

## **Морфология постклеточных структур телец Гассалья тимуса человека в норме**

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»*

Предложена комбинированная окраска гематоксилин-альциановый синий – кислый фуксин, которая позволяет четко выявить альциан-положительные постклеточные структуры (ПКС) относительно других клеток телец Гассалья и фосфорномолибденовый гематоксилин – кератиновые фибриллы. Установлено, что альциан-положительные постклеточные структуры представляют собой терминальную стадию деградации эпителиальных клеток телец Гассалья. Процесс экструзии содержимого ПКС в полость телец Гассалья происходит путем увеличения их размеров, перинуклеарного накопления кератина, разрыва внутренней пластинки и включения мембраны ПКС в ее состав. Таким образом, увеличение размеров тельца напрямую связано с числом клеток, подвергающихся гибели.

**Ключевые слова:** тимус, тельца Гассалья, альциановый синий

### **Введение**

Согласно объединенной теории центральной иммунотолерантности, эпителиальные клетки телец Гассалья играют особую роль в поддержании иммунологического гомеостаза: презентируют тканеспецифические антигены для элиминации аутореактивных лимфоцитов.

В настоящее время установлено существование специфической популяции эпителиальных клеток мозгового вещества тимуса, выполняющих уникальные функции в процессах иммуногенеза. Отличительной чертой этих клеток является активность гена Aire, кодирующего белковый транскрипционный фактор, вызывающий транскрипцию эктопических тканеспецифических белков [7]. Aire обеспечивает синтез белков различных тканей в эпителиальных клетках тимуса, создавая в нем как бы иммунологический образ всего организма. Таким образом, Aire+ клетки являются своеобразными «транскрипционными машинами» по производству тканеспецифических антигенов, которые важны для удаления аутореактивных лимфоцитов, а значит, для создания и поддержания иммунологического гомеостаза в организме [6].

В настоящее время показано, что Aire+ эпителиальные клетки подвергаются ступенчатому процессу дифференцировки, характеризующимся изменением экспрессии определенных поверхностных маркеров. Конечной стадией этого процесса, при которой клетки достигают наибольшего развития, является образование телец Гассалья. Тот факт, что Aire+ эпителиальные клетки мозгового вещества окончательно созревают функционально, только когда организуются в тельца Гассалья, подтверждается многочисленными работами [2], доказывающими специфические свойства клеток телец Гассалья. Гибель этих клеток путем аутофагии приводит к освобождению растворимых тканеспецифических антигенов, которые используются дендритными клетками для процессов селекции в тимусе [6]. Процесс дифференцировки Aire+

эпителиальных клеток, имеющий большую важность для процессов позитивной и негативной селекции, был описан с использованием иммуногистохимических маркеров, однако его морфологическое описание отсутствует [5,8].

Литературные данные [2] показывают, что при окраске тимуса различными методами, использующими альциановый синий, можно выявить самые разные структуры – и элементы соединительной ткани в составе капсулы и септ, и эпителиальные клетки телец Гассалья на заключительных стадиях своего развития (или их остатки), в том числе, вероятно, и Aire+ эпителиальные клетки. Нами установлено, что окраска альциановым синим при pH 2,5 с кислым фуксином и гематоксилином позволяет точнее дифференцировать постклеточные структуры внутреннего слоя телец Гассалья от функционально активных клеток и изучить морфологические особенности этого процесса.

#### Материалы и методы

В исследовании использовали фрагменты тимусов, удаленных в Минском детском кардиохирургическом центре при вмешательствах при минимальных сердечно-сосудистых пороках у детей, в анамнезе которых отсутствовали инфекционные заболевания, иммунодефицитные состояния, прием стероидных гормонов, иных иммунодепрессантов (10 случаев).

Образцы тимуса фиксировали в нейтральном формалине, заливали в парафин, готовили серийные срезы толщиной 7 мкм. Окраска препаратов проводилась гематоксилин-эозином, на нуклеиновые кислоты по Браше, по методу Пачини, фосфорномолибденовым гематоксилином и с применением предложенной нами комбинированной окраски гематоксилин-альциановый синий – кислый фуксин.

#### Результаты и обсуждение

На стадии морфофункциональной зрелости тельца Гассалья выглядят следующим образом: по периферии определяются гипертрофированные светлые эпителиальные клетки, которые накапливают тонофиламенты и кератин (наружные клетки). Глубже лежат уплощенные эпителиальные клетки, в цитоплазме которых увеличивается количество кератина, редуцируются органеллы (внутренние клетки). Эти клетки постепенно подвергаются дегенерации, происходит редукция их органелл, экструзия содержимого в центр тельца. Вероятно, эти постклеточные структуры (ПКС) и являются конечным этапом дифференцировки Aire+ эпителиальных клеток. Содержимое клеток, очевидно, с растворимыми тканеспецифическими органеллами, остатки органелл, фрагменты ядер, продукты распада располагаются в полости тельца, центр которой занимает кератиновое ядро. Клеточная мембрана внутренних клеток на границе с полостью тельца уплотняется – это внутренняя мембрана тельца Гассалья.

При окраске препаратов тимуса предложенной нами методикой гематоксилин-альциановый синий – кислый фуксин в составе телец Гассалья интенсивно окрашиваются четыре группы постоянных элементов: разрушающиеся внутренние клетки телец Гассалья (ПКС), внутренняя мембрана, аморфное вещество в полости тельца, прослойки кислых мукополисахаридов внутри кератинового ядра.

Факт наличия ПКС был замечен давно, однако это явление долгое время не получало удовлетворительной интерпретации. Bodey описывает [2] наличие кислых мукополисахаридов во внутренней пластинке телец, не давая интерпретации наблюдаемым явлениям. Henry [9] отмечал наличие мукоидной субстанции в тельцах Гассалья и единичных клетках ретикулоэпителия. Gad и Clark считали [3], что эта субстанция является сульфатированным мукоидным лимфопоэтическим гормоном. Izard отмечал [4], что накопление мукоидов является достаточно редким явлением и связано скорее с явлениями дегенерации, чем с секреторным процессом.

Морфологический анализ позволил выявить, что ПКС – это структуры внутреннего слоя телец Гассалья овальной формы, заполненные альциан-положительной субстанцией (сетчатый паттерн) с остатками дегенерирующего ядра. Располагаются ПКС между внутренними клетками телец, на границе с внутренней мембраной, ограничивающей клеточную часть тельца от его полости. Характер изменений ядра и цитоплазмы позволяет утверждать, что данные образования представляют собой терминальную стадию дегенерации клеток телец Гассалья. Первыми морфологическими признаками такого процесса являются изменения ядра (инвагинации, глыбчатый распад хроматина), затем наблюдается сетчатая дегенерация цитоплазмы с утолщением мембраны клеток и образованием вокруг ядра сети кератиновых фибрилл, после чего происходит слияние мембраны ПКС с внутренней мембраной тельца Гассалья (рис.1) .

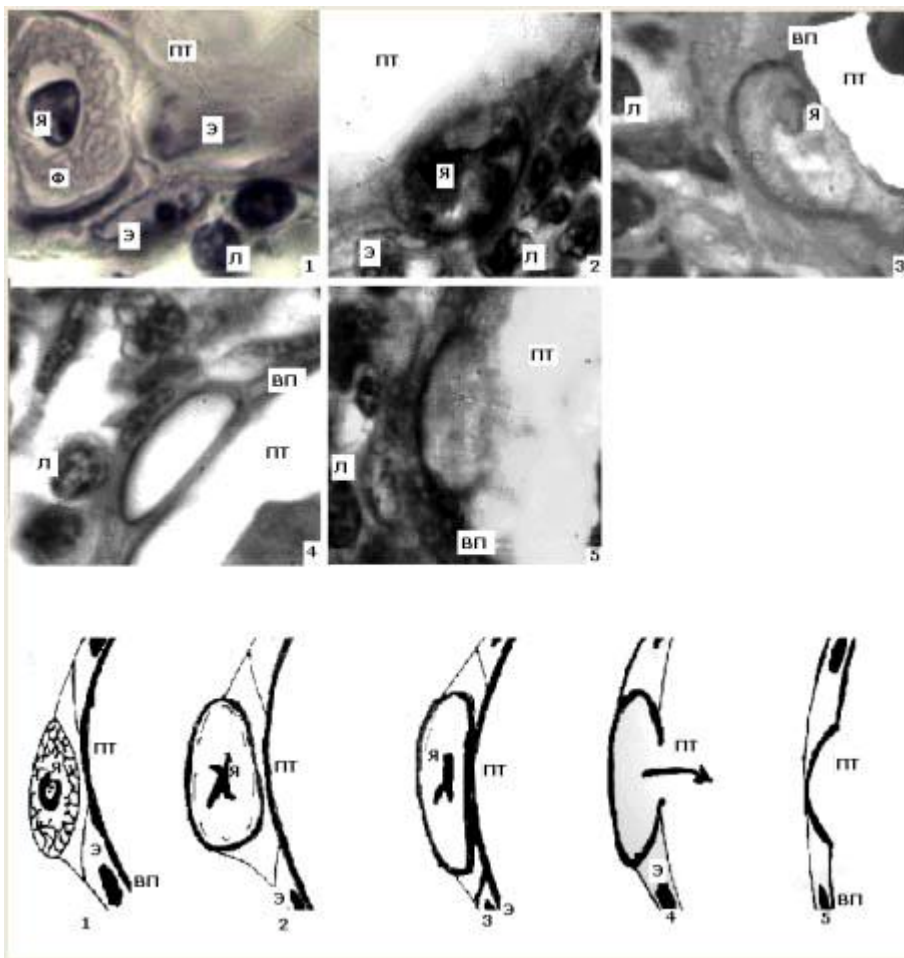


Рис.1. Стадии развития ПКС в составе тельца Гассалья  
А – микрофотография фрагментов тельца Гассалья. Увеличение 1000. Окраска

гемастоксиллин - альциановый синий – кислый фуксин, кроме (1) - фосфорномолибденовый гематоксилин.

Б – схема стадий развития ПКС

1. Сетчатая дегенерация цитоплазмы
2. Дегенерация ядра, утолщение цитолеммы
3. Слияние мембраны АППС с внутренней пластинкой тельца Гассалья
4. Разрыв мембраны АППС и экструзия содержимого в полость тельца.
5. Включение мембраны АППС в состав внутренней мембраны тельца

ПТ – полость тельца Гассалья, Я – ядро дегенерирующей клетки, Л – лимфоциты, Э – эпителиальные клетки тельца Гассалья, ВП – внутренняя пластинка, Ф – кератиновые фибриллы.

Следующим этапом в морфогенезе ПКС является разрыв их мембраны и экструзия содержимого в просвет тельца, причем их мембрана включается в состав внутренней мембраны тельца. Этот факт противоречит устоявшимся представлениям о том, что клетки телец дегенерируют подобно кератиноцитам, слущиваясь и включаясь в состав кератинового ядра телец (рис.1).

Интересным наблюдением оказалось сравнительно небольшое число ПКС (1-3 на 20 клеток) в составе телец Гассалья, что свидетельствует о том, что лишь небольшая часть клеток нефункциональна.

При изучении телец различных стадий развития, были выявлены характерные особенности ПКС для каждой из стадий.

Для незрелых телец характерно наличие единичных ПКС, окруженных морфологически неизменными клетками. В зрелых тельцах ПКС расположены среди внутренних клеток телец, на границе с внутренней мембраной и имеют овальную форму. В стареющих тельцах уменьшается количество и размеры ПКС, они приобретают уплощенную форму.

#### **Выводы.**

1. Применение комбинированной окраски гематоксилин – альциановый синий – кислый фуксин позволяет четко выявить ПКС и их расположение относительно других компонентов телец Гассалья.
2. Альциан-положительные ПКС представляют собой терминальную стадию дегенерации эпителиальных клеток телец Гассалья.
3. Процесс экструзии содержимого ПКС в полость телец Гассалья происходит путем увеличения их размеров, разрыва внутренней мембраны и включения в ее состав мембраны ПКС. Таким образом, увеличение размеров тельца напрямую связано с числом клеток, подвергающихся гибели.

#### **Литература**

1. Харченко, В. П. [и др.] // Болезни вилочковой железы. М., 1998.
2. Bodey, V. Immunological aspects of neoplasia. The role of the thymus / V. Bodey, S. E. Siegel // Springer Science. 2004. 567 p.

3. Gad, P. Involution and regeneration of the thymus in mice, induced by bacterial endotoxin and studied by quantitative histology and electron microscopy / P. Gad, J. Clark // *Am J Anat.* 1968. Vol. 122. P. 573–605.
4. Izard, J. Ultrastructure of Hassall's corpuscles during the course of experimental thymus gland involution induced by folliculin / J. Izard // *Zeitschr Zellforsch.* 1965. Vol. 66. P. 276–292.
5. Koble, C. The thymic medulla: a unique microenvironment for intercellular self-antigen transfer / C. Koble, B. Kyewski // *J. Exp. Med.* 2009. Vol. 206, № 7. P. 1505–1513.
6. Klein, L. Antigen presentation in the thymus for positive selection and central tolerance induction / L. Klein // *Nature Reviews Immunology.* 2009. Vol. 9. P. 833–844.
7. Mathis, D. A decade of AIRE / D. Mathis, C. Benoist // *Nature Reviews Immunology.* 2007. Vol. 7. P. 645–650.
8. Nedjic, E. Autophagy in thymic epithelium shapes the T-cell repertoire and is essential for tolerance / E. Nedjic, M. Aichinger // *Nature.* 2008. Vol. 455. P. 396–400.
9. Henry, K. The thymus in rheumatic heart disease / K. Henry // *Clin. exp. Immunol.* 1968. Vol. 3. P. 509–523.
10. Henry, K. Mucin secretion and striated muscle in the human thymus / K. Henry // *Lancet.* 1966. Vol. 4. P. 183–185.