

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 616.438: 611.018.7-068

БЕЛОВЕШКИН
Андрей Геннадьевич

**СИСТЕМНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ТЕЛЕЦ ГАССАЛЯ
ТИМУСА ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Минск 2013

Работа выполнена в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Научный руководитель: **Студеникина Татьяна Михайловна**, кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Недзьведь Михаил Константинович**, доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Мацюк Ярослав Романович, доктор биологических наук, профессор кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Оппонирующая организация: учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»

Защита состоится 24 сентября 2013 года в 14.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.03 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, e-mail: bsmu@bsmu.by, телефон: (8-017) 272-55-98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «___» августа 2013 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук, доцент



Н.А. Трушель

SUMMARY

Beloveshkin Andrei Gennadzevich

Systemic organization of Hassall's corpuscles in the thymus of first year children

Key words: thymus, Hassall's corpuscles, epithelial cells, immune tolerance.

Object of research: thymus.

Purpose of research: to determine features of systemic organization of Hassall's corpuscles in the thymus of first year children

Methods of research: histological, histochemical, immunohistochemical, morphometrical, electron microscopy, statistical and systemic analysis.

Equipment used: digital camera UMD-300 («Gsmserver», Taiwan), light microscope Zeiss Axiolab («Carl Zeiss AG», Germany), ultratome LKB (Sweden), electron microscope JEM 100CX (Japan).

The results and their novelty: for the first time in Belarus and in foreign practice, we perform a complex research of systemic organization of Hassall's corpuscles in the thymus of first year children. There has been determined main cells forming Hassall's corpuscles are two types of cells that differ each other by origin, texture and function. We revealed that composition and amount of accessory cells in Hassall's corpuscles depends on their stage of development. It has been established that the main systemic factor of Hassall's corpuscles organization is the process of synthesis, mobilization and transduction of tissue-specific autoantigens for immune tolerance induction.

Recommendations of application: the received new data of systemic organization of Hassall's corpuscles can be used in teaching medical universities in the study of structure and function of the thymus gland in the departments of histology, cytology, embryology, microbiology, virology and immunology and oncology. The data obtained can be used also in cell therapy and biotechnology.

The field of application: cell biology, histology, cytology and embryology, normal and pathologic physiology, immunology pediatrics, oncology, pathological anatomy.

ВВЕДЕНИЕ

Иммунная система обеспечивает генетическую целостность организма на протяжении его онтогенеза. Она способна обнаруживать чужеродные антигены и индуцировать против них иммунный ответ. Для правильного распознавания антигенов необходимо отсутствие чувствительности к антигенам собственного организма (иммунная толерантность). Она реализуется на двух уровнях: центральном (в тимусе и красном костном мозге) и периферическом (в периферических органах иммунной системы). В тимусе иммунная толерантность формируется посредством двух основных механизмов: удалением аутореактивных тимоцитов и дифференцировкой Т-регуляторов, которые контролируют иммунный ответ на периферии [Kyewski B., 2006; Yu J., 2006].

Тимус является одним из центральных (первичных) органов иммунной системы, в котором из клеток-предшественников дифференцируются различные субпопуляции Т-лимфоцитов. Процесс их дифференцировки начинается в корковом веществе тимуса, а завершается в мозговом. В центре мозгового вещества тимуса находятся скопления концентрически расположенных терминально дифференцированных эпителиальных клеток, получившие название телец Гассалья [Petrie H., 2007; Spits H., 2002]. Они привлекали внимание большого числа исследователей, однако точные данные об их функции и строении отсутствуют до сих пор. Это связано с преобладанием в научной среде представления о тельцах Гассалья, как об остатках дегенерирующего эпителия, которые аналогичны роговым чешуйкам эпидермиса и не выполняют значимых функций [Takigawa M., 1977; Lastera A., 1986]. Другой, не менее важной причиной, является преимущественное использование в качестве лабораторных животных мышей и крыс, в тимусе которых тельца Гассалья встречаются редко и развиты очень слабо. Отметим и невозможность изучения развития телец *in vitro*, так как они не формируются в культурах клеток [Ramsey C., 2002; Itoh T., 1982].

В последнее десятилетие тельца Гассалья вновь оказались в центре внимания морфологов и клиницистов, поскольку в них обнаружены тканеспецифические аутоантигены и выявлена их роль в патогенезе таких заболеваний как сахарный диабет 1 типа, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, аутоиммунный тиреоидит, синдром Гудпасчера и ряда других [Berthelot J., 2010; Chentoufi A., 2004; Derbinski J., 2000; Wong D., 2001]. Также установлено, что тельца Гассалья синтезируют хемокины, влияющие на различные клеточные популяции мозгового вещества [Savchenko A., 2006; Zubkova I., 2005; Zaitseva M., 2002].

Несмотря на это, сведения о взаимоотношениях телец Гассалья с другими клетками мозгового вещества тимуса (дендритными, миоидными,

нейроэндокринными клетками, тимоцитами, макрофагами, эозинофилами и др.) до настоящего времени являются крайне неполными и часто противоречивыми. Неясными остаются механизмы формирования этих связей и их функциональное значение. Отсутствие подобных данных не позволяет сформировать целостное системное представление о процессах иммуногенеза в тимусе.

Исследование формирования телец Гассала, выяснение системных закономерностей их организации и функционирования представляет значительный как теоретический, так и практический интерес в иммунологии, онкологии, трансплантологии, геронтологии, клеточной инженерии и других отраслях знания. Таким образом, актуальность данного исследования обусловлена практической и теоретической востребованностью данных по системной организации телец Гассала.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь с крупными научными программами и темами. Тема диссертационной работы соответствует перечню приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь (постановление Совета Министров Республики Беларусь от 19.04.2010 г. № 585), п. 4 «Лечебные, диагностические, профилактические и реабилитационные технологии, клеточные и молекулярно-биологические технологии в медицине, аппараты и приборы медицинского назначения», п. 4.1 «Самоорганизация живых систем, закономерности течения патологических процессов, коррекция жизненно важных функций».

Диссертация выполнялась в рамках темы: «Структурная организация систем тканевых элементов и их корреляционных связей в онтогенезе человека и животных», № государственной регистрации 20090393, сроки выполнения: 2009–2013 гг.

Цель исследования: установить закономерности системной организации телец Гассала тимуса детей первого года жизни.

Задачи исследования:

1. Установить источники развития и этапы дифференцировки эпителиальных клеток телец Гассала.
2. Определить вспомогательные клетки, принимающие участие в морфогенезе телец Гассала.
3. Установить морфофункциональные особенности различных стадий развития телец Гассала.
4. Выявить системные структурно-функциональные связи между эпителиальными и вспомогательными клетками, их динамику на различных стадиях развития телец.

Объект и предмет исследования. Объектом исследования явились фрагменты тимусов 30 детей первого года жизни, полученные при кардиохирургических вмешательствах с вынужденной частичной резекцией тимуса по хирургическим показаниям. Предметом исследования являются структурные элементы телец Гассалья тимуса, их взаимосвязь между собой и с другими компонентами мозгового вещества.

Положения, выносимые на защиту:

1. В состав телец Гассалья входят два типа эпителиальных и семь типов вспомогательных клеток, которые отличаются по ряду качественных и количественных признаков на разных стадиях развития телец. Развитие, функционирование и разрушение телец Гассалья определяются тесным взаимодействием эпителиальных и вспомогательных клеток.

2. Основными клетками, формирующими тельца Гассалья, являются эпителиальные клетки двух типов, которые отличаются друг от друга происхождением, строением и функциями. Клетки I типа представляют собой субпопуляцию эпителиоцитов телец Гассалья, развивающихся из эпителиальных K14–K8+ клеток мозгового вещества. Они характеризуются округлой формой, накапливают аутоантигены и погибают путем аутофагии. Клетки II типа представлены субпопуляцией эпителиоцитов телец Гассалья, развивающихся из эпителиальных K14+K8– клеток мозгового вещества. Они характеризуются уплощенной формой, накапливают высокомолекулярные цитокератины и погибают в результате терминальной дифференцировки.

3. Вспомогательные клетки в тельцах Гассалья представлены дендритными клетками различной степени зрелости, макрофагами, эозинофилами, миоидными клетками, тимоцитами, В-лимфоцитами, нейроэндокринными клетками. Они активно взаимодействуют как между собой, так и с эпителиальными клетками телец. При этом каждая субпопуляция вспомогательных клеток имеет специфический способ взаимодействия с тельцами.

4. В основе системной организации телец Гассалья лежит тесное взаимодействие всех элементов тельца, каждый из которых вносит свой вклад в поддержание структуры телец и осуществление их функций. Системообразующим фактором организации телец Гассалья является процесс синтеза, мобилизации и передачи тканеспецифических аутоантигенов для формирования иммунной толерантности.

Личный вклад соискателя. Автором диссертации самостоятельно проведены основные этапы исследования. Взятие материала проводилось в Республиканском детском кардиохирургическом центре РНПЦ «Кардиология». Гистологические, гистохимические, морфометрические методы исследования выполнены лично автором на кафедре гистологии,

цитологии и эмбриологии УО «Белорусский государственный медицинский университет», иммуногистохимическое исследование проводилось в ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» (Санкт-Петербург), электронно-микроскопическое исследование выполнено лично автором на базе ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси».

Получение первичных данных и их обработка осуществлены лично соискателем. Автором самостоятельно проведен анализ литературных данных по изучаемой проблеме, выполнены описание микропрепаратов, статистическая обработка полученных результатов, написаны все главы диссертации. Выводы, положения, выносимые на защиту, и практические рекомендации обсуждены и сформулированы совместно с научным руководителем. Полученные результаты внедрены в клинический, учебный и научно-исследовательский процесс.

Апробация результатов диссертации. Результаты проведенных исследований, составляющих предмет диссертации, были представлены для обсуждения на: конференции студентов и молодых ученых УО «Белорусский государственный медицинский университет» «Актуальные проблемы современной медицины» (Минск, 2006); межрегиональной научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежь и наука: итоги и перспективы» (Саратов, 2006), международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию Белорусского государственного медицинского университета (Минск, 2006); научных сессиях УО «Белорусский государственный медицинский университет» в 2010 и 2011 годах; научно-практической конференции с международным участием «Современные аспекты фундаментальной и прикладной морфологии», посвященной 110-летию академика НАН Беларуси Д.М. Голуба (Минск, 2011); международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию Белорусского государственного медицинского университета (Минск, 2011); II международной научно-практической молодежной конференции «Научные стремления – 2011» (Минск, 2011).

Опубликованность результатов. По теме диссертации опубликовано 19 научных работ, в которых изложены основные положения выполненного исследования. Из них: 6 статей в рецензируемых научных журналах, включенных в перечень изданий ВАК общим объемом 2,1 авторских листа; 6 статей в рецензируемых сборниках научных трудов; 7 тезисов докладов в материалах научных конференций и съездов, включая 1 тезисы в зарубежном издании. 9 работ опубликовано лично автором, 10 – в соавторстве. Вклад автора в совместных публикациях составляет 85%. Общий объем опубликованных результатов составил 3,9 авторских листа.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации подчинена целям и задачам исследования. Диссертация изложена на 143 страницах машинописного текста и состоит из введения, общей характеристики работы, пяти глав, заключения, библиографического списка, включающего 224 источников, из них 45 отечественных и 179 иностранных, приложений. В работе содержится 6 таблиц, 29 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В соответствии с поставленной целью и задачами исследования в работе использовались гистологический, гистохимический, иммуногистохимический, электронно-микроскопический, морфометрический, статистический методы и метод системного анализа.

В исследовании использовали фрагменты тимусов детей первого года жизни, удаленных в Республиканском детском кардиохирургическом центре РНПЦ «Кардиология» при вмешательствах по поводу минимальных сердечно-сосудистых пороков, в анамнезе которых отсутствовали инфекционные заболевания, иммунодефицитные состояния, прием стероидных гормонов, иммунодепрессантов. Забирались части тимусов, удаленные только по хирургическим показаниям, с учетом существующих этических и юридических норм. После изучения обзорных микропрепаратов тимуса для дальнейшего исследования были отобраны фрагменты 30 тимусов с нормальным строением.

Для гистологического и иммуногистохимического исследований образцы тимуса готовили стандартным способом. Каждый случай исследовался с применением 9 гистологических (810 срезов) и 3 гистохимических (180 срезов) методик: окраска гематоксилином-эозином, в том числе и с модификациями для лучшего выявления отложений кальция и обнаружения эозинофилов; окраска по Романовскому–Гимзе; окраска резорцин-фуксином по Вейгарду, фосфорнокислым молибденовым и фосфорнокислым вольфрамным гематоксилином, методом Пачини, ШИК-реакция, окраска альциановым синим, окраска по Эйнарсону. Кроме того, нами была предложена и внедрена новая методика комбинированной окраски гематоксилином-альциановым синим-фуксином для идентификации отдельных компонентов телец Гассалья.

Для определения типа клеток и стадии их дифференцировки использовали метод иммуногистохимического исследования. С этой целью было отобрано 6 случаев, каждый из которых изучался с использованием панели антител (28 антител, 168 срезов).

Для изучения эпителиальных клеток исследовали их цитокератиновый спектр, включающий 8 антител к следующим молекулам: цитокератины 4, 7, 8, 10, 14, К-multi (смесь антител к различным цитокератинам), К НМВ (смесь антител к высокомолекулярным цитокератинам). Для характеристики вспомогательных клеток телец использовали антитела к виментину (белок промежуточных филаментов клеток мезенхимального происхождения). Для исследования дендритных клеток использовали маркеры S100 (общий маркер всех дендритных клеток тимуса), CD1a (маркер созревающих дендритных клеток). Для выявления миоидных клеток использовали антитела к десмину, плазмоцитов – к иммуноглобулину G, В-лимфоцитов – к CD20, гладкомышечных клеток – к гладкомышечному миозину, макрофагов – к CD68. Для исследования тимоцитов и их отдельных субпопуляций использовали антитела к CD3 (общий маркер тимоцитов), CD25 (Т-регуляторы), CD30 (преапоптотические тимоциты). Для изучения взаимосвязи сосудов тимуса и телец Гассалья использовали антитела к эндотелиальным маркерам CD31, CD34 и к компоненту базальной мембраны коллагену 4 типа. Изучение экспрессии аутоантигенов проводили на примере СЕА (карциоэмбрионического антигена).

Для электронно-микроскопического исследования отобрано 6 случаев. Препараты готовили стандартным способом, срезы готовили на ультратоме марки ЛКБ (Швеция), контрастировали цитратом свинца и просматривали на электронном микроскопе JEM 100СХ. Всего изучено 150 срезов.

Для изучения количественных параметров телец Гассалья применен морфометрический метод исследования. Морфометрия проводилась либо в поле зрения микроскопа Zeiss Axiolab с окулярной сеткой, либо на цифровом изображении препаратов, полученных с помощью камеры UMD-300. Измерения линейных величин и расчеты площадей проводились программой Image Tool. Всего изучено 200 срезов. В каждом рассматривали 10 случайных полей зрения при увеличении $\times 40$, в которых измеряли все тельца Гассалья. Всего было исследовано 2720 телец. В тельцах разных стадий развития подсчитывали число клеточных ядер, что считали соответствующим числом клеток в срезе тельца. В 5 случайных участках тельца измеряли толщину стенки и диаметр сечения тельца. Рассчитывали среднюю толщину стенки, средний диаметр и площадь сечения тельца. Кроме этих показателей, вычисляли плотность иммуногистохимически положительных клеток и удельную долю СЕА-положительных структур.

Статистический анализ полученных данных проводился с использованием программы STATISTICA (Version 6, Statsoft Inc.) для операционной среды Windows. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее, m – стандартная ошибка среднего. Проверка нормальности

распределения полученных данных проводилась при помощи критерия Шапиро–Уилка. При сравнении двух зависимых групп по количественному признаку, имеющему распределение, отличное от нормального, пользовались методом Колмогорова–Смирнова. Различие расценивалось как статистически значимое при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования

Эпителиальные клетки телец Гассалья тимуса. Литературные данные и собственные исследования показывают, что эпителиальные клетки телец Гассалья представляют собой гетерогенную популяцию, различаясь по морфологии, цитокератиновому спектру, накоплению определенных веществ и ряду других признаков. Тщательный комплексный анализ собственных результатов привел нас к заключению, что гетерогенность эпителиоцитов является проявлением присутствия в мозговом веществе тимуса как нескольких отдельных субпопуляций эпителиальных клеток, так и различных этапов их дифференцировки. В составе телец Гассалья мы выделили 2 группы эпителиоцитов, которые отличаются по многим характеристикам, в том числе экспрессией цитокератинов 8 и 14. Клетки телец Гассалья, происходящие из K14–K8+ субпопуляции эпителиоцитов мы условно назвали клетками I типа, а из K14+K8– субпопуляции – клетками II типа. Клетки каждого типа проходят четыре стадии дифференцировки в составе телец Гассалья.

К специфическим морфологическим признакам клеток I типа относятся: округлая форма клеток, эухроматиновое ядро с глубокими спиралевидными инвагинациями кариолеммы, концентрически организованные в виде пояска вокруг ядра кератиновые тонофиламенты, наличие аутофагосом, накопление кислых мукополисахаридов.

На первой стадии дифференцировки клетки I типа располагаются в периферическом слое телец. По сравнению с K8-положительными клетками мозгового вещества их размеры больше, в них обнаруживается накопление тонофиламентов с образованием своеобразного пояска вокруг ядра. Ядра клеток округлой или овальной формы, с выраженным преобладанием эухроматина. При электронно-микроскопическом исследовании в цитоплазме выявляется большое количество органелл синтетического аппарата.

На второй стадии дифференцировки клетки I типа сдвигаются вглубь тельца, при этом ослабевает реактивность к цитокератину 8 и усиливается реактивность к маркерам терминальной дифференцировки (цитокератинам 4 и 10). Также начинают постепенно нарастать дегенеративные процессы, затрагивающие ядра клеток и их цитоплазму. Так, при электронно-

микроскопическом исследовании обнаруживается, что в ядрах образуются инвагинации кариолеммы, которые делят их на несколько лопастей (сегментов). Дегенеративные процессы в цитоплазме на этой стадии характеризуются образованием аутофагосом с еще не замкнутыми дубликатами мембран (т. н. ранние аутофагосомы), что отражает процесс их активного формирования.

На третьей стадии дифференцировки отмечается разрушение ядра клетки. Так, ядра приобретают вид спирально-сегментированных, после чего распадаются на множество мелких фрагментов неправильной формы без конденсации хроматина. В цитоплазме отмечается интенсивное накопление кислых мукополисахаридов.

На четвертой стадии дифференцировки наблюдается разрушение (лизис) клетки I типа с выделением (экструзией) ее содержимого в полость тельца. Разрушение клеток I типа нами впервые определено как аутофагическая гибель на основании следующих критериев: обнаружение аутофагосом, отсутствие конденсации хроматина в ядре и его фрагментах и разрушение клетки лизисом. Часть содержимого разрушенных клеток принимает участие в формировании кератинового ядра тельца. Другая часть остается в полости тельца в растворенном виде.

Иммуногистохимическое исследование показало, что экспрессия аутоантигена СЕА наблюдается практически во всех тельцах Гассалья. Сравнение клеток I типа и СЕА-положительных клеток демонстрирует сходство их морфологии и морфогенеза, что говорит о том, что антигены синтезируются в эпителиальных клетках I типа. При разрушении СЕА-положительных клеток в полость тельца попадает их содержимое в растворимом виде, что подтверждается иммуногистохимическими исследованиями с СЕА и К4. Мы предполагаем, что процесс аутофагии в клетках I типа служит способом накопления аутоантигенов в полости тельца для последующей антигенпрезентации тимоцитам.

При исследовании особенностей экспрессии СЕА в тельцах различных стадий развития мы установили, что удельная площадь СЕА-положительных клеток в тельцах прогрессивного типа составляет $0,416 \pm 0,08$, в тельцах зрелого типа $0,32 \pm 0,08$ (различие недостоверно, $p > 0,05$), в тельцах регрессивного типа $0,1162 \pm 0,06$ (различие с обоими типами телец достоверно, $p < 0,05$). Удельная площадь СЕА-положительного содержимого в полости зрелых телец составляет $0,074 \pm 0,02$, а в полости регрессивных телец $0,816 \pm 0,11$ (различие достоверно, $p < 0,05$). Таким образом, при старении телец происходит уменьшение удельной площади СЕА-положительных клеток в стенке тельца и увеличение СЕА-положительной субстанции в полости тельца.

К специфическим морфологическим признакам клеток II типа относятся: уплощенная форма клеток, вытянутое ядро с небольшими глыбками гетерохроматина возле кариолеммы, наличие гранул кератогиалина в цитоплазме клеток, расположение кератиновых филаментов параллельно длинной оси клетки и вытянутому ядру, интенсивное накопление высокомолекулярных цитокератинов. Клетки II типа плотно связаны друг с другом и с эпителиоцитами мозгового вещества десмосомами, они не накапливают аутоантигены, и в их цитоплазме отсутствуют аутофагосомы.

На первой стадии дифференцировки клетки II типа характеризуются вытянутой формой, их отростки распластываются по наружным клеткам тельца Гассалья и проявляют реактивность к K14. При электронно-микроскопическом исследовании этих клеток отмечено небольшое количество органелл и включений, в том числе гранул кератогиалина. Умеренно развиты тонофиламенты, которые ориентированы параллельно друг другу вдоль длинной оси клеток.

На второй стадии дифференцировки при смещении клеток II типа вглубь тельца их ядра уплощаются, количество гетерохроматина в них увеличивается. Изменяется цитокератиновый спектр клеток: прекращается синтез цитокератина 14 и начинается синтез цитокератина 10.

На третьем этапе дифференцировки клетки II типа перемещаются во внутреннюю слой тельца. В клетках редуцируются органеллы синтетического аппарата, большую часть их цитоплазмы занимают продольно ориентированные тонофиламенты. Наблюдается разрушение ядра на множество мелких гиперхромных фрагментов.

На четвертом этапе дифференцировки происходит десквамация клеток II типа из внутреннего слоя стенки тельца в его полость. Гибель эпителиоцитов II типа в результате терминальной дифференцировки происходит аналогично дифференцировке кератиноцитов в эпидермисе. На этой стадии клетки II типа представляют собой постклеточные структуры (кератиновые пластины), которые вместе с содержимым клеток I типа участвуют в формировании кератинового ядра.

По данным электронно-микроскопического исследования кератиновое ядро тельца имеет упорядоченную структуру: состоит из чередующихся, прилежащих друг к другу, концентрически расположенных темных и светлых кератиновых пластин, разделенных слоями темного детрита. Анализ полученных данных показал, что темные кератиновые пластины и темный детрит являются продуктами лизиса клеток I типа, а светлые кератиновые пластины представляют собой аналоги роговых чешуек эпидермиса, имеющие происхождение из клеток II типа.

Вспомогательные клетки телец Гассалья. Вспомогательные клетки телец Гассалья представляют собой совокупность клеток, имеющих различное происхождение, строение и функции, но структурно и функционально связанных с тельцами Гассалья. Эта связь является важной характеристикой системной организации телец. Следует отметить, что качественный и количественный состав вспомогательных клеток изменяется в зависимости от стадии развития телец. Нами впервые был установлен состав вспомогательных клеток телец Гассалья: незрелые и созревающие дендритные клетки, интрамедуллярные В-лимфоциты, миелоидные клетки, эозинофилы, макрофаги, многоядерные гигантские клетки и нейроэндокринные клетки. Мы обнаружили, что другие клетки мозгового вещества: нейтрофилы, базофилы, плазмциты, эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки – не принимают участия в формировании телец и не взаимодействуют с ними.

Для изучения дендритных клеток использовались общий маркер S-100 и маркер созревающих CD1a дендритных клеток. Нами установлено, что S100+ клетки сосредоточены в мозговом веществе тимуса, достигая высокой плотности расположения в наружном мозговом веществе, где она составляет $411,8 \pm 56,7$ клеток на кв. мм. Клетки в данной зоне имеют в основном морфологию зрелых дендритных клеток: большое количество мелких разветвленных отростков, проникающих между тимоцитами, и ядро неправильной формы. Клетки контактируют друг с другом, образуя своеобразную сеть. Во внутреннем мозговом веществе плотность S-100+ клеток значительно меньше, чем в наружном и составляет $189,2 \pm 41,6$ клеток на кв. мм ($p < 0,05$).

S-100+ клетки телец Гассалья представлены двумя морфологическими разновидностями. Первая представлена округлыми клетками без отростков, которые локализуются возле периферических слоев тельца и соответствуют незрелым формам. Вторая разновидность – уплощенными клетками с вытянутым ядром и отростками, которые распластываются по эпителиальным клеткам тельца и соответствуют созревающим формам дендритных клеток. Что касается зрелых дендритных клеток, в составе телец они обнаруживаются редко, следовательно, структурная связь зрелых дендритных клеток с тельцами Гассалья отсутствует. Плотность расположения S-100+ клеток, связанных с тельцами (возле телец и в составе стенки) достоверно выше, чем во внутреннем мозговом веществе. Так, в тельцах прогрессивного типа она составляет $355,6 \pm 50,2$ клеток на кв. мм, что достоверно больше плотности клеток во внутреннем мозговом веществе ($p < 0,05$). В тельцах зрелого типа она составляет $659,4 \pm 122,4$ клеток на кв. мм (различие с прогрессивным типом достоверно, $p < 0,05$), в тельцах

регрессивного типа – $385,8 \pm 43$ клеток на кв. мм (различие со зрелыми тельцами достоверно, $p < 0,05$, достоверного различия с прогрессивным типом не обнаружено).

Иммуногистохимическое исследование показало, что большинство CD1a+ клеток входят непосредственно в состав стенки телец Гассала. Они располагаются между эпителиальными клетками во всех слоях тельца, чаще во внутреннем слое и имеют уплощенную форму. Дендритные клетки подобного строения встречаются в тимусе только в тельцах Гассала. Они характеризуются гранулярным паттерном иммуногистохимической реакции с CD1a и присутствием гранул Бирбека на электронных микрофотографиях, что свидетельствует об активном захвате антигенов данными клетками.

Плотность расположения CD1a+ клеток в тельцах прогрессивного типа составляет $263,4 \pm 41,1$ клеток на кв. мм, в тельцах зрелого типа $399,2 \pm 32,7$ клеток на кв. мм ($p < 0,05$), в тельцах регрессивного типа $283 \pm 58,7$ клеток на кв. мм (различие с прогрессивным типом достоверно, $p < 0,05$, достоверного различия со зрелыми тельцами не обнаружено).

Наши данные свидетельствуют, что дендритные клетки телец Гассала демонстрируют высокую активность поглощения антигенов, поставляемых эпителиальными клетками I типа. Плотность расположения дендритных клеток увеличивается возле телец зрелой стадии развития и снижается по мере их старения. На основании полученных данных можно предположить, что тельца Гассала играют важную роль в дифференцировке и обучении дендритных клеток тимуса.

Исследование тимусных В-лимфоцитов (CD20+ клеток) продемонстрировало отчетливую тенденцию к их концентрации вокруг прогрессивных телец Гассала, причем по мере созревания и старения тельца наблюдается достоверное снижение плотности расположения В-лимфоцитов, ассоциированных с тельцем. В тельцах прогрессивного типа плотность CD20+ клеток, ассоциированных с тельцами и входящих в их состав, составляет $697,4 \pm 59$ клеток на кв. мм, в тельцах зрелого типа плотность клеток составляет $370 \pm 84,2$ клеток на кв. мм ($p < 0,05$). В тельцах регрессивного типа число В-лимфоцитов уменьшается, вплоть до полного их исчезновения и составляет $167,6 \pm 60$ клеток на кв. мм (различие с обоими типами телец достоверно, $p < 0,05$). Таким образом, по мере развития тельца наблюдается постепенное снижение плотности CD20+ клеток, ассоциированных с тельцами.

Иммуногистохимическое и электронно-микроскопическое исследования позволили установить, что макрофаги (CD68+ клетки), связанные с тельцами Гассала, имеют различную морфологию и выполняют разные функции. Вероятная роль макрофагов, расположенных возле периферического слоя

телец, заключается в фагоцитозе апоптотических тимоцитов, так как в их цитоплазме и на периферии телец всех стадий развития часто обнаруживаются апоптотические тельца.

Макрофаги, входящие в состав тельца, играют ключевую роль в разрушении его стенки. Это подтверждается тем, что CD68+ клетки выявляются только в полости стареющих телец, имеют более крупные размеры и большее количество CD68+гранул, чем макрофаги мозгового вещества, что свидетельствует об их высокой функциональной активности. По мере разрушения тельца количество макрофагов в полости телец увеличивается. Макрофаги проникают между клетками стенки стареющих телец и разрушают их, что приводит к появлению в полости телец Гассалья клеточного детрита. В деструкции кератинового ядра эти клетки принимают незначительное участие.

Обнаружено, что эозинофилы принимают меньшее участие в разрушении стенки тельца, но играют ключевую роль в разрушении кератинового ядра телец Гассалья. Нами выявлена зависимость между стадией развития тельца Гассалья и локализацией эозинофилов: они отсутствуют вокруг юных телец, локализуются возле молодых телец, затем мигрируют в полость зрелых телец Гассалья. Находящиеся там эозинофилы активно дегранулируют, выделяя литические ферменты, что подтверждается внеклеточной локализацией миелопероксидазы. Подобный феномен в других отделах тимуса не обнаружен.

При иммуногистохимическом исследовании установлено, что миоидные клетки входят в состав стенки тельца. Они плотно связаны с эпителиоцитами, по мере созревания тельца изменяют свою форму от овальной до уплощенной и, вероятно, участвуют в сокращении телец.

В результате исследования нами обнаружена экспрессия в тельцах Гассалья следующих нейроэндокринных маркеров: синаптофизин, нейронспецифическая енолаза, глиальный фибриллярный кислый белок и хромогранин А. При анализе их топографии и морфологии выявлено, что только положительные к первым двум маркерам клетки связаны с тельцами Гассалья, характеризуются округлой формой и тенденцией к образованию кластеров. Положительные к двум последним маркерам клетки равномерно распределены в мозговом веществе тимуса, имеют отростчатую форму и не образуют кластеров.

Установлено, что тимоциты (CD3, CD25, CD30) принимают незначительное участие в морфогенезе телец Гассалья, редко встречаются между эпителиальными клетками и в полости телец, но активно взаимодействуют с периферическими эпителиоцитами телец. Ультраструктурные данные

свидетельствуют о высоком уровне апоптоза тимоцитов возле телец Гассалья и поглощении апоптотических телец макрофагами.

Стадии развития телец Гассалья. На основании полученных результатов и данных литературы мы выделили три стадии развития телец: прогрессивные, зрелые и регрессивные тельца. Нами впервые подробно описаны морфологические критерии для каждой стадии (таблица 1), которые позволяют уверенно определять тельца Гассалья при использовании любой окраски. Мы впервые показали, что возникновение тельца начинается с дифференцировки клетки I типа, расположенной возле посткапиллярной вены в мозговом веществе тимуса. В дальнейшем, тельце сохраняет контакт с сосудом посредством каналов-проводников. Они представляют собой тяжи эпителиальных клеток, расположенных на базальной мембране, которые связывают полость телец Гассалья с кровеносными сосудами и способны к переносу ряда веществ в обоих направлениях. Нами впервые было также показано, что между клетками всех слоев зрелого тельца существует система анастомозирующих каналов с обращенными в их полость микроворсинками. Поэтому стенка тельца является потенциально проницаемой для обменных и транспортных процессов.

Таблица 1 – Морфологические критерии классификации телец Гассалья

Стадия развития тельца	Тип тельца	Морфологический критерий
Прогрессивные тельца Гассалья	Одноклеточные	Гипертрофированная эпителиальная клетка
	Юные	Группа клеток вокруг гипертрофированной центральной
	Молодые	Разрушение центральной эпителиальной клетки с образованием полости
Зрелые тельца Гассалья	Формирующееся кератиновое ядро	Наличие в полости 1–2 кератиновых пластин
	Сформированное кератиновое ядро	Концентрически организованные кератиновые пластины в полости тельца
	Разрушающееся кератиновое ядро	Кератиновые пластины занимают более половины полости тельца
Регрессивные тельца Гассалья	Первая стадия разрушения	Кератиновые пластины занимают менее половины полости тельца
	Вторая стадия разрушения	Клеточный детрит в полости тельца или его отсутствие
	Третья стадия разрушения	Разрыв стенки тельца

Итак, наиболее ранней стадией развития тельца мы считаем одноклеточное тельце – крупную округлую клетку I типа, в которой начался синтез маркеров дифференцировки (высокомолекулярных кератинов 4 и 10). Вокруг этой центральной клетки начинается наложение других

эпителиоцитов I и II типов и вспомогательных клеток; так образуется юное тельце. Следующий этап развития тельца – это разрушение центральной клетки и появление полости на ее месте (молодое тельце). Эти три типа телец мы относим к прогрессивным тельцам – тельцам небольшого размера без кератинового ядра.

Зрелое тельце – это тельце с кератиновым ядром. В зависимости от его морфологии можно выделить зрелое тельце с формирующимся кератиновым ядром, со сформированным кератиновым ядром, с разрушающимся кератиновым ядром.

Полученные нами данные позволили детализировать процесс разрушения телец Гассалья (регрессивное тельце) и выделить отдельные его стадии. Этот процесс начинается с миграции эозинофилов внутрь тельца, которые разрушают кератиновое ядро, затем происходит деструкция стенки макрофагами, после чего наблюдается разрыв стенки тельца без выхода детрита в мозговое вещество тимуса.

Анализ полученных данных и сопоставление их с данными литературы показали, что полость тельца Гассалья представляет собой своеобразный «антигенный котел», в который попадают синтезированные тканеспецифические антигены из разрушающихся клеток I типа. Аутоантигены могут попадать в полость телец и посредством каналов-проводников. Сократительная активность миоидных клеток телец Гассалья может регулировать выведение содержимого из полости телец в кровеносные сосуды или попадание антигенов внутрь полости тельца через эти каналы-проводники. Вокруг данного «котла» сконцентрированы дендритные клетки, поглощающие антигены из его полости. Антигены накапливаются эпителиоцитами I типа, но эти клетки характеризуются слабой способностью к антигенпрезентации. А дендритные клетки не способны к синтезу тканеспецифических антигенов, но являются эффективными антиген-презентирующими клетками. Эпителиальные клетки II типа не накапливают антигены, функционально менее активны, и, вероятно, выполняют опорную и поддерживающую функции.

Следовательно, тельца Гассалья обладают ключевыми признаками системы, такими как целостность и эмергентность, что проявляется в возникновении нового свойства – способности дендритных клеток к презентации тимоцитам полного антигенного спектра организма. Это достигается тесным взаимодействием эпителиальных и вспомогательных клеток, каждая субпопуляция которых вносит свой вклад в формирование и поддержание иммунной толерантности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. В состав телец Гассалья входит два типа эпителиальных и семь типов вспомогательных клеток, которые на разных стадиях развития телец отличаются по ряду качественных и количественных признаков. Вспомогательные клетки активно взаимодействуют как между собой, так и с эпителиальными клетками обоих типов, влияя на развитие, функционирование и разрушение телец Гассалья. На основании полученных данных о развитии телец, нами предложен вариант их классификации, в основе которого лежат морфологические критерии и который отражает функциональные характеристики отдельных стадий развития телец [1, 5, 11, 13].

2. Впервые показано, что основными клетками, формирующими тельца Гассалья, являются эпителиальные клетки мозгового вещества тимуса двух типов, которые отличаются друг от друга происхождением, строением и функциями. Эпителиальные клетки I типа представляют собой субпопуляцию эпителиоцитов телец Гассалья, развивающихся из эпителиальных K14–K8+ клеток мозгового вещества. Они характеризуются округлой формой, синтезируют аутоантигены и подвергаются аутофагической гибели. Клетки II типа представлены субпопуляцией эпителиоцитов телец Гассалья, развивающихся из эпителиальных K14+K8–клеток мозгового вещества. Они характеризуются уплощенной формой, накапливают высокомолекулярные цитокератины и погибают в результате терминальной дифференцировки [1, 5, 8, 9].

3. Состав и количество вспомогательных клеток телец Гассалья зависит от стадии развития тельца и включает дендритные клетки различной степени зрелости, макрофаги, эозинофилы, миоидные клетки, тимоциты, В-лимфоциты, некоторые нейроэндокринные клетки (синаптофизин- и нейронспецифическая енолаза – положительные). Взаимодействия телец с нейтрофилами, базофилами, гладкомышечными и эндотелиальными клетками обнаружено не было [3, 4, 7, 12, 10, 18, 19].

4. Тельца Гассалья играют важную роль в созревании дендритных клеток тимуса. Дендритные клетки, сконцентрированные возле телец, представляют собой преимущественно созревающие клетки. В их цитоплазме обнаружены ультрамикроскопические признаки захвата антигенов, что свидетельствует об их высокой антиген-поглощающей активности. Источником антигенов являются эпителиальные клетки I типа, при разрушении которых в полость тельца попадают аутоантигены [7, 9, 18].

5. В-лимфоциты присутствуют около телец Гассалья на всех стадиях развития, их плотность уменьшается по мере старения тельца. Миоидные

клетки встречаются в стенке зрелых телец и тесно связаны с эпителиальными клетками. Тимоциты присутствуют возле телец Гассалья всех стадий и взаимодействуют с эпителиальными клетками их стенки. В полости стареющих телец выявляются эозинофилы, которые разрушают кератиновое ядро, и макрофаги, разрушающие стенку тельца [3, 4, 10, 17, 19].

6. Впервые показано, что в основе системной организации телец Гассалья лежит тесное взаимодействие всех элементов тельца, каждый из которых вносит свой вклад в поддержание структуры телец и осуществление их функций. Системообразующим фактором структурной организации телец Гассалья является процесс синтеза, мобилизации и передачи дендритным клеткам тканеспецифических аутоантигенов для презентации тимоцитам с целью формирования иммунной толерантности. Обнаружен ряд особенностей строения телец, облегчающих транспорт антигенов: система межклеточных каналов стенки тельца с обращенными в их полость микроворсинками и каналы-проводники, соединяющие просвет сосудов и полость телец Гассалья [5, 9, 13, 14, 15, 16].

Рекомендации по практическому использованию результатов:

1. Полученные данные могут быть использованы в клинической практике врачей-патологоанатомов для унификации подхода к описанию морфологии мозгового вещества тимуса детей первого года жизни, что позволит улучшить дифференциальную диагностику иммунодефицитов и оценку иммунной функции. Также результаты исследования имеют практический интерес для врачей-иммунологов, онкологов, педиатров, врачей-геронтологов и судебно-медицинских экспертов. Результаты исследования внедрены в практическую деятельность отделения детской патологии УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро» г. Минска.

2. Результаты исследования могут применяться в клеточной терапии и биотехнологии для генерации тимуса *in vitro* и для получения как дендритных клеток, так и Т-лимфоцитов. Рекомендуется использовать полученные данные для выявления точек воздействия и мишеней для терапевтических вмешательств при онкологических и аутоиммунных заболеваниях, а также в трансплантологии при разработке подходов для формирования толерантности к трансплантату без подавления общего иммунитета.

3. Материалы исследования рекомендуется использовать в учебном процессе медицинских вузов и факультетов последипломного образования при изучении строения и функций тимуса на кафедрах гистологии, цитологии, эмбриологии; микробиологии, вирусологии и иммунологии, анатомии и онкологии.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

Статьи в рецензируемых журналах

1. Беловешкин, А.Г. Морфология постклеточных структур телец Гассалья тимуса человека в норме / А.Г. Беловешкин, Т.М. Студеникина // Медицинский журнал. – 2010. – № 4. – С. 26–28.
2. Беловешкин, А.Г. Этапы разрушения телец Гассалья тимуса человека / А.Г. Беловешкин, Т.М. Студеникина // Медицинский журнал. – 2011. – № 1. – С. 25–26.
3. Беловешкин, А.Г. Участие миоидных клеток в морфогенезе телец Гассалья тимуса человека. / А.Г. Беловешкин, Т.М. Студеникина // Медицинский журнал. – 2011. – № 1. – С. 22–24.
4. Беловешкин, А.Г. Участие эозинофилов в морфогенезе телец Гассалья / А.Г. Беловешкин, Т.М. Студеникина // Известия Национальной академии наук Беларуси. – 2011. – № 2. – С. 93–97.
5. Беловешкин, А.Г. Морфогенез эпителиальных клеток телец Гассалья тимуса человека / А.Г. Беловешкин // Медицинский журнал. – 2012. – № 2. – С. 19–22.
6. Беловешкин, А.Г. Морфофункциональные аспекты взаимодействия кровеносных сосудов и телец Гассалья тимуса человека / А.Г. Беловешкин, Т.М. Студеникина // Известия Национальной академии наук Беларуси. – 2012. – № 3. – С. 86–92.

Статьи в рецензируемых сборниках научных трудов

7. Беловешкин, А.Г. Тельца Гассалья и формирование кондуитов мозгового вещества тимуса человека / А.Г. Беловешкин // Сборник материалов II Международной научно-практической молодежной конференции «Научные стремления – 2011». В 2 т. – Минск: Белорусская наука, 2011. – Т. 1. – С. 305–308.
8. Беловешкин, А.Г. Ультраструктура кератинового ядра телец Гассалья тимуса человека / А.Г. Беловешкин // Сборник научных работ «Труды молодых ученых». – Минск: БГМУ, 2011. – С. 9–13.
9. Беловешкин, А. Г. Ультраструктурная характеристика процессов аутофагии в эпителиальных клетках мозгового вещества и телец Гассалья тимуса человека / А.Г. Беловешкин // Молодой ученый. – 2012. – № 7. – С. 338–340.
10. Беловешкин, А. Г. Роль телец Гассалья тимуса человека в позитивной и негативной селекции тимоцитов / А.Г. Беловешкин // Молодой ученый. – 2012. – № 7. – С. 334–338.

11. Беловешкин, А. Г. К вопросу о классификации телец Гассалья тимуса человека / А.Г. Беловешкин // Молодой ученый. – 2013. – № 4. – С. 631–634.

12. Беловешкин, А. Г. Субпопуляции нейроэндокринных клеток мозгового вещества тимуса человека / А.Г. Беловешкин, И.А. Стельмах, Т.М. Студеникина // Молодой ученый. – 2013. – № 4. – С. 627–631.

Тезисы докладов в материалах конференций

13. Беловешкин, А.Г. Комплекс тимического тельца / А.Г. Беловешкин // Материалы межрегиональной научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежь и наука: итоги и перспективы». – Саратов, 2006. – С. 57–58.

14. Беловешкин, А. Г. Современные представления о тельцах Гассалья тимуса / А.Г. Беловешкин // Актуальные проблемы современной медицины – 2006. – Минск, 2006. – С. 34–37.

15. Беловешкин, А.Г. Структурно-функциональная характеристика комплекса тимических телец Гассалья / А.Г. Беловешкин // Сборник трудов Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию Белорусского государственного медицинского университета. – Минск, 2006. – С. 145–146.

16. Beloveshkin, A. Localization of S-100 and CD1a positive dendritic cells in the human thymus / A. Beloveshkin, M. Luhautsou, A. Platonau // Int. J. Stud. Res. – 2011. – Vol. 2, N 1. – P. 191–192.

17. Беловешкин, А. Г. Субпопуляции тимических В-лимфоцитов и тельца Гассалья тимуса человека / А.Г. Беловешкин, И.А. Стельмах, Т.М. Студеникина // Современные аспекты фундаментальной и прикладной морфологии: сборник трудов конференции, посвященной 110-летию со дня рождения академика Д.М. Голуба. – 2011. – Т. 1. – С. 37–40.

18. Беловешкин, А. Г. Топография S-100 положительных дендритных клеток, ассоциированных с тельцами Гассалья в тимусе человека / А.Г. Беловешкин, Т.М. Студеникина // БГМУ: 90 лет в авангарде медицинской науки и практики: сборник научных трудов. – Минск: РНМБ, 2012. – Т. 1. – С. 89–90.

19. Беловешкин, А. Г. Участие макрофагов в процессе разрушения телец Гассалья тимуса человека / А.Г. Беловешкин, И.А. Стельмах // БГМУ: 90 лет в авангарде медицинской науки и практики: сборник научных трудов. – Минск: РНМБ, 2012. – Т. 1. – С. 88–89.

РЭЗЮМЭ

Белавешкін Андрэй Генадзевіч Сістэмная арганізацыя цялец Гасаля тымуса дзяцей першага года жыцця

Ключавыя словы: тымус, цельцы Гасаля, эпiтэліяльныя клеткі, імунная талерантнасць.

Аб’ект даследавання: тымус.

Мэта работы: устанавіць заканамернасці сістэмнай арганізацыі цялец Гасаля тымуса дзяцей першага года жыцця.

Метады даследавання: гісталагічны, гістахімічны, імунагістахімічны, марфаметрычны, электронна-мікраскапічны, сістэмнага аналізу, статыстычны.

Выкарыстаная апаратура: лічбавая камера UMD-300 («Gsmserver», Тайвань), мікраскоп Zeiss Axiolab («Carl Zeiss AG», Германія), ультратом маркі ЛКБ (Швецыя), электронны мікраскоп JEM 100CX (Японія).

Атрыманыя вынікі і іх навізна: упершыню ў айчыннай і замежнай практыцы праведзена комплекснае даследаванне цялец Гасаля тымуса дзяцей першага года жыцця. Даказана, што асноўнымі клеткамі, якія фарміруюць цельцы Гасаля, з’яўляюцца эпiтэліяльныя клеткі двух тыпаў, якія адрозніваюцца адзін ад аднаго паходжаннем, будовай і функцыямі. Устаноўлена, што склад і колькасць дапаможных клетак у цельцах Гасаля залежаць ад стадыі яго развіцця. Упершыню паказана, што сістэмаўтваральным фактарам арганізацыі цялец Гасаля з’яўляецца працэс сінтэзу, мабілізацыі і перадачы тканкаспецыфічных аўтаантыгенаў для фарміравання імуннай талерантнасці.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: атрыманыя новыя даныя аб арганізацыі цялец Гасаля могуць быць выкарыстаны ў навучальным працэсе медыцынскіх ВНУ пры вывучэнні будовы і функцыі тымуса на кафедрах гісталагіі, цыталогіі і эмбрыялогіі, анкалогіі. Атрыманыя даныя могуць таксама выкарыстоўвацца ў клетачнай тэрапіі і біятэхналогіі.

Вобласць прымянення: гісталагія, цыталогія і эмбрыялогія, нармальнае і паталагічнае фізіялогія, анкалогія, імуналогія, педыятрыя, нармальнае і паталагічнае анатомія, судовая медыцына.

РЕЗЮМЕ

Беловешкин Андрей Геннадьевич Системная организация телец Гассалья тимуса детей первого года жизни

Ключевые слова: тимус, тельца Гассалья, эпителиальные клетки, иммунная толерантность.

Объект исследования: тимус.

Цель работы: установить закономерности особенности системной организации телец Гассалья тимуса детей первого года жизни.

Методы исследования: гистологический, гистохимической, иммуногистохимический, морфометрический, электронно-микроскопический, системного анализа, статистический.

Использованная аппаратура: цифровая камера UMD-300 («Gsmserver», Тайвань), микроскоп Zeiss Axiolab («Carl Zeiss AG», Германия), ультратом марки ЛКБ (Швеция), электронный микроскоп JEM 100CX (Япония).

Полученные результаты и их новизна: впервые в отечественной и зарубежной практике проведено комплексное исследование телец Гассалья тимуса детей первого года жизни. Установлено, что основными клетками, формирующими тельца Гассалья, являются эпителиальные клетки двух типов, которые отличаются друг от друга происхождением, строением и функциями. Обнаружено, что состав и количество вспомогательных клеток в тельцах Гассалья зависит от стадии развития тельца. Впервые показано, что системообразующим фактором организации телец Гассалья является процесс синтеза, мобилизации и передачи тканеспецифических аутоантигенов для формирования иммунной толерантности.

Рекомендации по использованию: полученные новые данные о системной организации телец Гассалья могут использоваться в учебном процессе медицинских ВУЗов при изучении строения и функций тимуса на кафедрах гистологии, цитологии и эмбриологии, онкологии. Результаты исследования могут также применяться в клеточной терапии и биотехнологии.

Область применения: гистология, цитология и эмбриология, нормальная и патологическая физиология, онкология, иммунология, педиатрия, нормальная и патологическая анатомия, судебная медицина.

Подписано в печать 25.06.13. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Снегурочка».
Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 1,16. Уч.-изд. л. 1,3. Тираж 60 экз. Заказ 408.

Издатель и полиграфическое исполнение:
учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».
ЛИ № 02330/0494330 от 16.03.2009.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.