© Н.П.Логинова, В.А.Четвертных, Н.В.Чемурзиева, 2016
УДК 611.438.018:616.12-007.2-053.1-053.2/.5

Н.П.Логинова, В.А.Четвертных, Н.В.Чемурзиева

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНЕЙ ТИМУСА У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

Кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии (зав. — проф. В.А.Четвертных), Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А.Вагнера

Исследовали биоптаты тимуса детей до 11 мес жизни (n=77) при врожденных пороках сердца с циркуляторной гипоксией разной степени выраженности. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином — эозином и по Шубичу для выявления тучных клеток. Иммуногистохимическим методом оценивали экспрессию Ki-67, CD3, CD34. Изучена ультраструктура тканей тимуса. Установлено, что степень выраженности гипоксии определяет морфологические изменения в органе, связанные с формированием комплекса значительных тканевых реакций. На ультратонких срезах выявлено нарушение внутренней структуры и целостности ретикулярных эпителиоцитов, а также тимоцитов. Индекс пролиферации (Ki-67) тимоцитов и интенсивность тимоцитопоэза (по $CD3^+$) снижены во всех зонах тимуса. Степень гипоксии влияла на перераспределение CD3-иммунопозитивных лимфоцитов с накоплением их в мозговом веществе. Имелись явления эндогенной регенерации с участием клеток фибробластического дифферона, прогениторных клеток ($CD34^+$) и активным формированием новых сосудов. Следовательно, отмеченные морфологические изменения в тканях тимуса служат проявлением тканевой адаптации к гипоксии разной степени выраженности в условиях эндогенной регенерации, одновременно отражая процессы заместительного цитогенеза.

Ключевые слова: *тимус, пролиферация, эндогенная регенерация, врожденные пороки сердца, гипоксия*

Тимус, как первичный орган иммунной системы, отвечает за развитие Т-лимфоцитов, создавая оптимальные условия для их антигеннезависимой дифференцировки и обеспечивая формирование рециркулирующего пула этих клеток.

Имеются данные, что действия многих стрессорных факторов (ишемия, гипоксия, вирусная и бактериальная инфекция) вызывают нарушения структуры тимуса и, как следствие, его функции, что может сказаться на состоянии иммунной системы в целом, и особенно отчетливо это проявляется в детском возрасте [9, 10].

Известно, что дети с врожденными пороками сердца (ВПС) часто подвержены различным заболеваниям в связи с имеющимся у них иммунным дисбалансом [11, 20]. Установлено, что степень иммуносупрессии сильнее у детей со сложными врожденными пороками в сочетании с нарушением гемодинамики и кислородного дефицита, тогда как у детей с сердечными пороками, не вызывающими тканевую гипоксию, эти изменения слабее выражены [3].

В литературе недостаточно данных об иммуноморфологическом статусе тимуса у детей с ВПС. Нет ясности о возможности или отсутствии адаптации тканей тимуса к действию различной тяжести гипоксии, вызванной эмбриональными нарушениями развития сердца. Изучение этих вопросов чрезвычайно важно для прогнозирования исходов тяжелых гемодинамических расстройств у детей первых лет жизни.

Цель настоящей работы — изучить гистологическое и иммуногистохимическое состояние тимуса у детей с ВПС различной степени тяжести в ранний период постнатального онтогенеза.

Материал и методы. Исследование проведено на биоптатах тимуса (n=77), полученных во время операций у детей в возрасте до 11 мес при коррекции ВПС. Тимэктомию проводили в соответствии с существующей хирургической практикой Федерального краевого центра сердечно-сосудистой хирургии г. Перми. Исследования проводили согласно Хельсинской Декларации ВМА 2000 г. и протоколу Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине 1999 г. при наличии добровольного согласия законных представителей несовершеннолетних детей на получение материала.

В патогенезе врожденных пороков сердца лежит механизм нарушения системной гемодинамики, зависящий от сложности сердечного порока и вызывающий цианоз слизистых оболочек и кожных покровов. По наличию цианоза были выделены 2 группы: 1-я группа — тимус (n=35) детей с белыми пороками сердца, без цианоза слизистых оболочек и кожных покровов (дефект межжелудочковой перегородки; дефект межпредсердной перегородки); 2-я группа — тимус

Сведения об авторах:

Логинова Наталья Павловна (e-mail: natalitsa@yandex.ru), *Четвертных Виктор Алексеевич*, *Чемурзиева Наталья Вадимовна*, кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии, Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А.Вагнера, 614000, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26

(n=42) детей с более выраженной патологией — синие пороки сердца, вызывающие цианоз (тетрада Фалло; аномалия Эбштейна; транспозиция магистральных сосудов). В ту и другую группы входили дети в возрасте от 1 до 11 мес. Для сравнения исследован тимус случайно погибших детей (n=8) в возрасте от 7 до 12 мес.

Биоптаты тимуса фиксировали в 10% нейтральном формалине на фосфатном буфере (pH 7,2) и после стандартной гистологической обработки заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином — эозином; тучные клетки выявляли путем окрашивания основным коричневым по Шубичу [8]. Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах толщиной 3 мкм с использованием стекол, обработанных полилизином (Thermo, Великобритания). Постановку иммуногистохимической реакции проводили аппаратным способом с использованием иммуногистохимического автостейнера Autostainer-360 (Thermo, Великобритания). Для визуализации результатов использовали системы детекции Ultra Vision ONE Detection System HRP Polymer (Thermo, США). Препараты инкубировали с хромогеном — DAV Plus Substrate System (Labvision Corporation, США) и докрашивали гематоксилином Майера с заключением в БиоМаунт (BioOptica, Италия). Для оценки качества реакции каждого из антигенов (Labvision, США) использовали позитивный контроль, в качестве которого служила нормальная ткань миндалины. Для исследования иммуногистохимического состояния клеток проводили окраску мечеными моноклональными антителами (Dako, США): 1) Ki-67 (клон MIB-1) — маркер ядер пролиферирующих клеток, находящихся в разных фазах клеточного цикла (G_1, S, G_2); 2) CD3 (клон UCHT 1) — для идентификации зрелых тимоцитов; 3) CD34 (клон QBEnd10) — для выявления костномозговых предшественников.

Положительным результатом иммуногистохимической реакции являлось специфическое окрашивание цитоплазмы клеток при выявлении антигена CD3 и CD34 и специфическое окрашивание ядер тимоцитов при выявлении антигена Ki-67. Численную плотность CD3-позитивных тимоцитов определяли с использованием квадратной тестовой системы (программа Image J). Полученные результаты рассчитывали по формуле: $Ni=(P_i/P_t)\times100(\%)$, где P_i — количество точек тестовой системы, попавших на CD3-позитивные лимфоциты; P_t — общее число точек закрытой тестовой системы (81). При оценке экспрессии Ki-67 рассчитывали индекс пролиферации (IKi) по формуле: $IKi=(n^+/N)\times100(\%)$, где n — число меченых ядер, N — общее число ядер в поле зрения микроскопа. Подсчеты проводили в 10 полях зрения каждого среза.

Морфометрическое исследование проводили с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений на морфометрической установке (Olympus, Япония).

Для электронно-микроскопического исследования биоптаты тимуса размером 1–2 мм^3 фиксировали в 10% растворе глутаральдегида и 1% растворе четырехокиси осмия. После обезвоживания в этаноле возрастающей концентрации материал заключали в аралдитовые смолы. Ультратонкие срезы толщиной 60 нм контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и изучали с помощью трансмиссионного электронного микроскопа Libra-120 (Carl Zeiss & MT, Германия) с цифровой SSCCD камерой UltraScan 950 (4 мпикс) при увеличении 1200–20 000. Исследовали ультраструктуру стромальных, эндотелиальных и лимфоидных клеток тимуса.

Полученные результаты обработаны с помощью пакетов Microsoft Excel 2007 и Statistica 6.0. В результатах представлены средние значения со стандартными отклонениями. Значимость различий сравниваемых величин определяли по непараметрическому критерию Манна—Уитни. Критическим уровнем значимости считали $P\leq0,05$.

Результаты исследования. Строение тимуса у детей с ВПС существенно отличалось от такового у детей контрольной группы и зависело от степени сложности сердечного порока. В контрольной группе дольки тимуса имели полигональную форму и были разделены тонкими соединительнотканными прослойками. Сосуды в междольковых перегородках выглядели полупустыми, заполненными клетками крови лишь наполовину. В дольках определялось правильное соотношение коркового и мозгового вещества, граница между которыми была четкой, контур долек ровным. В пределах коркового вещества тимоциты формировали компактные скопления. При синих пороках, обусловленных развитием циркуляторной гипоксии (2-я группа), в тимусе имелись расширенные и переполненные кровью сосуды, мелкоочаговые кровоизлияния в корковую часть долек. В дольках присутствовали расположенные одиночно или группами тучные клетки. В этих местах был значительнее выражен отек соединительнотканных структур. Тучные клетки в корковом веществе, окруженные лимфоцитами, формировали «розетки». В междольковой соединительной ткани наблюдались скопления адипоцитов. Часто элементы соединительной ткани прорастали в дольку, частично замещая ее функциональную часть. В этих участках у долек был неровный, чаще фестончатый, край.

В корковом веществе долек имелись признаки дистрофического изменения клеток стромы. Клетки теряли связь с тимоцитами, формировались зоны опустошения. Повсеместно выявлялись клетки фибробластического дифферона (*рис. 1, а*). Граница между корковым и мозговым веществом часто была нечеткой, местами мозговое вещество вдавалось в корковое.

У детей с белыми пороками сердца (1-я группа) в тканях тимуса наблюдались аналогичные морфологические изменения, но выраженные в значительно меньшей степени.

В тимусе у детей как 1-й, так и 2-й группы, была обнаружена активность прогениторных клеток, определяемых с помощью моноклональных антител к CD34. Клетки были как круглые и мелкие, так и крупные, вытянутые, вступившие в дифференцировку (см. рис. 1, б).

В корковом веществе иммунопозитивные клетки располагались вдоль соединительноткан-

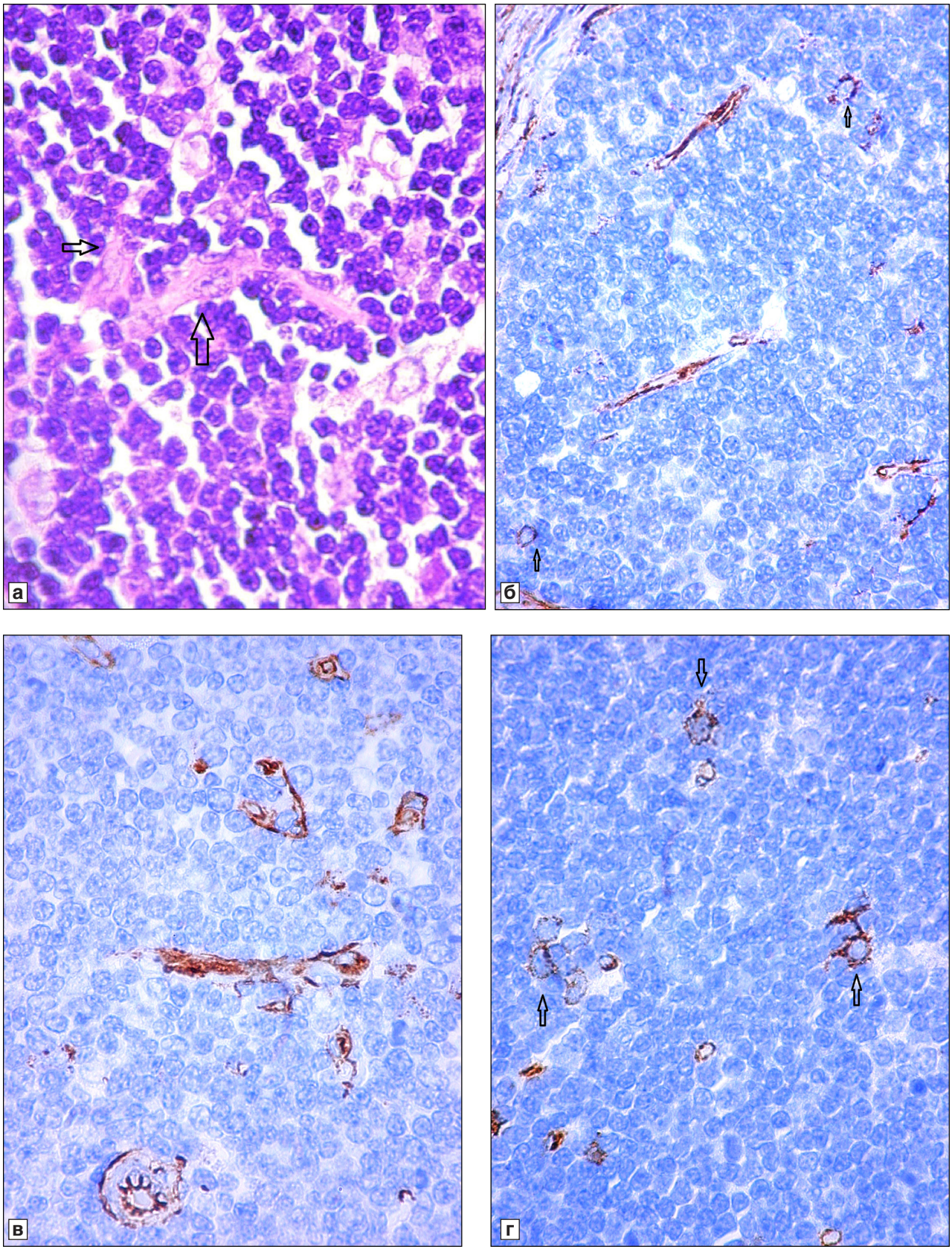

Рис. 1. Корковое вещество дольки тимуса у детей 2-й группы (а, в) с синими пороками сердца, 1-й группы (б) с белыми пороками сердца и контрольной группы (г).

а — скопление клеток фибробластического дифферона (стрелки); б — CD34-позитивные клетки, находящиеся на разных стадиях дифференцировки; малодифференцированные клетки (стрелки); в — CD34-позитивные клетки, участвующие в образовании сосудов; г — CD34-позитивные малодифференцированные клетки (стрелки). а — окраска гематоксилином — эозином; б–г — иммуногистохимическая реакция на CD34. Ув. 900

ных прослоек либо группами в виде цепочек, либо поодиночке. Прогениторные клетки активно вступали в неоваскулогенез, интенсивность которого коррелировала со степенью выраженности гипоксии. Клетки, участвующие в образовании капилляров, имели вытянутую, отростчатую форму, располагались вдоль и вокруг сосудов. В результате в пределах коркового вещества наблюдались сосуды, находящиеся на разных стадиях их формирования (см. рис. 1, в). В тимусе у детей с синими пороками (2-я группа) активное образование новых сосудов наблюдалось во всем корковом веществе и особенно в кортико-медуллярной зоне.

В контрольной группе между тимоцитами в корковом веществе присутствовали одиночно расположенные прогениторные CD34-позитивные клетки. Они имели округлую форму и по строению были похожи на малые лимфоциты (см. рис. 1, г). В пределах коркового вещества присутствовали и капилляры, их стенка выстлана CD34-позитивными клетками.

При электронно-микроскопическом исследовании были выявлены дистрофические изменения корковых ретикулярных эпителиоцитов. Степень деструкции зависела от выраженности порока сердца. Более значительные изменения были обнаружены в тимусе у детей 2-й группы. В цитоплазме этих клеток имелись значительное набухание митохондрий, фрагментация крист и просветление матрикса (*рис. 2, а*), а также деструкция их наружной мембраны.

Гранулярная эндоплазматическая сеть выглядела набухшей, её канальцы были расширены с явлениями фрагментации. У таких клеток были нарушены контакты с корковыми тимоцитами, в результате чего они располагались изолированно. В ядрах одиночно лежащих тимоцитов наблюдалось уплотнение гетерохроматина с появлением нетипичных участков просветления. Изменялась форма ядра. Ядрышки имели размытые контуры.

При изучении пролиферативной активности положительная экспрессия Ki-67 выявлялась в диффузно расположенных тимоцитах (см. рис. 2, б) в корковом веществе долек тимуса и существенно различалась в исследованных группах.

Так, в субкапсулярной зоне индекс пролиферации (IKi) в группах с сердечными пороками, в среднем на 25%, был значимо ниже, чем в контрольной группе. В корковом веществе невысокий IKi у детей 2-й группы был на 32% ниже, чем в контрольной группе. В кортико-медуллярной зоне, независимо от сложности сердечного порока, пролиферация тимоцитов также значимо была ниже (*таблица*).

Интенсивность тимопоэза оценивали по положительной экспрессии CD3. В тимусе у детей с сердечными пороками количество зрелых лимфоцитов зависело от типа ВПС и было значимо

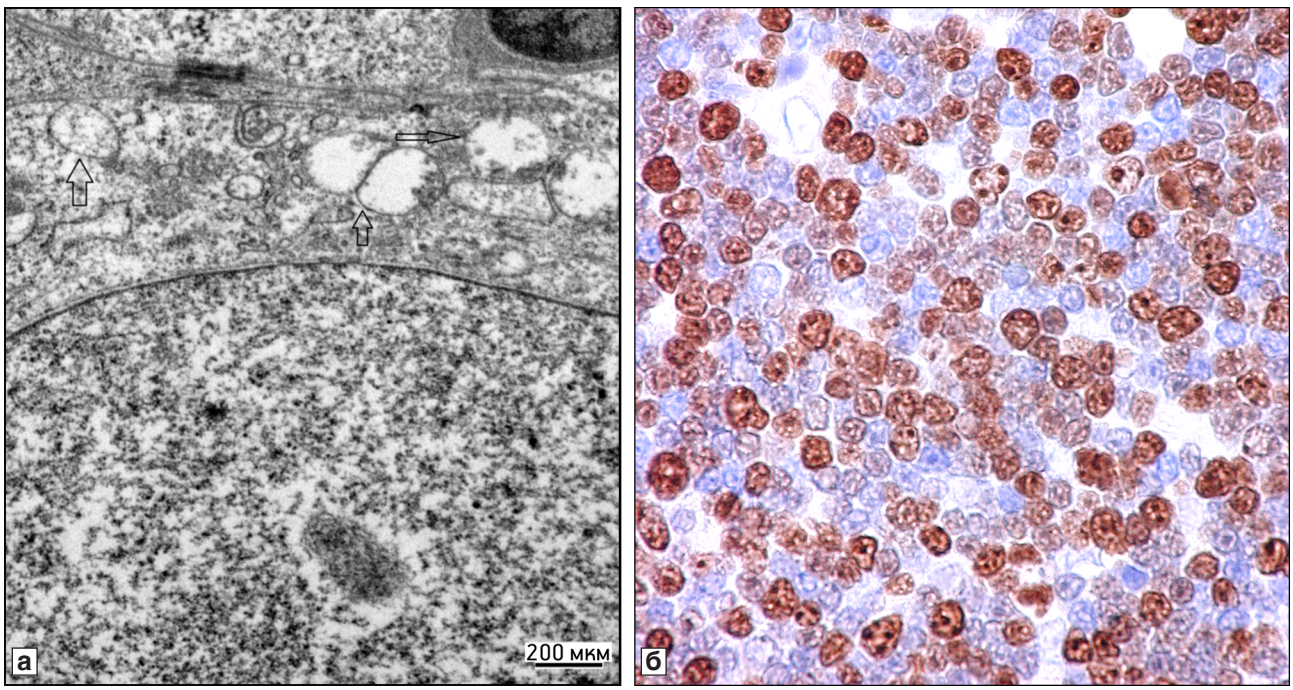

Рис. 2. Тимус ребенка с синим пороком сердца (2-я группа).

а — корковый ретикулярный эпителиоцит; набухшие митохондрии с фрагментированными кристами (стрелки); б — экспрессия маркера пролиферации Ki-67 в тимоцитах коркового вещества. а — электронная микрофотография; б — иммуногистохимическая реакция. б — ув. 900

ниже, чем в контрольной группе. Так, у детей с синими пороками (2-я группа) численная плотность CD3-позитивных тимоцитов в корковом веществе была на 30% меньше, чем у детей контрольной группы, и на 17% ниже, чем у детей с белыми пороками сердца (1-я группа). При этом в мозговом веществе тимуса этой группы число зрелых Т-лимфоцитов было самое высокое и составило 56±4%; в контроле — 40,7±2,8%.

Обсуждение полученных данных. В результате проведенных исследований установлено, что в тимусе в зависимости от выраженности ВПС происходят разной степени морфологические изменения. У детей 2-й группы более значительные, чем у детей 1-й группы.

Анализируя полученные данные, необходимо учитывать то, что в закладке тимуса, а именно его эпителиальной стромы, принимают участие клетки краниального отдела нервного гребня, параллельно участвующие в развитии сердца, в частности в становлении его соединительнотканных структур, перегородок и сосудов [16]. Наблюдаемые дистрофические изменения в ретикулярных эпителиоцитах у детей с ВПС могут быть тому подтверждением. В пределах коркового вещества на этапах антигеннезависимой дифференцировки тимоциты последовательно перемещаются по его зонам и, находясь в контакте с ретикулярными эпителиоцитами, вступают в пролиферацию. В каждой зоне этому способствуют специфические стимулирующие факторы, выделяемые клетками микроокружения. Имеющиеся структурные изменения в ретикулярных эпителиоцитах сказываются на их функциональных отношениях к тимоцитам на этапе их кортикального развития. Снижаются способность к пролиферации и дальнейшее развитие тимоцитов и, как результат, происходит уменьшение эмиграции тимоцитов в кровь. Так, ранее было показано, что в крови больных детей с ВПС, по сравнению со здоровыми, значительно снижается содержание тимусных мигрантов, что, несомненно, создает условия для развития иммунодефицита [5].

По экспрессии CD3 в тимусе in vivo мы наблюдали ослабление тимопоэза. В дополнение ко всему тимоциты интенсивно накапливались в мозговом веществе, существенно замедляя свою миграцию в периферическую кровь. Снижение тимической активности у детей с ВПС, на наш взгляд, связано с несостоятельностью клеток микроокружения, а именно ретикулярных эпителиоцитов глубокой коры части коркового вещества тимуса, участвующих в положительной

Индекс пролиферации тимоцитов (IKi-67) в различных зонах дольки тимуса у детей с врожденными пороками сердца ($\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$, %)

Зоны тимуса	Группы детей		
	Контрольная	1-я (белый порок)	2-я (синий порок)
Субкапсулярная	98±5	74±9*	72±5**
Корковое вещество	72,5±2,1	66,7±2,6*	50±6**
Кортико-медуллярная	77±5	63±6*	56±3**

* Различия по сравнению с контролем значимы при P≤0,05; ** при P<0,001.

селекции тимоцитов на этапе их антигеннезависимой дифференцировки.

Нарушение развития сердца в эмбриогенезе приводит к нарушению системной гемодинамики, формируя предпосылки для тканевой гипоксии. Известно, что в основе любой формы гипоксии лежит недостаточность ведущей клеточной энергопродуцирующей системы — митохондриального окислительного фосфорилирования с прогрессирующим дефицитом аденозинтрифосфата [6]. В клетках происходят комплексная модификация функций биологических мембран, дисфункция митохондий и накопление активных форм кислорода [1, 6]. В наших исследованиях обнаружено, что состояние гипоксии вызывает нарушения в структуре митохондрий и синтетического аппарата тимоцитов и клеток стромы.

По мнению Л.Д.Лукьяновой, гипоксия одновременно способна мобилизовать тканевые ресурсы организма, создавая условия для срочной и долгосрочной адаптации, которая контролируется меж- и внутриклеточными регуляторными механизмами [7]. В результате у детей с ВПС в тимусе наблюдается активация клеток фибробластического дифферона и прогениторных клеток, экспрессирующих гемопоэтический маркер CD34. Вероятно, активность этих клеточных линий проявляется как компенсаторный механизм адаптации, направленный на восстановление участков тканевой деструкции и устранение кислородного дефицита. Однако клетки фибробластического дифферона функционально не способны, в силу своих гистогенетических свойств, создать условия для развития Т-лимфоцитов. Однако, вырабатывая фактор стволовых клеток (Stem Cell Factor — SCF), фибробласты поддерживают тимоциты на ранних этапах развития [13]. Кроме этого, гипоксия разного генеза способствует развитию новых сосудов [17, 18]. Известно, что мобилизованные из костного мозга $CD34^+$-клетки под действием

факторов роста участвуют в развитии сосудов de novo, дифференцируясь в зрелые эндотелиоциты [21]. В нашем исследовании в тимусе, независимо от степени выраженности гипоксии, запускаются механизмы образования сосудов, проявляющиеся дифференцировкой прогениторных клеток ($CD34^+$) в клетки сосудистой стенки с образованием капиллярной сети. Образование сосудов имеет последовательность — от мелких разрозненно лежащих трубочек до капилляров, формирующих нежную сеть. По мнению ряда исследователей, на процесс миграции и дальнейшую дифференцировку прогениторных клеток ($CD34^+$) в эндотелиоциты влияет фактор, индуцируемый гипоксией (hypoxia-inducible factor — HIF). HIF считается ведущим транскрипционным регулятором генов млекопитающих, ответственных за реакцию на недостаточность кислорода. Он активизируется в физиологически важных местах регуляции кислородных путей, обеспечивает быстрые и адекватные ответы на гипоксический стресс [4].

Основной выход тимоцитов в сосудистое русло происходит в кортико-медуллярной зоне тимуса через эндотелий посткапиллярных венул при участии перицитов, служащих источником хемотаксического фактора сфингозин-1-фосфата (S1P). Последний является одним из ключевых хемокинов, обеспечивающих эмиграцию тимоцитов в кровь [14]. Возможно поэтому активный васкулогенез в кортико-медуллярной зоне тимуса у детей 2-й группы необходим для обеспечения пополнения популяции периферических лимфоцитов. Образование сосудов — процесс, характерный для гипоксии, реализация которого идет за счет активизации резерва прогениторных клеток и является проявлением адаптогенеза [2, 19].

В результате гипоксия при пороках сердца в зависимости от степени их выраженности запускает в тимусе адаптационные механизмы с участием комплекса тканевых и клеточных взаимодействий, направленных на устранение кислородного дефицита и полноценное восстановление его функций. Известно, что снижение тимической активности у мышей при действии различных факторов стимулирует в тимусе процессы эндогенной регенерации, направленной на его восстановление после действия стресса [15]. Однако в наших исследованиях полной нормализации процесса не обнаружено. Учитывая то, что в норме у новорожденного ребенка тимус структурно и функционально полностью сформирован [12], это позволяет ему обеспечить организм Т-клеточным ресурсом. Обнаруженные нами морфологические изменения в тимусе могут повлиять на этапы внутритимической дифференцировки, что отразиться на качестве формирования адаптивного иммунитета у данной категории больных детей. Представленные гистологические изменения в структуре тимуса при ВПС, на наш взгляд, вызваны двумя причинами — это эмбриональные особенности становления органа и гипоксия, как стрессорный фактор, развивающаяся на фоне ВПС. Исходя из этого, в перспективе актуальным становится дальнейшее морфологическое изучение состояния факторов микроокружения в тимусе и их влияние на формирование популяций Т-лимфоцитов у детей с ВПС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биленко М.В. Патогенетические и реперфузионные повреждения органов. М.: Медицина, 1989.
2. Бозо И.Я., Деев Р.В., Пинаев Г.П. «Фибробласт» — специализированная клетка или функциональное состояние клеток мезенхимального происхождения // Цитология. 2010. Т. 52, № 2. С. 99–109.
3. Дударев И.В. Иммунологическая и гемодинамическая характеристика детей с врожденными пороками сердца синего и бледного типа // Иммунология. 2002. Т. 23, № 3. С. 167–170.
4. Замечник Т.В., Рогова Л.Н. Гипоксия как пусковой фактор развития эндотелиальной дисфункции и воспаления сосудистой стенки // Вестн. новых мед. технологий. 2012. Т. 19, № 2. С 393–394.
5. Логинова Н.П., Четвертных В.А., Семченко В.В. и др. Особенности экспрессии цитокератинов 5 и 8 в клетках эпителиальной стромы тимуса и количество TREC в периферических Т-лимфоцитах у детей с врожденными пороками сердца // Иммунология. 2014. Т. 35, № 6. С. 333–337.
6. Лукьянова Л.Д. Митохондриальная дисфункция типовой патологический процесс, молекулярный механизм гипоксии // Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и клинические аспекты. М., Воронеж: Истоки, 2004. С. 8–50.
7. Лукьянова Л.Д., Кирова Ю.И., Сукоян Г.В. Новое о сигнальных механизмах адаптации к гипоксии и их роли в системной регуляции // Патогенез. 2011. Т. 9, № 3. С. 4–14.
8. Семченко В.В., Башарова С.А., Ноздрин В.И., Артемьев В.Н. Гистологическая техника. Омск, Орел: Омск. обл. типогр., 2006.
9. Старская И.С., Полевщиков А.В. Морфологические аспекты атрофии тимуса при стрессе // Иммунология. 2013. Т. 34, № 5. С. 271–277.
10. Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Москвичев Е.В. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика тимуса при хроническом канцерогенезе, вызванном введением 1,2-диметилгидразина // Морфология. 2014. Т. 146, вып. 5. С. 35–39.
11. Фроленко А.Л. Клинико-иммунологическая характеристика детей после тимэктомии: Автореф. дис. … канд. мед. наук. Оренбург, 2011.
12. Харченко В.П., Саркисов Д.С., Ветшев П.С. и др. Болезни вилочковой железы. М.: Триада-Х, 1998.

13. Ярилин А. А. Цитокины в тимусе. Биологическая активность и функции цитокинов в тимусе // Цитокины и воспаление. 2003. Т. 2, № 2. С. 3–11.
14. Cyster J. G., Schwab S. R. Sphingosin-1-phosphate and lymphocyte egress from lymphoid organs // Annu. Rev. Immunol. 2012. Vol. 30. P. 69–94.
15. Dudakov J. A., Hanash A. M. et al. Interleukin-22 drives endogenous thymic regeneration in mice // Science. 2012. Vol. 336 (6077). P. 91–95.
16. Kirby M. L., Waldo K. L. Role of neural crest in congenital heart disease // Circulation. 1990. Vol. 82, № 2. P. 332–340.
17. Klock B. L., Skuli N., Simon M. C. Hipxia-induced angiogenesis: good and evil // Genes Cancer. 2011. Vol. 2, № 12. P. 1117–1133.
18. Nanka O., Valasek P., Dvorakova M., Grim M. Experimental hypoxia and embryonic angiogenesis // Dev. Dyn. 2006. Vol. 235, № 3. P. 723–733.
19. Quan T., Cowper S., Wu S. et al. Circulating fibrocytes: collagen-secreting cells of the peripheral blood // Int. J. Biochem. Cell Biol. 2004. Vol. 36. P. 598–606.
20. Turan T., Turan A., Arslan C. et al. How does neonatal thymectomy effect the immune system? // Acta cardiol. 2004. Vol. 59, № 5. P. 511–513.
21. Yang N., Li D., Jiao P. et al. The characteristics of endothelial progenitor cells derived from mononuclear cells of rat bone marrow in different culture conditions // Cytotechnology. 2011. Vol. 63. P. 217–226.

Поступила в редакцию 10.03.2015
Получена после доработки 22.09.2015

MORPHO-FUNCTIONAL CHANGES OF THYMUS TISSUES IN CHILDREN WITH CONGENITAL HEART DISEASE

N. P. Loginova, V. A. Chetvertnykh, N. V. Chemurziyeva

Biopsy specimens of the thymus were studied in children aged under 11 months (n=77) with congenital heart defects and circulatory hypoxia of varying severity. Histological sections were stained with hematoxylin–eosin and Shubich's method (to demonstrate mast cells). The expression of Ki-67, CD3 and CD34 was assessed by immunohistochemistry. The ultrastructure of thymic tissues was also examined. It was found that the severity of hypoxia determined the morphological changes in the organ associated with a development of large complex of tissue reactions. A disruption of internal structure and a loss of integrity of epithelio-reticular cells and thymocytes were demonstrated in ultrathin sections. Thymocyte proliferation index (Ki-67) and thymocytopoiesis intensity ($CD3^+$) were reduced in all the zones of the thymus. The degree of hypoxia affected the redistribution of $CD3^+$ lymphocytes leading to their accumulation in the medulla. The processes of endogenous regeneration took place which involved the cells of fibroblastic line and progenitor cells ($CD34^+$) together with active formation of new blood vessels. These findings suggest that the morphological changes identified in the tissues of the thymus are a manifestation of tissue adaptation to hypoxia of varying severity under conditions of endogenous regeneration, simultaneously reflecting the processes of substitution cytogenesis.

Key words: *thymus, proliferation, endogenous regeneration congenital heart disease, hypoxia*

Department of Histology, Embryology, Cytology, Ye. A. Wagner Perm' State Medical University