

ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ РЕАКТИВНОСТИ ПРИ РАЗВИТИИ АНТИСТРЕССОРНЫХ АДАПТАЦИОННЫХ РЕАКЦИЙ КАК МЕХАНИЗМ СИСТЕМНОГО ДЕЙСТВИЯ ТИМАЛИНА В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Жукова Г.В.¹, Шихлярова А.И.¹, Бартенева Т.А.¹, Пржедецкий Ю.В.¹, Логинова Л.Н.², Мхитарян О.В.¹, Ващенко Л.Н.¹, Кечеджиева Э.Э.¹

¹ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: galya_57@mail.ru;

²ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, e-mail: info@samsmu.ru

В экспериментах на 33 белых беспородных условно здоровых крысах-самцах предстарческого возраста изучали влияние препарата тималин на показатели характера и напряженности адаптационных реакций организма. Динамика гематологических показателей, изменение веса тимуса и надпочечников, а также их соотношения, направленность структурно-функциональных сдвигов в тимусе указывали на повышение уровня реактивности при развитии антистрессорных адаптационных реакций спокойной и повышенной активации под влиянием тималина. В центральном органе иммунной системы наблюдалось увеличение лимфопролиферативной активности и усиление межклеточных взаимодействий с участием тканевых базофилов. Полученные результаты расширяют современные представления о системном влиянии пептидных факторов тимуса на организм и указывают на перспективность алгоритмов активационной терапии при использовании этих факторов в качестве профилактических и геропротекторных средств.

Ключевые слова: тималин, антистрессорные адаптационные реакции организма, уровни реактивности, тимус, иммунная система.

RISE OF REACTIVITY LEVEL OF ANTISTRESS ADAPTATIONAL REACTIONS AS A MECHANISM OF THE SYSTEMIC ACTION OF THYMALIN UNDER PHYSIOLOGICAL CONDITIONS

Zhukova G.V.¹, Shikhliarova A.I.¹, Barteneva T.A.¹, Przhedetsky Yu.V.¹, Loginova L.A.², Mhitarian O.V.¹, Vaschenko L.N.¹, Kechedzhieva E.E.¹

¹Federal State Institution "Rostov Research Institute of Oncology", Rostov-on-Don, e-mail: galya_57@mail.ru;

²Samara State Medical University, Samara, e-mail: info@samsmu.ru

The impact of thymalin on the characteristics of antistress adaptational reactions was studied in experiments on 33 white outbred apparently healthy presenile male rats. Dynamics of hematology indicators, changes in the weight of the thymus, adrenal glands, the ratio of these indicators as well as shifts of structure characteristics of the thymus of the animals allow to conclude that the remedy of thymus contributed to raising the level of reactivity in the development of general nonspecific adaptational reactions of calm and elevated activation. The results of the analysis of the micro picture of the thymus gland showed increasing of lymphoproliferative activity and enhancing of intercellular interactions involving tissue basophils in the central organ of the immune system under the influence of the thymalin. These results extend the current understanding of the systemic influence of the thymic peptide factors on organism and point to the prospect of activation therapy algorithms when these factors are used as a prophylactic and geroprotective remedies.

Keywords: thymalin, antistress adaptation reactions of the organism, reactivity levels, thymus, the immune system.

В настоящее время накоплены значительные сведения о лечебных и профилактических эффектах различных пептидных препаратов тимуса в отношении целого ряда патологических процессов, их влиянии на состояние некоторых структур нейроэндокринной и иммунной систем, а также на стресс-лимитирующие процессы в ЦНС и реализацию высших интегративных функций мозга [1, 4, 10]. В то же время современные представления о взаимосвязи многоуровневых изменений в организме, вызванных действием

пептидов тимуса, имеют фрагментарный характер. Закономерным этапом в развитии этих представлений является исследование влияния пептидных препаратов тимуса на структуру интегральных реакций организма. Целью настоящей работы явилось изучение изменений характера и напряженности общих неспецифических адаптационных реакций организма [2] при использовании тималина у экспериментальных животных предстарческого возраста.

Материалы и методы

Эксперименты проводили на 33 белых беспородных крысах-самцах в возрасте 19–20 месяцев (280–300 г) при соблюдении этических требований гуманного обращения с экспериментальными животными [6]. Препарат тималин, разведенный физиологическим раствором до концентрации 0.5 мг/мл, вводили внутримышечно в наружную поверхность бедра раз в 3 дня в течение 3 недель. При этом стартовая доза тималина составляла 0.14 мг/кг. В дальнейшем проводили изменение стартовой дозы препарата в пределах 0.14 – 0.40 мг/кг в соответствии с экспоненциальным режимом активационной терапии [2]. Использованные дозы, сопоставимые по значению с терапевтическими дозами тималина у людей [1], по своему биологическому действию на организм белых крыс могли быть аналогичны значительно более низким дозам (в 2–5 раз), в силу известной разницы в чувствительности людей и животных к целому ряду биологически активных веществ [7].

Для оценки характера и напряженности АР в ходе эксперимента использовали лейкоцитарную формулу и общее содержание лейкоцитов в крови, взятой из подкожной вены медиальной поверхности бедра. Лейкоцитарная формула рассчитывалась на 200 клеток. Сигнальным показателем характера АР служило относительное число лимфоцитов [2, 9]. Степень напряженности АР, отражающую уровень реактивности организма, на котором развивались АР, оценивали по выраженности отклонений от нормальных значений относительного содержания палочкоядерных нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов и базофилов, а также общего содержания лейкоцитов [2].

По окончании эксперимента проводили декапитацию животных под эфирным наркозом. Определяли весовые коэффициенты (ВК) тимуса и надпочечников (вес органа в миллиграммах/вес животного в граммах), а также отношение веса тимуса к весу надпочечников – показателей, также используемых для характеристики АР [2, 9]. Изучение микрокартины тимуса проводили с помощью метода Браше, позволяющего выявлять нуклеопротеиды и оценивать зрелость и степень дифференцировки лимфоидных элементов, а также других клеток исследованного органа. Определяли стромально-паренхиматозный коэффициент (СПК), отражающий соотношение площади стромы и лимфоидной паренхимы тимуса, зависящее от активности лимфопролиферативных процессов в органе. Каждый случай характеризовался данными, полученными при анализе препарата в 10 полях зрения (х

400–900) в каждом из 3–5 срезов органа. По результатам ранжирования данных полуколичественного анализа препаратов тимуса в отдельных полях зрения и усреднения показателей по отдельным случаям оценивали относительное число тканевых базофилов (ТБ), степень их дегрануляции, а также признаки их взаимодействия с тимоцитами – по взаимному расположению клеток этих двух видов («контакты»). При этом показатель дегрануляции ТБ мог изменяться в диапазоне от 0 («малое количество гранул у всех клеток и отсутствие признаков дегрануляции») до 3 («выраженная дегрануляция всех выявленных ТБ»). При статистической обработке результатов исследования использовали критерий Вилкоксона – Манна – Уитни и критерий Стьюдента, вариабельность полученных значений оценивали с помощью коэффициента вариации.

Результаты и обсуждение

К концу эксперимента у большинства крыс исследованных групп (более 80 %) относительное число лимфоцитов в лейкоцитарной формуле крови соответствовало АР спокойной или повышенной активации [2]. При этом у части самцов контрольной группы были повышены показатели содержания моноцитов (10–13 %), а также отмечалось наличие базофилов (1 %), что, согласно установленным ранее критериям, свидетельствовало о напряжении антистрессорных АР [2]. Гематологическим признакам напряженности АР у этих животных соответствовало снижение значения ВК тимуса и соотношения веса тимуса и надпочечников. Такие крысы-самцы были выделены в подгруппу 2, тогда как в подгруппу 1 вошли животные, у которых гематологические признаки напряженности отмечены не были, а ВК тимуса и отношение веса тимуса и надпочечников было выше значений этих показателей в подгруппе 2, соответственно в 1.7 и 1.4 раза (табл. 1). Выявленные различия позволяли говорить о более гармоничных регуляторных взаимоотношениях в организме крыс подгруппы 1, что указывало на более высокий уровень реактивности при развитии у них антистрессорных АР по сравнению с уровнем реактивности аналогичных АР у животных подгруппы 2.

В отличие от контрольной группы, в группе крыс, получавших тималин, не было выявлено отклонений параметров лейкоцитарной формулы и уровня лейкоцитов в крови от нормальных значений. В то же время анализ ВК тимуса и надпочечников, а также соотношения веса этих органов позволил выделить также и в этой группе две подгруппы животных, различавшихся по исследованным показателям. Аналогично различиям между подгруппами крыс контрольной группы, у животных, получавших тималин, которые составили подгруппу 1, были отмечены более высокие значения ВК тимуса и отношения веса тимуса к весу надпочечников, чем у самцов подгруппы 2 (табл. 1). При этом соотношения сравниваемых показателей в разных подгруппах животных, получавших тималин, совпадали

с аналогичными соотношениями этих показателей у крыс разных подгрупп в контроле (1.7 и 1.4, соответственно, для ВК тимуса и отношения веса тимуса к весу надпочечников). Такой результат мог свидетельствовать о том, что у животных, получавших тималин, которые входили в разные подгруппы, так же, как и у крыс разных подгрупп контрольной группы, имелись отличия в уровнях реактивности, на которых развивались аналогичные антистрессорные АР.

Таблица 1

Изменения в структуре адаптационных реакций (АР) организма белых беспородных крыс-самцов при воздействии тималина

Группа		Преобладавшие АР	ВК тимуса	ВК надпочечн.	Вес тимуса/ вес надпочечников
Контроль	1 n=9	СА и ПА	0.67 ± 0.1	0.14±0.01	5.2±0.4
	2 n=6	СА и ПА с признаками напряжения	0.40 ± 0.02 ●	0.18±0.04	3.7±0.2 ●
Тималин	1 n=13	СА и ПА	0.85 ± 0.07 ▲	0.11±0.003 ▲*	7.3±0.5 ▲*
	2 n=5	СА и ПА	0.50 ± 0.02 ● *	0.10±0.001 *	5.1±0.3 ● *

Обозначения: СА – АР спокойной активации, ПА – АР повышенной активации, ВК – весовой коэффициент;

● – достоверно отличается от значений в подгруппе 1 той же группы, $p < 0.05$;

* – достоверно отличается от значений в аналогичной подгруппе контрольной группы, $p < 0.05$;

▲ – достоверно отличается от значений в подгруппе 2 контрольной группы, $p < 0.05-0.01$.

При этом введение тималина в режимах активационной терапии способствовало улучшению адаптационного статуса. Животные, получавшие тималин, отличались более высокими значениями ВК тимуса и весового соотношения тимуса и надпочечников, и более низкими значениями ВК надпочечников по сравнению с этими показателями в аналогичных подгруппах контрольной группы крыс-самцов (разница между соответствующими значениями более 1.2 раз, табл. 1). На основании результатов комплексного сравнения показателей, представленных в таблице 1, можно прийти к заключению о том, что животные подгруппы 1, получавшие тималин, отличались к концу эксперимента наиболее благоприятными характеристиками АР. Несколько ниже можно было оценить адаптационный статус крыс из подгруппы 2, получавших тималин, а также и состояние животных из подгруппы 1 контрольной группы. И, наконец, у крыс подгруппы 2 контрольной группы были отмечены наиболее выраженные признаки напряженности антистрессорных АР. Таким образом, результаты анализа исследованных показателей в целом указывали на повышение уровня реактивности при развитии антистрессорных АР под

влиянием тималина.

Изучение особенностей структурно-функционального состояния тимуса как центрального органа иммунной системы позволило получить более полное представление об изменениях в организме исследованных животных при развитии антистрессорных АР разных уровней реактивности, а также о влиянии тималина на иммунные процессы (табл. 2). Микрокартина тимуса в большинстве случаев в целом соответствовала характеру АР, идентифицированному по лимфоцитарному показателю и ВК тимуса и надпочечников [2]. В большинстве случаев при развитии АР спокойной и повышенной активации не менее половины долек отличались крупными размерами. При этом корковое вещество заметно преобладало над мозговым веществом. В то же время, наряду со сходными общими признаками, у крыс исследованных групп имелись особенности, указывающие на различия в состоянии лимфоидной паренхимы центрального органа иммунитета.

Таблица 2

Морфофункциональные изменения в тимусе белых беспородных крыс-самцов при воздействии тималина

Группа		Характер преобладавших АР	ВК тимуса	СПК 10 ³ (с.в.,%)	Тканевые базофилы		
					№ отн.	Степень дегрануляции	«Контакты» с тимоцитами
Контроль	1 n=9	СА и ПА	0.67 ±0.1	12±3 (71%)	2.0±0.1	0.75±0.11	отсутствуют
	2 n=6	СА и ПА с признаками напряжения	0.40±0.02 ●	30±9 ● (67%)	1.3±0.1 ●	0.60±0.01	отсутствуют
Тималин	1 n=13	СА и ПА	0.85 ±0.07 ▲	11±0.1 ▲ (3%)	2.2±0.1 ▲	1.0±0.07 ▲*	в 20–30 % полей зрения
	2 n=5	СА и ПА	0.50 ±0.02 ●*	12±0.1 * (2%)	2.0±0.3 *	1.0±0.30	отсутствуют

Обозначения: СА – АР спокойной активации, ПА – АР повышенной активации, ВК – весовой коэффициент; СПК – стромально-паренхиматозный коэффициент в тимусе, с.в. – коэффициент вариации; Нотн. – среднее число тканевых базофилов в поле зрения (x 900).

Примечания: ● – достоверно отличается от значений в подгруппе 1 той же группы, p<0.05;

* – достоверно отличается от значений в аналогичной подгруппе контрольной группы, p<0.05; ▲ – достоверно отличается от значений в подгруппе 2 контрольной группы, p<0.05-0.01.

Так, у животных подгруппы 2 контрольной группы наблюдались максимальные значения СПК, в 2.5 раза и более превышавшие значения данного показателя у остальных крыс (табл. 2) и свидетельствовавшие о выраженном сдвиге соотношения элементов стромы и паренхимы в тимусе самцов данной подгруппы в сторону стромы. Это соответствовало представлению о наиболее низком уровне реактивности у этих животных и указывало на относительно невысокую активность лимфопролиферативных процессов в дольках тимуса при развитии напряженных антистрессорных АР.

У крыс остальных исследованных подгрупп были отмечены значительно более низкие значения СПК, свидетельствующие об активизации лимфопролиферативных процессов по сравнению с отмеченным у животных с напряженными антистрессорными АР. При этом вариабельность данного показателя значительно различалась у животных контрольной группы и самцов, получавших тималин. Так, в контрольной группе крыс-самцов коэффициент вариации значений СПК был выше 60 %, что отражало значительные колебания интенсивности процессов пролиферации в лимфоидной паренхиме тимуса этих животных. В то же время у крыс, получавших тималин, рассматриваемый показатель не превышал 3 % (табл. 2), что свидетельствовало о практическом совпадении уровня лимфопролиферативной активности в тимусе крыс данной группы. Это позволяло говорить о сочетании активизирующего и синхронизирующего влияния тималина на пролиферативные процессы в лимфоидной паренхиме центрального органа иммунной системы.

Различия между животными исследованных групп наблюдались также и по показателям активности популяции ТБ тимуса (табл. 2). Так, при развитии напряженных антистрессорных АР у крыс подгруппы 2 контрольной группы количество ТБ, выявленных в дольках тимуса, было ниже, чем у остальных животных (табл. 2). Они могли содержать различное количество гранул, однако при этом признаки дегрануляции не отмечались. Как правило, ТБ были локализованы в области соединительнотканых прослоек между дольками, то есть в отдалении от тимоцитов. Признаки наибольшей активности рассматриваемых клеток иммунной системы были отмечены у самцов подгруппы 1, получавших тималин, с наиболее высоким уровнем реактивности антистрессорных АР по показателям, представленным в табл.1, и гематологическим показателям. Это выражалось в более высокой степени дегрануляции ТБ тимуса этих животных по сравнению с отмеченной у крыс контрольной группы (табл. 2), а также в изменении локализации этих клеток и перемещения значительной их части в корковое вещество долек. Кроме того, только у животных рассматриваемой подгруппы были обнаружены признаки взаимодействия между тимоцитами и ТБ («контакты» клеток) (табл. 2).

Последнее обстоятельство имеет значение, поскольку расположение ТБ с признаками дегрануляции в непосредственной близости к тимоцитам создает условия для воздействия целого ряда биологически активных веществ, содержащихся в гранулах ТБ, на функциональное состояние лимфоидных элементов тимуса [3, 8, 10]. Это воздействие на тимоциты может осуществляться как непосредственно, так и опосредовано, через изменение активности других клеток микроокружения лимфоцитов тимуса [3, 8]. В результате такого воздействия возможно изменение функциональной активности тимоцитов, динамики процессов их созревания, дифференцировки, а также устойчивости к действию

проапоптотических факторов, что, в свою очередь, может оказать существенное влияние на иммунные процессы в крови и тканях. Кроме того, имеются сведения о возможном участии ТБ тимуса в нейроиммунных взаимодействиях также и в качестве эффекторных элементов, модифицирующих активность нервных структур [3, 4, 10]. Это может иметь значение для развития интегральных реакций организма под влиянием тималина.

Таким образом, результаты анализа микрокартины тимуса так же, как и анализа гематологических показателей в комплексе с весовыми характеристиками тимуса и надпочечников, указывают на различия в характеристиках антистрессорных АР у крыс-самцов исследованных групп и свидетельствуют о повышении уровня реактивности под влиянием тималина.

Заключение

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о благоприятном влиянии тималина, применявшегося в соответствии с алгоритмами активационной терапии, на характеристики общих неспецифических АР организма у белых беспородных крыс-самцов предстарческого возраста. Изменения гематологических показателей, весовых коэффициентов тимуса и надпочечников и их соотношения указывают на повышение уровня реактивности организма при развитии антистрессорных АР, среди которых преобладали АР спокойной и повышенной активации. О повышении уровня реактивности организма под влиянием тималина свидетельствовали также и отмеченные в тимусе морфофункциональные признаки усиления лимфопролиферативных процессов и взаимодействия тимоцитов и тканевых базофилов – клеток, определяющих локальный гомеостаз и способных оказывать влияние на функциональное состояние, дифференцировку и устойчивость Т-лимфоцитов, а также на динамику процессов в нервной системе. При этом внутригрупповые различия в уровне реактивности АР исследованных животных, обусловившие разделение на подгруппы, очевидно, были связаны с различиями в исходном состоянии и индивидуальной чувствительности крыс-самцов в пределах каждой группы.

Как известно, развитие антистрессорных АР спокойной и повышенной активации высоких уровней реактивности в наиболее значительной степени способствует повышению устойчивости организма к действию повреждающих факторов и замедлению процессов старения [2]. Таким образом, повышение уровня реактивности организма под влиянием тималина может иметь большое значение для профилактики патологических процессов и возрастного снижения чувствительности гипоталамуса к сигналам обратной связи [5]. Полученные результаты расширяют представления о биологическом действии препаратов тимуса, указывают на системный механизм, который может определять их

профилактические и геропротекторные эффекты, а также на перспективность алгоритмов активационной терапии при использовании факторов тимуса в клинической практике.

Список литературы

1. Арион В.Я., Зими́на И.В., Москвина С.М. Иммунобиологические свойства и клиническое применение тимозина и других препаратов тимуса // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2008. – № 1. – С. 26-40.
2. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С., Шихлярова А.И. Антистрессорные реакции и активационная терапия. – Екатеринбург, 2002. – Ч. I.
3. Гусельникова В.В., Сухорукова Е.Г., Коржевский Д. Э., Полевщиков А. В. Тучные клетки тимуса как посредники в системе нейро-иммунных взаимодействий // Мед. академ. журнал. – 2013. – Т. 13, № 3. – С. 687–691.
4. Зими́на И.В., Белова О.В., Торховская Т.И. и др. Взаимосвязь тимуса и тимических пептидов с нервной и эндокринной системами // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2015. – № 1. – С. 18-29.
5. Dilman V., Dean W. The Neuroendocrine Theory of Aging. The Center for Bio-Gerontology, Pensacola, 1992.
6. European Treaty Series – No. 123. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg, 1986.
7. Freireich E.J. Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, dog, monkey and man // Cancer chemotherapy and reports, 1966. Vol. 50. № 5. P.219-244.
8. He S.H. Key role of mast cells and major secretory products in Inflammatory bowel disease // World J. Gastroenterol. 2004. Vol. 10, № 3. P.309–318.
9. Selye H. Thymus and adrenals in the response of the organisms to injuries and intoxication // Brit. J. Exp. Path. 1936. № 17. P. 234–248.
10. Thyagarajan S., Priyanka H.P. Bidirectional communication between the neuroendocrine system and the immune system: relevance to health and diseases. Ann Neurosci 2012; 19(1):40-6.