

ВЛИЯНИЕ АНТИГОМОТОКСИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ТРАУМЕЛЬ С НА МОРФОЛОГИЮ ТКАНИ ТИМУСА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ С МОДЕЛИРОВАННЫМ АДЬЮВАНТНЫМ АРТРИТОМ

Н.Н. Каладзе, А.К. Загорулько, Э.Я. Меметова

ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь

Резюме. Проведено морфологическое исследование тимуса на 15 белых лабораторных чистопородных крысах линии «Wistar» с моделированным адьювантным артритом, 5 из них получали антигомотоксическую терапию препаратом Траумель С. О целесообразности антигомотоксической коррекции свидетельствует уменьшение дистрофических изменений ткани тимуса в условиях данного эксперимента.

Ключевые слова: адьювантный артрит, эксперимент, тимус, крыса, лечение, антигомотоксическая терапия.

Введение

Для изучения механизмов аутоиммунного воспаления, лежащих в основе ювенильного ревматоидного артрита, а также для разработки и поиска новых способов коррекции данной патологии проводятся эксперименты на животных [7]. Наиболее распространенной, близкой по клиническому течению, патологическим и гистологическим данным к ревматоидному артриту человека, является разработанная модель ревматоидного полиартрита у крыс. Данная экспериментальная модель получила широкое распространение в настоящее время. Воспроизведение происходит путем внутривенного или подкожного введения полного адьюванта Фрейнда, содержащего взвесь убитых микобактерий туберкулеза [6, 8]. Адьювантный артрит сопровождается типичной аутоиммунной реакцией, основным звеном которой является Т-клеточный иммунитет (О.В. Синяченко и др., 1991; L. Klareskog et al.).

По данным литературы, впервые артрит у крыс был получен в 1954 г. Stoerck и соавт. при подкожном введении овечьих или крысиных гомогенатов клеток селезенки, суспензированных в адьюванте Фрейнда. Через 2 года Pearson (1956) случайно обнаружил, что адьювант Фрейнда вызывает тяжелые повреждения суставов. В дальнейшем адьювантный артрит явился предметом многочисленных исследований [3, 6].

На фоне рекомендуемой базисной терапии при ревматоидном артрите у детей целесообразно использовать препараты с минимальной фармакологической нагрузкой, не вызывающие побочных и аллергических реакций. К такому виду терапии относятся комплексные антигомотоксические средства, выпускаемые фирмой «HEEL» (Германия), а именно препарат Траумель С — эффективное средство, обладающее противовоспалительной активностью, снимает боль, отек, ускоряет регенерацию тканей, а также предупреждает развитие осложнений [1, 2, 6].

Целью работы явилось выявление и изучение изменений в ткани тимуса у экспериментальных животных с моделированным адьювантным артритом на фоне применения антигомотоксического препарата Траумель С.

Материал и методы исследования

Исследование проведено на 15 белых лабораторных чистопородных крысах (самцы и самки) линии «Wistar» 3-месячного возраста со средней массой 80–120 г. Животные, у которых предполагалось исследовать ткань тимуса, были разделены на 3 группы, по 5 крыс

(n=5) в каждой: 1-ю группу составили животные с моделью адьювантного артрита, не получавшие лечения; 2-я группа животных с воспроизведенным адьювантным артритом, которым проводилась терапия антигомотоксическим препаратом Траумель С на протяжении 5 недель: по 0,2 мл в/м ежедневно на протяжении первых 5 дней, затем 2 раза в неделю в течение 2-х недель, а после 1 раз в неделю в течение 2-х недель; 3-я группа — здоровые животные (КГ).

Так как наша экспериментальная модель сопоставима к детскому возрасту человека, то нами были взяты белые крысы породы «Wistar» в возрасте 14–18 дней (8–10 месяцев жизни человека), массой 16–20 г. Все эксперименты на животных проводились с соблюдением международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных (Страсбург, 1985 г.), а также в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» [4].

Способ моделирования выполняли следующим образом: под кожу задней лапки крыс (субплантарно) вводили полный адьювант Фрейнда 0,01 мл, который содержал 0,01 мг БЦЖ, 1–2 р/нед., после 2–3-х недель жизни. Моделировался аутоиммунный процесс путем сенсibilизации организма животного в течение 25 дней. У всех экспериментальных животных к 6–7 неделе развивался полиартрит с преимущественной локализацией в коленных, тазобедренных и плечевых суставах, с менее выраженным поражением мелких сочленений. Клинически отмечалась болезненность суставов при пальпации, ограничение движения в них; снижение мышечного тонуса и потеря веса. Через 10 дней по окончании эксперимента животных забивали под эфирным наркозом. Отпрепарованный тимус фиксировали в растворе 2,5% буферного глутаральдегида для электронной микроскопии. Полутонкие срезы органов изготавливались на ультратоме УМПТ-7 (Украина). Ультратонкие срезы просматривали и фотографировали на электронных микроскопах ПЭМ-100 (Украина). Увеличение подбиралось адекватно целям исследования и колебалось в пределах 2000–10000 крат.

Результаты исследования и их обсуждение

Полученные результаты морфологического исследования ткани тимуса экспериментальных животных свидетельствовали о создании смоделированного хронического воспаления, характерного для ювенильного ревматоидного артрита.

Изменения в клетках тимуса животных первой группы при моделированном адьювантном артрите носили опреде-

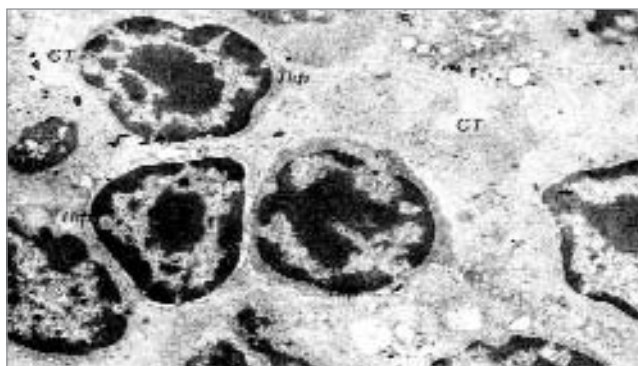


Рис.1. Разрыхленность соединительнотканного каркаса тимуса (Ст) со снижением плотности лимфоцитарного (Лф) инфильтрата. Электронная микрофотография (увеличение 4800)



Рис.2. Явления цитопикноза (стрелки). Лф — лимфоциты. Электронная микрофотография (увеличение 3200)

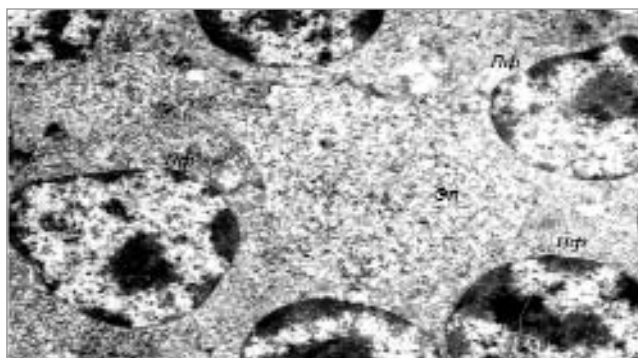


Рис.3. Ультраструктурные изменения обратимой гидропической дистрофии в звездчатых эпителиоцитах (Эп) и лимфоцитах (Лф) тимуса. Электронная микрофотография (увеличение 4800)

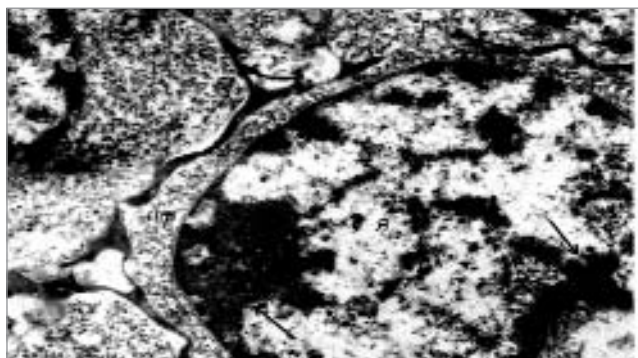


Рис.4. Снижение содержания хроматина в ядрах (Я) лимфоцитов (Лф) с просветлением центральной части и конденсацией глыбок гетерохроматина (стрелки) вблизи ядерной мембраны. Электронная микрофотография (увеличение 9000)

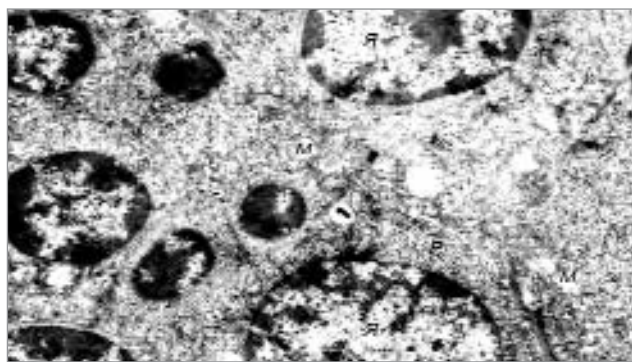


Рис.5. Появление гидропической дистрофии в лимфоцитах (Лф) тимуса при адьювантном артрите. Я — ядро. М — митохондрии. Р — рибосомы. Электронная микрофотография (увеличение 4800)

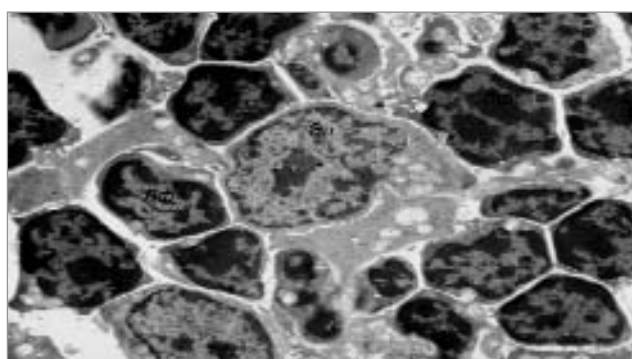


Рис.6. Нормализация плотности лимфоцитарного инфильтрата (Лф) за счет снижения экстрацеллюлярного отека рыхловолокнистой соединительной ткани тимуса. Эп — звездчатый эпителиоцит. Электронная микрофотография (увеличение 3200)

ленные изменения, не имеющие характерной локализации и стереотипные как в корковом, так и в мозговом веществе. Прежде всего обращала на себя внимание разрыхленность соединительнотканного каркаса тимуса, что может быть расценено как проявления экстрацеллюлярного отека и сопровождалось снижением плотности лимфоцитарного инфильтрата в петлях звездчатых эпителиоцитов (рис. 1). В самих эпителиоцитах имели место явления, свидетельствующие о гидропической дистрофии. Причем число клеток с такими изменениями, по сравнению со здоровыми животными, значительно возрастало (рис. 2). Вместе с тем во многих эпителиоцитах отмечалось разрыхление цитозоля с уменьшением оптической плотности цитоплазмы, снижение плотности матрикса митохондрий с просветлением органелл и нарушением упорядоченного расположения в них крист, расширение профилей канальцев цитоплазматической сети, а также снижение уровня содержания хроматина в ядрах. Описанные ультраструктурные изменения расценивались нами как проявления гидропической дистрофии, имеющей, однако, обратимый характер. Аналогичные изменения наблюдались и в лимфоцитах тимуса (рис. 3). Так, в частности, в ядрах клеток отмечалось резкое снижение содержания хроматина, что приводило к просветлению центральной части ядер и конденсации небольших количеств гетерохроматина вблизи ядерной мембраны (рис. 4). Изменения отеочного характера, описанные в отношении внутриклеточных органелл звездчатых эпителиоцитов, имели место и в лимфоцитах (рис. 5).

По данным электронной микроскопии эффективным оказалось применение препарата Траумель С немецкой

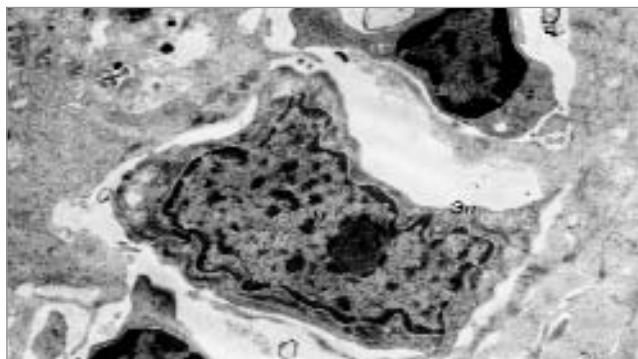


Рис.7. Нормализация ультраструктурной организации звездчатых эпителиоцитов (Эп). Я — ядро. Электронная микрофотография (увеличение 6400)

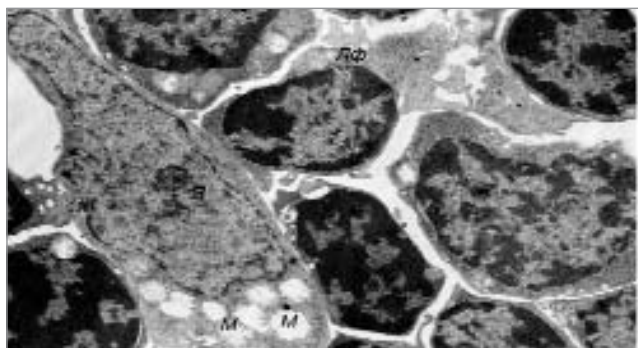


Рис.8. Слабовыраженные признаки сохраняющегося интрацеллюлярного отека в эпителиоцитах (Эп). Я — ядро. М — митохондрии. Лф — лимфоциты. Электронная микрофотография (увеличение 4800)

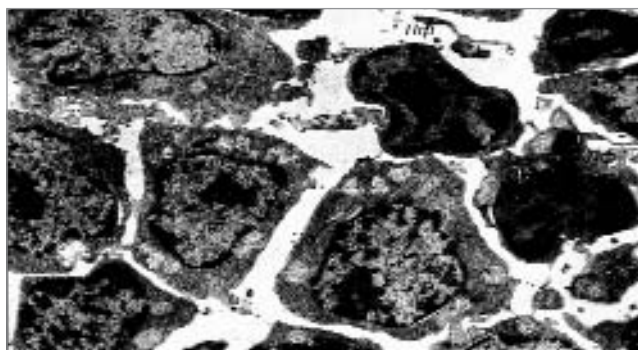


Рис.9. Нормализация ультраструктурной организации эпителиальных клеток (Эп) и лимфоцитов (Лф). Я — ядро. М — митохондрии. Электронная микрофотография (увеличение 3200)

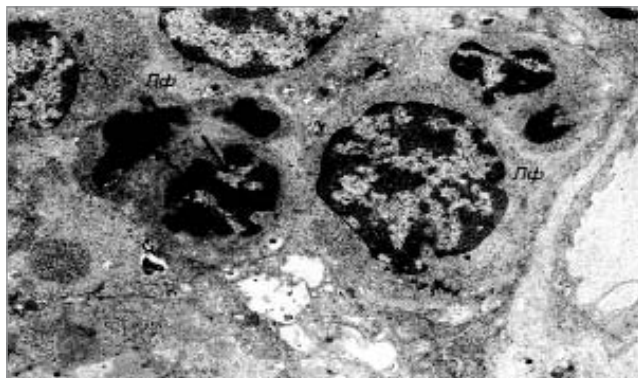


Рис.10. Митоз (стрелки) в лимфоцитах (Лф) тимуса. Электронная микрофотография (увеличение 4800)



Рис.11. Эритроцит (Эр) в просвете сосуда с неизменным эндотелием (Эн). В околососудистой зоне — активно функционирующий фибробласт (Ф), синтезирующий коллагеновые волокна новоформирующейся соединительной ткани (СТ). Электронная микрофотография (увеличение 4800)

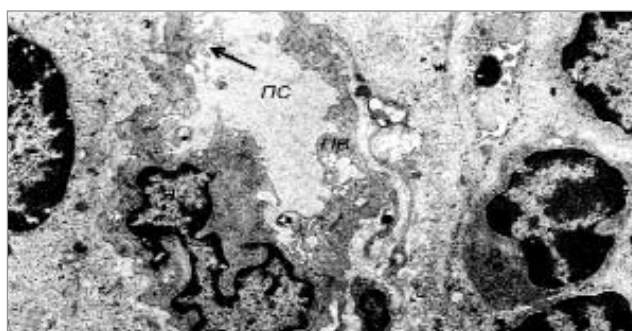


Рис.12. Ультраструктурные признаки повышения функциональной активности эндотелия сосудов тимуса. Пс — просвет сосуда. ПВ — пиноцитозные везикулы. Я — ядро. Выпячивание эндотелия в просвет сосуда (стрелка). Электронная микрофотография (увеличение 3200)

фирмы «HEEL» во второй группе. Прежде всего в этой группе животных обращала на себя внимание нормализация общего строения долек железы с уменьшением межклеточных промежутков и восстановлением плотности лимфоцитарного инфильтрата (рис. 6) за счет исчезновения экстрацеллюлярного отека рыхловолокнистой соединительной ткани. Ультраструктурная организация звездчатых эпителиоцитов приближалась к нормальной. В этих клетках, в частности, нормализовалось строение ядер, которые приобретали слегка фестончатую форму и содержали умеренное количество хроматина, лишь часть которого была конденсирована в виде гетероформы; ядрышки были выражены отчетливо (рис. 7). Межклеточные контакты вновь становились плотными, из-за чего сетчатое строение долек тимуса восстанавливалось. Лишь в отдельных эпителиоцитах отмечались сохраняющиеся, слабо выраженные признаки интрацеллюлярного отека, проявляющиеся, как правило, с просветлением матрикса митохондрий с дезориентацией и дисконкомплектацией крист (рис. 8).

В большинстве же звездчатых эпителиоцитов восстанавливалась умеренная плотность цитозоля, митохондрии и другие органеллы имели характерное для них строение, а в ядрах количество хроматина достигало нормального уровня (рис. 9).

Наиболее важным признаком, демонстрирующим эффективность применяемого лечения, являлось значительное усиление митотической активности лимфоцитов, о чем свидетельствовали многочисленные фигуры митозов в этих клетках (рис. 10).

Кроме того, позитивные изменения фиксировались и со стороны сосудов тимуса. Так, большинство сосудов содержали в своем просвете эритроциты, их эндотелий выглядел нормальным, а в околососудистой зоне часто обнаруживались активно функционирующие фибробласты, синтезирующие вновь формирующуюся соединительную ткань (рис. 11).

Более того, со стороны ряда сосудов отмечались признаки повышения функциональной активности эндотелия, что, по-видимому, сопровождалось усилением транскапиллярного газообмена. К таким признакам относились изменения формы ядер эндотелиальных клеток, которые становились извилистыми, что увеличивало их поверхность, появление в цитоплазме клеток большого количества микропиноцитозных везикул и формирование на отдельных участках эндотелия выростов и выпячиваний, направленных в просвет сосуда (рис. 12).

Выводы

1. Для воспроизведения ревматоидного артрита в эксперименте оптимальной моделью являлись лабораторные чистопородные крысы линии «Wistar».

2. Полученные при электронно-микроскопическом исследовании результаты свидетельствовали о развитии в клеточных элементах вилочковой железы при воспроизведенном адьювантном артрите обратимых изменений по типу гидропической дистрофии. Можно полагать, что данные изменения при указанной патологии оказывали негативное влияние на иммунный статус организма, что требовало соответствующей медикаментозной коррекции.

3. Обратимые дистрофические изменения в клетках и других компонентах тимуса наиболее успешно корригировались при лечении с использованием препарата Траумель С фирмы «HEE», что, вероятнее всего, сказывалось положительным образом на восстановлении иммунного статуса организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антигомотоксическая терапия распространенных заболеваний у детей [справ. пособ. для врачей] / под ред. С. П. Кривоустова, Б. К. Шамугия. — К. : Книга плюс, 2005. — 144 с.
2. Дудченко Л. Ш. Гомотоксикология и антигомотоксическая терапия в современной медицине / Л. Ш. Дудченко // Таврич. мед.—биол. вестн. — 2005. — Т. 8, № 2. — С. 100—104.
3. Копьева Т. Н. Патология ревматоидного артрита / Т. Н. Копьева; под ред. А. И. Струкова. — М. : Медицина, 1980.
4. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін, О. С. Хромов, М. А. Филоненко, Г. А. Сайфетдінова. — К. : Авіцена, 2002. — 156 с.
5. Применение препарата «Траумель С» в практике современной неонатологии и педиатрии : [метод. реком.]. — К., 2006. — 28 с.
6. Руководство по иммунофармакологии : пер. с англ. / под ред. М. М. Дейла, Дж. К. Формена. — М. : Медицина, 1998. — С. 83—86; 233; 288.
7. Ундрицов М. Н., Розен В. Б., Чернин Л. С. // Вопр. ревматол. — 1964. — № 1. — С. 7.
8. Allison A. S. An adjuvant formulation that selectively elicits the formation of antibodies of protective isotypes and of cell-mediated immunity / A. S. Allison, N. E. Byars // J. Immunol. Methods — 1986. — Vol. 95. — P. 157—168.

ВПЛИВ АНТИГОМОТОКСИЧНОГО ПРЕПАРАТУ «ТРАУМЕЛЬ С» НА МОРФОЛОГІЮ ТКАНИНИ ТИМУСУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ЗІ ЗМОДЕЛЬОВАНИМ АД'ЮВАНТНИМ АРТРИТОМ

М.М. Каладзе, А.К. Загорулько, Е.Я. Меметова

Резюме. Проведено морфологічне дослідження тимусу на 15 білих лабораторних чистопорідних щурах лінії «Wistar» з модельованим ад'ювантним артритом, 5 з них одержували антигомотоксичну терапію препаратом Траумель С. Про доцільність антигомотоксичної корекції свідчить зменшення дистрофічних змін тканини тимусу в умовах даного експерименту.

Ключові слова: ад'ювантний артрит, експеримент, тимус, щур, лікування, антигомотоксична терапія.

Summary. Morphological research of thymus is conducted on 15 white laboratory of pure breeds rats of line of «Wistar» with the designed adjuvant arthritis, 5 from them got antihomotoxic therapy by preparation of Traumel C. To the necessity of antygomotoksychn correction testify diminishing of dystrophy changes of fabric of thymus in the conditions of this experiment.

Key words: adjuvant arthritis, experiment, thymus, rats, treatment, antihomotoxic therapy