universytet; 2018. 232 s. (Ukrainian).
- Fu L, Wang X, Zhai J, et al. Changes in apoptosis, proliferation and T lymphocyte subtype on thymic cells of SPF chickens infected with reticuloendotheliosis virus. Mol Immunol. 2019;111:87-94.

Summary

SUBMICROSCOPIC CHANGES OF THYMUS UNDER CELLULAR DEHYDRATION

Prykhodko O.O., Ponyrko A.O.

Key words: thymus, dehydration, apoptosis, sludge syndrome, thymocytes.

Lack of water is one of the most stressful conditions for the body that can lead to changes in all the organs. The importance of the functional state of lymphoid organs for the homeostasis of the whole organism determines the relevance of their thorough investigation under their exposure to various factors, including dehydration. The purpose of the study is to investigate the patterns of submicroscopic changes in the thymus parenchyma of rats under cellular dehydration. Materials and methods. The study was conducted on 45 white mature male rats. The method of electron was applied. Results: After 10 days of the experiment, a mild level of cellular dehydration was observed, during which some cells exhibited signs of apoptosis at various stages. There were detected numerous cells in mitosis, particularly in the cortical substance of thymus lobules and the subcapsular zone. Upon reaching the 20-day mark in the experiment, an intermediate level of cellular dehydration was identified. This stage was characterized by deformations in the nuclei of both small and medium-sized thymocytes, leading to irregularities in their nuclear membrane outlines. After 30 days, under conditions of severe cellular dehydration, a reduction in the number of poorly differentiated lymphoid cells, which serve as precursors to T-lymphocytes, was observed. Thymocytes displayed unclearly defined nuclear contours and increased osmophilicity, all vessels within the parenchyma of the gland were dilated and filled with blood, some exhibiting damage to the vessel walls, resulting in microhemorrhages, signs of stasis, and sludge syndrome within the lumen. Conclusion: The experiment has demonstrated that after 10-30 days of cellular dehydration, pronounced accidental transformation of thymus occurs, with changes intensifying over time. These findings hold relevance for morphologists and immunologists, as they may be extrapolated to other lymphoid organs under dehydration conditions. Moreover, these results lay the foundation for developing methods to prevent and treat dehydration-related conditions.

DOI 10.31718/2077–1096.23.3.137

УДК 616-001:616.36:612.08:616.89

Рябушко Р.М., Костенко В.О.

**УТВОРЕННЯ АКТИВНИХ ФОРМ ОКСИГЕНУ ТА НІТРОГЕНУ В ТКАНИНАХ
ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ХІРУРГІЧНОЇ ТРАВМИ, ВІДТВОРЕНОЇ
НА ТЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ ПОСТТРАВМАТИЧНОГО
СТРЕСОВОГО РОЗЛАДУ**

Полтавський державний медичний університет

У експерименті на 42 білих щурах лінії досліджено механізми розвитку оксидативно-нітrozативного стресу в тканинах печінки за умов хірургічної травми, відтвореної на тлі посттравматичного стресового розладу. Показано, що моделювання посттравматичного стресового розладу (однократного триавального стресу) викликає розвиток оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах печінки щурів: збільшує швидкість генерації супероксидного аніон-радикала мікросомами, мітохондріями та NADPH-оксидазою лейкоцитів, підвищує NO-синтазну активність за рахунок активації індукційної ізоформи, зменшує активність і спряженість конститутивних N-синтаз, що супроводжується збільшенням концентрації пероксинітратів лужних та лужно-земельних металів. На 7-му добу після лапаротомії на тлі відтворення експериментальної моделі посттравматичного стресового розладу показники оксидативно-нітрозативного стресу в тканинах печінки щурів, такі як вироблення супероксидного аніон-радикала мікросомами та NADPH-оксидазою лейкоцитів, загальна та індукційна NO-синтазна активність та концентрація пероксинітратів лужних та лужно-земельних металів, вірогідно перевищують їх значення після окремого здійснення лапаротомії та виконання «хібної» операції на тлі моделювання однократного триавального стресу.

Ключові слова: посттравматичний стресовий розлад, однократний тривалий стрес, хірургічна травма, лапаротомія, активні форми оксигену (кисню), активні форми нітrogenu (азоту), NO-синтаза, оксидативно-нітрозативний стрес, печінка, щури.

Робота є фрагментом НДР «Роль транскрипційних факторів, системи циркадіанного осцилятора та метаболічних розладів в утворенні та функціонуванні патологічних систем» (№ держреєстрації 0119U103898).

Вступ

На сьогодні ще неможливо адекватно оцінити вплив, які війна Росії проти України спровадяє на життя та здоров'я людей. Серед її наслідків – руйнування та знищення майна та інфраструктури, евакуація та переміщення населення, а та-

ж кож загибель багатьох життів. Ці події викликають серйозні психічні травми у людей, які пережили або були свідками бойових дій, ракетних обстрілів, сексуального насильства та інших подій. Дослідження показують, що особи, які зазнали воєнної травми, мають високий ризик розвитку психічних проблем, таких як посттравма-