

Участие миоидных клеток в морфогенезе телец Гассалья тимуса человека

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Изучено участие миоидных клеток тимуса человека в морфогенезе телец Гассалья. Установлено, что миоидные клетки входят в состав телец Гассалья тимуса. Около 80% телец Гассалья в изучаемой возрастной группе контактируют с отростками миоидных клеток и/или включают в состав стенки миоидные клетки. Обнаружена зависимость между морфологией миоидных клеток и стадией развития телец: для юных и молодых телец характерны миоидные клетки овальной формы, для зрелых телец – миоидные клетки уплощенной формы, стареющие тельца не содержат миоидных клеток. На основании полученных данных выдвинуто предположение, что миоидные клетки обуславливают способность телец Гассалья к сокращению.

Ключевые слова: тимус, тельца Гассалья, миоидные клетки.

Введение

Миоидные клетки тимуса – уникальная клеточная популяция, встречающаяся только в мозговом веществе долек тимуса [2]. Несмотря на то, что по своему антигенному составу эти клетки принадлежат к скелетной мышечной ткани (содержат маркеры тропонин Т, десмин, миогенный транскрипционный фактор MyoD, ацетилхолиновый рецептор), они имеют ряд особенностей: не формируют симпласты, не иннервированы [9,10]. Миоэпителиальные клетки эктодермального происхождения и гладкомышечные клетки мезенхимального происхождения отсутствуют в мозговом веществе доектимуса.

В настоящее время изучение миоидных клеток тимуса привлекает внимание большого числа исследователей [7, 9, 10, 13]. Долгое время считалось, что кроме участия в патогенезе миастении, когда их количество существенно возрастает, эти

клетки не играют важной роли в функционировании тимуса [12]. Однако работы последних лет показали, что роль миоидных клеток намного значительнее, чем считалось ранее. Основные функции миоидных клеток тимуса [7, 9,10,13] мы суммировали в таблице 1.

Таблица 1. Функции миоидных клеток тимуса человека.

Функции	Описание
Антигенпрезентация	Миоидные клетки способны представлять антигены тимоцитам в комплексе с МНС I и стимулировать пролиферацию специфических клонов лимфоцитов
Взаимодействие с тимоцитами	Защита тимоцитов от апоптоза Экспрессия адгезионной молекулы CD 58 (LFA-3)
Сокращение	Несут активные Н-холинорецепторы и способны к сокращению, однако функциональное значение данного факта точно не установлено
Синтез цитокинов	IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, RANTES, MIP-1α, MCP-1 Цитокиновый профиль миоидных клеток значительно отличается от профиля эпителиальных клеток.

Активно обсуждаемая [11] роль телец Гассалья в процессах созревании Treg, патогенезе ревматоидного артрита, экспрессии аутоантигенов, требует углубленного изучения вопроса о взаимоотношении миоидных клеток и эпителиоцитов телец Гассалья.

Известно [2,5], что миоидные клетки расположены в области кортикомедуллярной границы и в мозговом веществе долек тимуса, концентрируясь возле телец Гассалья. По вопросу взаимоотношения миоидных клеток и телец Гассалья существует большое число часто взаимоисключающих взглядов. Так, выдвинутая в 1968 году Imai [6] теория о миоидном происхождении телец Гассалья, была поддержана рядом исследователей, однако позднее от нее отказались [1]. Ряд современных исследователей либо отмечает отсутствие миоидных клеток в составе телец [11], либо их активное участие в формировании и функционировании телец [14]. Поэтому целью настоящего исследования стало выяснение роли миоидных клеток в морфогенезе телец Гассалья и выявление взаимосвязей с эпителиальными клетками.

Материалы и методы.

В исследовании использовали фрагменты тимусов (15 случаев), удаленных в Минском детском кардиохирургическом центре при вмешательствах по поводу минимальных сердечно-сосудистых пороков у детей в возрасте 1-4 месяца, в анамнезе которых отсутствовали инфекционные заболевания, иммунодефицитные состояния, прием стероидных гормонов, иммунодепрессантов. Забирались фрагменты тимусов, удаленных только по хирургическим показаниям (кровотечение, разможжение и др.) с учетом существующих этических и юридических норм.

Образцы тимуса фиксировали в нейтральном формалине, заливали в парафин, готовили серийные срезы толщиной 7 мкм. Препараты окрашивались гематоксилин-эозином для обзорной гистологии. Проводилось иммуногистохимическое исследование с антителами к десмину (клон D33, титр 1/600, обработка EDTA, pH 9.0) и гладкомышечному миозину (клон SMMS-1, титр 1/100, обработка – цитратный буфер, pH 6.0) (производство DACO, USA).

Съемка проводилась с использованием цифровой камеры-окуляра UMD-300 («Gsmserver», Тайвань), установленной на микроскопе Zeiss Axiolab («Carl Zeiss AG», Германия).

Результаты.

В мозговом веществе долек тимуса встречаются миоидные клетки округлой (рис. 1 (1)), отростчатой (рис. 1 (3)) и вытянутой форм (рис. 1 (2)), причем последние встречаются только в составе телец Гассала. Также в срезах обнаруживаются отростки миоидных клеток (рис. 1(4), рис. 2 (9)) и изредка встречаются кластеры клеток (рис. 2 (10)), которые считаются дегенерирующими [2]. Мы обнаружили, что около 80% телец Гассала в изучаемой возрастной группе контактируют с отростками миоидных клеток или включают в свой состав миоидные клетки.

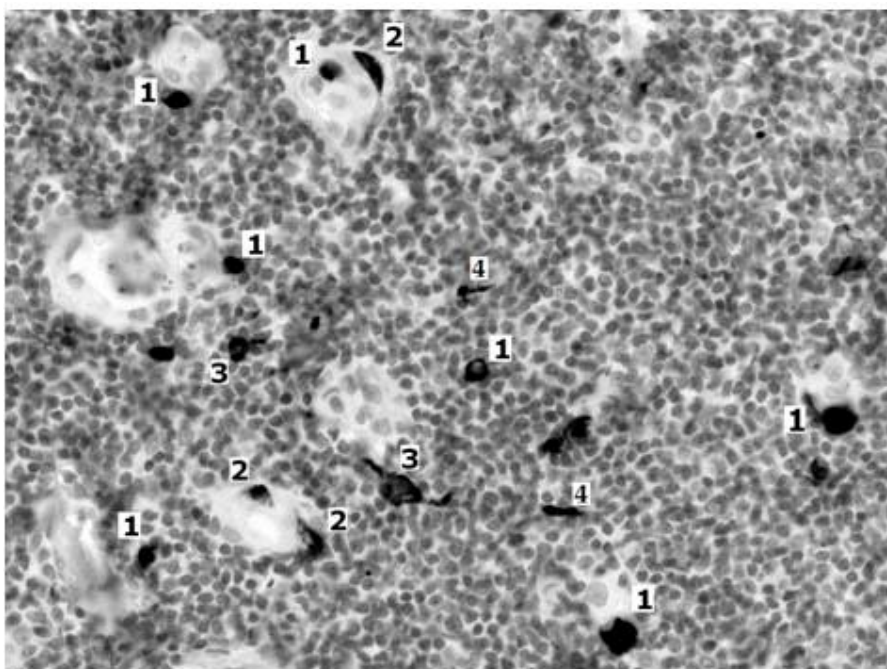


Рис. 1. Мозговое вещество дольки тимуса. Иммуногистохимическая реакция на десмин, окраска ядер гематоксилином. Увеличение 200х.

Обозначения:

1 - овальные миоидные клетки;

2 - вытянутые миоидные клетки, входящие в состав наружного слоя клеток зрелых телец;

3 – отростчатые миоидные клетки;

4 – отростки миоидных клеток.

Характер взаимодействия миоидных клеток с тельцами зависит от стадии развития последних, что свидетельствует о синхронном развитии миоидных клеток и телец Гассалья.

Выделяют следующие типы тимусных телец (согласно Raica M. [11], с изменениями):

юные тельца, которые представляют собой концентрическое скопление крупных светлых эпителиальных клеток, накапливающих тонофиламенты и кератин (рис. 2 (1-3));

молодые тельца, отличающиеся появлением выраженных дегенеративных изменений в одном либо нескольких центрально расположенных эпителиоцитах и формированием полости тельца, где располагаются остатки органелл, фрагменты ядер, продукты распада клеток (рис. 2 (4-5));

зрелые тельца, которые характеризуются сформированным кератиновым ядром, расположенным в полости тельца (рис. 2 (6));

стареющие тельца, имеющие признаки разрушения кератинового ядра, без содержимого в полости тельца либо вторично заполненные детритом (рис. 2 (7)).

Для юных и молодых телец характерны миоидные клетки овальной формы, непосредственно контактирующие с клетками телец Гассалья (рис. 2 (1-3)). По мере созревания тельца миоидные клетки принимают уплощенную форму и включаются в состав как внутреннего, так и наружного слоев зрелого тельца (рис. 2 (6)). Стареющие тельца, в основном, не содержат в составе стенки миоидных клеток (рис. 2 (7)). Отметим, что на всех стадиях развития тельца обнаруживаются отростки миоидных клеток, контактирующие с клетками периферического слоя телец Гассалья (рис. 1(4)).

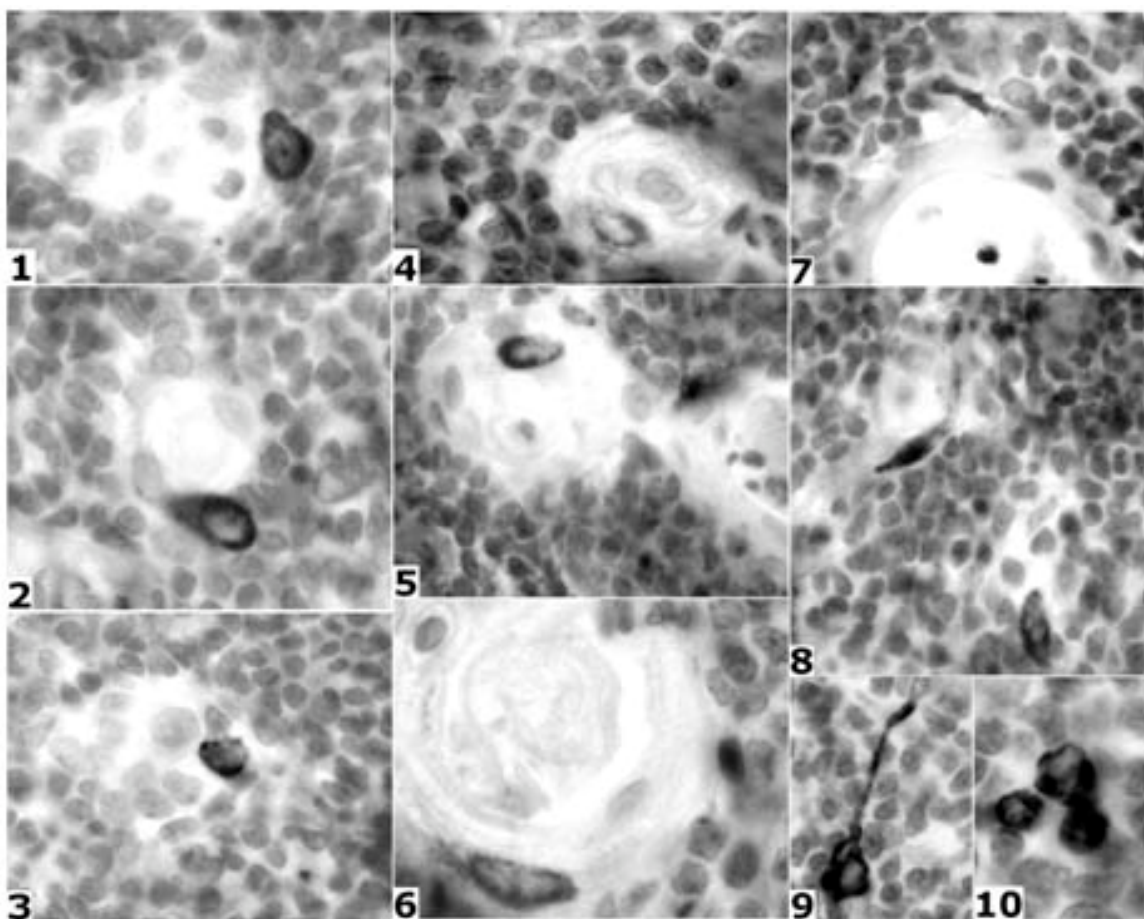


Рис. 2. Мозговое вещество дольки тимуса. Иммуногистохимическая реакция на десмин, окраска ядер гематоксилином. Увеличение 1000х.

Обозначения:

1-3 – овальные миоидные клетки, расположенные на периферии юных телец Гассалья;

4-5 – миоидные клетки, входящие в состав наружного слоя клеток молодых телец Гассалья;

6,8 – уплощенная миоидная клетка, входящая в состав наружного слоя клеток зрелых телец;

7 – отросток миоидной клетки, контактирующий с наружным слоем клеток телец Гассалья,;

9 – отросчатая миоидная клетка;

10 – кластер миоидных клеток.

Иммуногистохимическая реакция на гладкомышечный миозин положительна только в стенке сосудов (рис. 3). Тельца Гассалья и другие клетки мозгового вещества негативны.

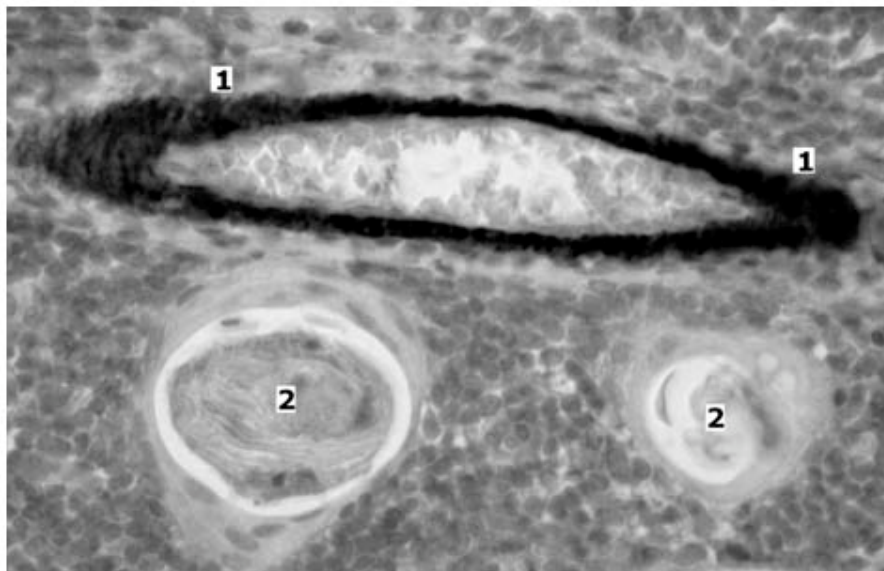


Рис. 3. Мозговое вещество дольки тимуса. Иммуногистохимическая реакция на гладкомышечный миозин, окраска ядер гематоксилином. Увеличение 400х. Обозначения: 1 – гладкомышечные миоциты в стенке артерии, 2 – тельца Гассалья.

Обсуждение

Отметим, что роль миоидных клеток в морфогенезе телец Гассалья привлекала внимание исследователей достаточно давно. Imai [6] считал, что тельца Гассалья имеют двойное происхождение и ядро тельца – это «гигантская» миоидная клетка, а концентрические клетки имеют эпителиальное происхождение. Bodey [1] не поддерживает эту гипотезу, хотя и не исключает, что миоидные клетки могут принимать участие в образовании телец Гассалья, но число миоидных клеток в тимусе в физиологических условиях крайне мало и указанный механизм маловероятен. Мы согласны с выводами Bodey, поскольку, исследуя юные и молодые формы телец Гассалья, мы не обнаружили фактов в поддержку теорий о миоидном происхождении телец Гассалья.

В настоящем исследовании выявлено, что миоидные клетки принимают участие в формировании телец Гассалья, непосредственно входя в их состав. Обнаруженная зависимость между морфологией миоидных клеток и стадией развития телец свидетельствует о участии миоидных клеток в морфогенезе телец Гассалья. Мы подтвердили предположение некоторых авторов [2] о том, что округлые миоидные клетки являются незрелыми, а отросчатые – зрелыми. Включение миоидных клеток в состав телец может быть обусловлено плотным контактом миоидных клеток с эпителиальными клетками посредством десмосом [2]. Так как клетки внутреннего слоя телец погибают, то процессу гибели, очевидно, подвергаются и миоидные клетки, входящие в состав телец Гассалья.

Остается неясным, зачем нужна такая тесная связь между миоидными и эпителиальными клетками в составе телец Гассалья. Одним из возможных объяснений является участие миоидных клеток в сокращении телец Гассалья. Flaum E. [4], исследуя тельца *in vitro*, показал, что они пульсируют с определенным ритмом, и, так как тельца Гассалья не содержат гладкомышечный миозин (рис. 3), то единственными возможными источниками сокращения в данном эксперименте могли быть только миоидные клетки, для которых доказана способность к сокращению как *in vivo*, так и *in vitro* [8,12]. Кроме того, показано, что полость телец Гассалья связана с просветом сосудов [3] и мы считаем, что сократительная активность миоидных клеток телец Гассалья может регулировать выведение содержимого из полости телец в кровеносные сосуды и/или попадание антигенов внутрь полости тельца.

Выводы:

1. Миоидные клетки входят в состав телец Гассалья тимуса. Около 80% телец Гассалья в изучаемой возрастной группе включают в свой состав миоидные клетки и/или контактируют с их отростками.

2. Обнаружена зависимость между морфологией миоидных клеток и стадией развития телец: для юных и молодых телец характерны миоидные клетки овальной формы, для зрелых телец – миоидные клетки уплощенной формы,

стареющие тельца не содержат миоидных клеток.

3. Тесная связь между миоидными и эпителиальными клетками в составе телец Гассалья, видимо, объясняется участием миоидных клеток в сокращении телец Гассалья для выведения содержимого из полости телец в кровеносные сосуды и\или попадания антигенов внутрь полости тельца.

Литература

1. Bodey, B. Immunological aspects of neoplasia. The role of the thymus / B. Bodey, S. E. Siegel // Springer Science. 2004. p. 567.
2. Bornemann, A. Thymic myoid cell turnover in myasthenia gravis patients and in normal controls / A. Bornemann, T. Kirchner // Virchows Arch. 1998 Vol. 432. P. 357–361.
3. Drumea-Mirancea, M. Characterization of a conduit system containing laminin-5 in the human thymus: a potential transport system for small molecules / M. Drumea-Mirancea, J. T. Wessels, C. Muller // Journal of Cell Science. 2005. Vol. 119. P. 1396–1405.
4. Flaum, E. Activity manifestations of Hassall's corpuscles in vitro as revealed by cinematography / E. Flaum // Z Zellforsch Mikrosk Anat. 1963 Vol. 59. P. 479–85.
5. Geuder, K. Pathogenetic significance of fetal-type acetylcholine receptors on thymic myoid cells in myasthenia gravis / K. Geuder, A. Marx, V. Witzemann // Developmental Immunology. 1992. Vol. 2. P. 69–75.
6. Imai, M. A new opinion on the origin of Hassall's corpuscles / M. Imai [et al.] // Fol. Anat. Jap. 1968. Vol. 45. P. 51–69.
7. Iwakami, N. Analysis of lymphoproliferative cytokines produced by thymic myoid cells / N. Iwakami, A. Kikuchi, T. Kunishita // Immunology 1996. Vol. 87. P. 108–112.
8. Kao, I. Thymic muscle cells bear acetylcholine receptors: possible relation to myasthenia gravis / I. Kao, Find all citations by this author (default). Or filter your current search Drachman D. // Science. 1977. Vol. 195(4273). P. 74–75.
9. Megumi, Y. Thymic myoid cells as a myasthenogenic antigen and antigen-

presenting cells / Y. Megumi, M. Hidenori // *J. Neuroimmunol.* 2004. Vol. 150. Issue 1. P. 80–87.

10. Panse, R. Thymic myoid cells protect thymocytes from apoptosis and modulate their differentiation: implication of the ERK and Akt signaling pathways / R. Panse, S. Berrih-Aknin // *Cell Death and Differentiation.* 2005. Vol. 12. P. 463–472.

11. Raica, M. Structural heterogeneity and immunohistochemical profile of Hassall corpuscles in normal human thymus / M. Raica, S. Encica, A. Motoc // *Ann Anat.* 2006. Vol. 188(4). P. 345–52.

12. Sugimura, M. Myoid cells in the calves thymus / M. Sugimura // *Jap. J. vet. Res.* 1972. Vol. 20. P. 1–6.

13. Tamiolakis, D. Induction of thymic HLA-DR signaling with alpha-smooth muscle actin expression during the second and third trimesters of gestation / D. Tamiolakis [et al.] // *Acta Medica Iranica.* 2003. Vol. 41(2). P. 73–78.

14. Zóltowska, A. Myoid cells and neuroendocrine markers in myasthenic thymuses / A. Zóltowska, J. Stepiński, T. Pawełczyk // *Arch Immunol Ther Exp.* 1998. Vol. 46(4). P. 253–7.