

И. А. Стельмах, А. А. Артишевский, В. С. Гайдук

ОБМЕН РНК В СЕКРЕТОРНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ ЭПИТЕЛИОЦИТАХ МОЗГОВОГО ВЕЩЕСТВА ТИМУСА В ДИНАМИКЕ ЭМБРИОГЕНЕЗА БЕЛОЙ КРЫСЫ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

В настоящее время тимус рассматривается как полифункциональный орган, выполняющий иммунологическую, лимфоцитопоэтическую и эндокринную функции, выполнение которых тесно связано с дифференцировкой Т-лимфоцитов под действием гормонов, выделяемых ретикулоэпителиальными клетками стромы. В связи с этим в статье описаны процессы синтетической активности РНК в ядрах стромальных ретикулоэпителиальных клеток мозгового вещества тимуса в динамике эмбрионального развития белой крысы, приведен цитофотометрический анализ уровня РНК в ядрышках ядер стромальных секреторных эпителиоцитов мозгового вещества тимуса в динамике эмбрионального развития белой крысы. По результатам количественного цитофотометрического исследования определены показатели формы распределения уровня РНК в ядрышках ядер ретикулоэпителиоцитов. Выявлено, что синтез тимопоэтинов, обеспечивающих процессы дифференцировки иммунокомпетентных Е-лимфоцитов вилочковой железы, начинается на 15 сутки эмбриогенеза. В дальнейшем секреторная активность РНК в ядрышках ядер ретикулоэпителиоцитов волнообразно повышается в форме двух пиков на 17 и 19 сутки эмбриогенеза. К моменту рождения плода на 21 сутки отмечается стабильно высокий и равномерный уровень синтеза тимопоэтинов, определяющих тимус как дифференцированный иммунокомпетентный орган, обеспечивающий механизмы клеточного иммунитета.

Ключевые слова: эмбриогенез, тимус, Т-лимфоцит, пролиферация, дифференцировка, стромальный эпителиоцит, РНК, лимфопоэтины, мозговое вещество.

I. A. Stelmakh, A. A. Artishevski, V. S. Haiduk

EXPRESSION OF THE RNA METHABOLISM IN THE NUCLEUS OF THE EPITHELIAL STROMAL CELLS IN THE MEDULLA OF THE THYMUS IN THE RAT. S EMBRYOGENESIS

Currently, the thymus is considered as a polyfunctional organ that performs immunological, lymphocytopenic and endocrine functions, the performance of which is closely related to the differentiation of T-lymphocytes under the influence of hormones secreted by reticuloepithelial cells of the stroma. In this regard, the article describes the processes of sythetic activity of RNA in the nuclei of stroticuloepithelial cells of the thymic medulla in the dynamics of embryogenesis of the white rat.

According to the results of a quantative cytophotometric study, indicators of the RNA level in the nucleoli of the medulla epithelial stromal cells have been obtained.

It was revealed that the synthesis of thymopoetines, which provide the processes of differentiation of immune competent T-lymphocytes of the thymus gland, begins on the 15th day of embryogenesis. Subsequently, the secretory activity of RNA in the nucleoli of reticuloepithelial cells increases in waves in the form of two peaks on the 17 and 19 days of embryogenesis. By the time the fetus is born, on day 21. there is consistently high and uniform level of thymopoetines, which determine the thymus as a finally differentiated immunocompetential organ that provides the mechanimes of cellular immunity.

Key words: RNA, nucleus, epithelial stromal cells, thymus, medulla part, T-lymphocyt, thymopoetints, embryogenesis, proliferation, differentiation.

В настоящее время тимус рассматривается как полифункциональный орган, выполняющий иммунологическую, лимфоцитопоэтическую и эндокринную функции [3, 4, 7]. Реализация этих функций связана с дифференцировкой Т-лимфоцитов, обеспечивающих механизмы клеточного иммунитета. Для этой

цели в долях паренхиматозного органа формируется специфическое микроокружение, создающее стро-му тимуса и участвующее в гормональной регуляции процессов пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов [1, 7]. Стромальный эпителиальный зачаток тимуса формируется в эмбриогенезе вследствие индук-

ционного влияния элементов экто- и энтодермы [3]. В формировании стромы эмбрионального органа в мозговом веществе участвует эктодерма в области 3-ей жаберной щели первичной глотки эмбриона, а в корковом веществе – энтодерма 3-его глоточного кармана. В процессе дальнейшего этапа эмбриогенеза эпителиальная закладка тимуса дифференцируется на 2 типа клеток: одна разновидность формирует трехмерный опорный ретикулум из клеток, связанных друг с другом отростками, который пронизывает формирующиеся дольки паренхимы органа и заселяется предшественниками Т-лимфоцитов, мигрирующих из красного костного мозга [5, 6]. Другая часть эпителиальных клеток накапливает в цитоплазме вакуоли, что отражает признаки их синтетической активности [4]. Эти клетки в основном локализируются в формирующемся мозговом веществе и в кортико-медуллярной зоне [2, 3]. Этот процесс подтверждают гистохимические и автордиографические методы исследования [1], выявляющие способность стромальных эпителиоцитов синтезировать более 14 биологически активных тимопоэтинов (9) 11111111 (различных протеогликанов и гликозаминогликанов). Эти эпителиоциты формируют каналцы, стенки которых состоят из клеток призматической формы, которые секретируют эти вещества в просвет каналцев [1].

Нуклеиновые кислоты являются необходимым компонентом белков, которые расходуются в организме в процессе пролиферации и дифференцировки клеток. В ядрах пролиферирующих эпителиоцитов протекает синтез ДНК для обеспечения процессов репликации и реализации наследственного материала. Продукция тимопоэтинов связана с синтезом РНК в ядрышках ядер клеток. Эпителиоциты секреторной линии микроокружения оказывают дифференцированное воздействие на Т-лимфоциты при контакте с ними при помощи гуморальных сигналов.

Максимальное функциональное напряжение тимуса выявлено перед рождением организма и на 1 неделе постнатальной жизни [4, 6]. На этом фоне Т-лимфоциты мигрируют в кровоток и заселяют периферические лимфоидные органы. В это время обмен нуклеиновыми кислотами усиливается, обеспечивая формирование тимуса в качестве одного из наиболее дифференцированных органов перед рождением.

Ослабление синтетической активности эпителиальной стромы, как фактора микроокружения и источника гуморальной регуляции в процессе эмбрионального развития вызывает акцидентальную инволюцию при разнообразных эндо- и экзогенных воздействиях на плод, а также возрастную инволюцию органа после рождения.

Цель

Изучение процессов становления и дифференцировки секреторных эпителиальных клеток стромы тимуса в динамике эмбриогенеза, обеспечивающих созревание иммунокомпетентных Т-лимфоцитов, ответственных за механизмы клеточного иммунитета организма.

Материалы и методы

Исследованы срезы тимуса 9 эмбрионов белых крыс с 15 до 21 суток эмбриогенеза из коллекции кафедр гистологии, цитологии и эмбриологии БГМУ. Материал фиксировали в 10 % формалине, парафиновые срезы окрашивались гематоксилин-эозином, рибонуклеиновая кислота выявлялась методом Эйнарсона (галлоцианин с хромовыми квасцами) в ядрышках ядер эпителиальных клеток стромы развивающегося тимуса.

Цитофотометрическим методом количественно оценивалось содержание РНК в ядрышках ядер стромальных эпителиоцитов в мозговом веществе долек тимуса. Применялась фотометрическая насадка ФМЭЛ-1 с фильтром №13, соответствующим длине видимой области спектра 603 нм. На каждый срок эмбриогенеза (15, 16, 17, 18, 19, 21 сутки) с использованием точечного зонда диаметром 2,6 мкм производилось 50 измерений фон-ядрышко при увеличении в 900 раз. На основе этих измерений рассчитывалась оптическая плотность (ЕД). Использовались показатели формы распределения (асимметрия и эксцесс), отражающие организационный тип формирующейся системы.

Полученные результаты количественного анализа особенностей развития стромальных секреторных эпителиоцитов тимуса в динамике эмбриогенеза белой крысы представлены в сводных таблицах, иллюстрирующих динамику структурных и функциональных показателей.

Результаты и обсуждение

Закладка тимуса выявляется у зародыша крысы на 14 сутки развития в виде выпячивания из вентральной стенки передней кишки между 3 и 4 жаберными карманами и имеет форму пласта эпителиальных клеток, недифференцированного на дольки. Форма эпителиоцитов овальная с округлыми ядрами, занимающими большую часть цитоплазмы клеток. Хроматин в ядрах распределен диффузно с 1–2 крупными ядрышками. Заселение закладки органа мезенхимальными предшественниками Т-лимфоцитов начинается одновременно с формированием эпителиальной закладки на 15 сутки эмбриогенеза. Основная часть стромальных эпителиоцитов имеет звездчатую форму с очень тонкими отростками, формирующими ретикулум. Проследить за характером изменений клеток эпителиальной стромы в динамике эмбриогенеза сложно в связи с наличием в его формирующейся паренхиме большого количества лимфоцитов, образующих корковое и мозговое вещество. В связи с этим предметом нашего исследования являются эпителиоциты, локализующееся в мозговом веществе, где количество Т-лимфоцитов меньше, чем в корковом веществе. На 17 сутки эмбрионального развития количество ядрышек в ядрах эпителиоцитов уменьшается до одного. У зародыша 18 суток объем ядер эпителиоцитов увеличивается, но уменьшается диффузность в распределении хроматина. Ядрышки встречаются реже в единичных количествах. К 19 суткам эмбриогенеза ядрышки в ядрах измельчаются

и встречаются реже. На 21 сутки ядра эпителиоцитов темные и компактные, преимущественно округло-овальной формы, хроматин в форме отдельных скоплений. Величина и количество ядрышек уменьшается, вплоть до исчезновения в некоторых ядрах эпителиоцитов.

В эпителиальном зачатке тимуса на 15 сутки эмбриогенеза уровень РНК в ядрышках медуллобластов составляет $0,38 \pm 0,004$ ЕД ОП, что отражает начальный уровень синтетической активности РНК (таблица 1). К 17 суткам эмбриогенеза количество РНК возрастает в 2 раза ($0,73 \pm 0,1$ ЕД ОП) в связи с преобладанием процессов синтеза тимопоэтинов, что связано с активным заселением стромы предшественниками Т-лимфоцитов и началом их дифференцировки. К 18 суткам отмечается тенденция к понижению уровня РНК в ядрышках ($0,53 \pm 0,1$ ЕД ОП), что очевидно связано с периодизацией в миграционном процессе предшественников Т-лимфоцитов из красного костного мозга. К 19 суткам вновь возрастает синтетическая активность РНК в ядрышках ядер медуллобластов ($0,67 \pm 0,09$ ЕД ОП). К моменту рождения на 21 сутки эмбриогенеза синтез РНК в ядрышках стабильно постоянный и сохраняется на высоком уровне ($0,65 \pm 0,07$ ЕД ОП).

Таблица 1. Средние показатели количества РНК (в единицах оптической плотности ЕД) в ядрышках ядер стромальных эпителиоцитов мозгового вещества в динамике эмбриогенеза тимуса белой крысы

Сутки эмбриогенеза	Кол-во РНК (ЕД оптической плотности)
15	$0,38 \pm 0,004$
17	$0,73 \pm 0,1$
18	$0,53 \pm 0,1$
19	$0,67 \pm 0,09$
21	$0,65 \pm 0,07$

Таблица 2. Показатели формы распределения динамики уровня РНК в ядрышках ядер стромальных эпителиоцитов мозгового вещества в динамике эмбриогенеза тимуса белой крысы

Сутки эмбриогенеза	Ассиметрия (ЕД)	Экссесс (ЕД)
15	-0,35	-0,21
17	-0,142	0,03
18	+0,906	-0,22
19	+1,358	+3,58
21	-0,99	+1,253

Выводы

1. В процессе миграции в эмбриональную эпителиальную закладку тимуса предшественников Т-лимфоцитов из красного костного мозга секреторная активность стромальных эпителиоцитов повышается волнообразно в форме 2 пиков: на 17 и 19 сутки эмбриогенеза.

2. К моменту рождения на 21 сутки выявляется стабильно высокий и равномерный уровень синтеза тимопоэтинов в стромальных эпителиоцитах, обеспечивающих процессы дифференцировки Т-лимфоцитов, что отражает максимальную степень зрелости централь-

ного органа клеточного иммунитета, из которого мигрируют дифференцированные клетки в Т-зависимые зоны периферических органов иммунитета.

Литература

1. Волошин, Н. А., Малыжев В. А., Яхница А. Г. Эпителиальные канальцы вилочковой железы – тимозинзависимые структуры / Н. А. Волошин, В. А. Малыжев, А. Г. Яхница // Бюл. Эксперим. Биологии и медицины. – 1991. – Т. 111, № 3. – С. 327–330.
2. Новых, К. Особенности ультраструктурной организации эпителиоретикулярных элементов тимуса / К. Новых // Морфология. – 2002. – Т. 121, вып. 3. – С. 115–118.
3. Рожкова, И. С. Морфология тимуса в постнатальном онтогенезе белых крыс / И. С. Рожкова // Естественные науки. Экспериментальная физиология, морфология и медицин. – 2014. – № 1(46). – С. 67–71.
4. Сокол, А. В. Возрастная динамика экспрессии нейропептидов в тимусе человека: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А. В. Сокол. – Минск, 2013. – С. 21.
5. Ярилин, А. А. Структура тимуса и дифференцировка Т-лимфоцитов / А. А. Ярилин, В. Г. Пинчук, Ю. А. Гриневич. – Киев: Наукова думка. – 1991. – С. 9–70.
6. Bennet, A. R. Identification and characterization of thymus epithelial progenitor cells / A. R. Bennet [et al.] // Immunity. – 2002. – Vol. 16. – P. 803–814.
7. Singer, K. H., Haynes B. F. Epithelial thymocyte interactions in human thymus / K. H. Singer, B. F. Haynes // Hum. Immunology. – 1987. – Vol. 20, № 9. – P. 127–144.
8. Yano, M. et al. Aire controls the differentiation of thymus epithelial cells in the medulla for the establishment of self-tolerance / M. Yano // J. Exp. Med. – 2008. – Vol. 205. – P. 2827–2858.
9. Yarilin, A. A., Belyakov I. V. Cytocines of the thymus productions and biological effects / A. A. Yarilin, I. V. Belyakov // Curz. med. Chem. – 2004. – Vol. 4. – P. 407–464.

References

1. Voloshin, N. A. Epithelial tubules of the thymus gland – thymosin-dependent structures / N. A. Voloshin, V. A. Malyzhev, A. G. Yakhnitsa // Bul. Let's experiment. Biology and Medicine. – 1991. – Vol. 111, № 3. – S. 327–330.
2. Novykh, K. Features of the ultrastructural organization of the epithelioreticular elements of the thymus. Novykh // Morphology. – 2002. – Vol. 121, iss. 3. – S. 115–118.
3. Rozhkova, I. S. Thymus morphology in postnatal ontogenesis of white rats / I. S. Rozhkova // Natural sciences. Experimental physiology, morphology and medicine. – 2014. – № 1(46). – S. 67–71.
4. Sokol, A. V. Age dynamics of neuropeptide expression in the human thymus: abstract of thesis. Candidate of Medical Sciences / A. V. Sokol. – Minsk, 2013. – P. 21.
5. Yarilin, A. A. Thymus structure and differentiation of T-lymphocytes / A. A. Yarilin, V. G. Pinchuk, Yu. A. Grinevich. – Kiev: Naukova Dumka, 1991. – P. 9–70.
6. Bennet, A. R. et al. Identification and characterization of thymus epithelial progenitor cells / A. R. Bennet // Immunity. – 2002. – Vol. 16. – P. 803–814.
7. Singer, K. H., Haynes B. F. Epithelial thymocyte interactions in human thymus / K. H. Singer, B. F. Haynes // Hum. Immunology. – 1987. – Vol. 20, № 9. – P. 127–144.
8. Yano, M. Aire controls the differentiation of thymus epithelial cells in the medulla for the establishment of self-tolerance / M. Yano [et al.] // J. Exp. Med. – 2008. – Vol. 205. – P. 2827–2858.
9. Yarilin, A. A., Belyakov I. V. Cytocines of the thymus productions and biological effects / A. A. Yarilin, I. V. Belyakov // Curz. med. Chem. – 2004. – Vol. 4. – P. 407–464.

Поступила 15.06.2021 г.