

# Акцидентальная инволюция тимуса крыс на фоне канцерогенеза

О. Ю. Кострова, Г. Ю. Стручко, Л. М. Меркулова, М. Н. Михайлова, И. С. Стоменская

Чувашский Государственный Университет им. И. Н. Ульянова  
Чебоксары, Россия

Corresponding author: E-mail: evkbiz@yandex.ru

## Accidental thymic involution in rats against the background of carcinogenesis

O. Yu. Kostrova, G. Yu. Striuchko L. M. Merculova, M. N. Michailova, I. S. Stomenskaia

The study looks at using luminescent-histochemical methods and general histologic examination of the morphology of the thymus in rats, against the development of the colon adenocarcinoma induced by 1,2-dimethylhydrazine, 30, 60, 90 and 120 days after the end of injection. The administration of a carcinogen in rats led to the formation the thymus's accidental involution.

**Key words:** thymic, carcinogenesis, accidental involution.

Используя люминисцентно-гистохимический метод и общие гистологические исследования, была изучена морфология вилочковой железы у крыс с экспериментальной моделью аденокарциомы, вызванной 1,2-диметилгидразином на 30, 60, 90 и 120 день после окончания инъекции. Назначение карциногена крысам приводит к акцидентальной инволюции тимуса.

**Ключевые слова:** тимус, карциногенез, акцидентальная эволюция.

## Актуальность темы

Злокачественные новообразования занимают одно из лидирующих мест в структуре смертности населения. В течение всей жизни на человека воздействует большое число канцерогенов, как экзогенного, так и эндогенного происхождения. Кроме того, постоянно создаются условия для инициации канцерогенеза в тех или иных органах и тканях [5].

Выраженность защитных реакций организма на внешние воздействия во многом зависит от морфофункционального состояния одного из центральных органов иммуногенеза – тимуса, отвечающего за Т-клеточное звено иммунитета и выступающего связующим звеном во взаимодействии нейроэндокринной и иммунной систем [6].

Установлено, что при развитии опухолей инволюция тимуса и связанное с ней нарушение пополнения периферических Т-лимфоцитов лежит в основе развития Т-клеточного иммунодефицита [4].

Однако, до сих пор ученые пытаются ответить на вопрос: что является причиной инволюции тимуса при опухолевом росте? Существуют гормональные и цитокиновые гипотезы. Также предполагают, что инволюцию тимуса могут вызывать продукты распада опухоли, компоненты внеклеточного матрикса, метаболические факторы, а также ростовой фактор сосудистого эндотелия, который продуцируется опухолевыми клетками [12].

Поэтому, всестороннее изучение акцидентальной инволюции тимуса в условиях развития опухоли является актуальным и перспективным и дает новое, более целостное представление о патогенезе злокачественного роста, что, в дальнейшем, позволит разработать более эффективные методы прогнозирования, мониторинга и лечения новообразований.

## Материал и методы

Эксперименты были выполнены на 60 белых нелинейных крысах-самцах массой 150-180 г. При заборе материала учитывалась частота развития новообразований, их морфологические особенности, локализация. Кормление, уход и выведение из эксперимента крыс осуществляли в соответствии с правилами содержания лабораторных животных. Крысы были разделены на 2 группы. Первая (20 крыс) – контрольная группа животных, которым вводили изотонический раствор хлорида натрия. Вторая (40 крыс) – животные, которым внутривентриально вводили канцероген из расчета 10 мг/кг 1 раз в неделю в течение 4 недель.

Тимус забирали через 30, 60, 90 и 120 суток после последней инъекции, взвешивали, затем изготавливали криостатные срезы толщиной 10 мкм.

В работе использовали следующие методы:

1. Люминисцентно-гистохимический метод Фалька-Хилларпа в модификации Крохиной Е. М. – для избирательного выявления серотонина и катехоламинов.

2. Люминисцентно-гистохимический метод Кросса, Эвена, Роста – для идентификации гистаминсодержащих структур тимуса.

3. Метод цитоспектрофлуориметрии – для количественной оценки уровней серотонина (СТ), катехоламинов (КА) и гистамина (ГСТ) в структурах тимуса. Измерения производили с помощью насадки ФМЭЛ-1А, установленной на люминесцентный микроскоп ЛЮОММ-4 при выходном напряжении 600 В.

4. Для характеристики суммарно-направленного действия биогенных аминов вычислялось соотношение (СТ+ГСТ)/КА, свидетельствующее о функциональном состоянии клеток тимуса [10].

5. Метод окраски полихромным толуидиновым синим по Унна – для качественной и количественной характеристики популяции тучных клеток тимуса.

6. Окраска гематоксилином-эозином с последующей морфометрией коркового и мозгового вещества долек.

7. Морфометрический метод с использованием программы Микро-Анализ для измерения размеров люминесцирующих гранулярных клеток, толщины коркового и площади мозгового вещества тимуса.

## Результаты и обсуждение

Под малым увеличением люминесцентного микроскопа в тимусе интактных крыс различимы дольки разной формы и размера с хорошо выраженной границей между корковым и мозговым веществом. В паренхиме обнаруживаются люминесцирующие гранулярные клетки (ЛГК) премедулярной и субкапсулярных зон. Субкапсулярные клетки, диаметр которых в среднем составляет  $5,9 \pm 0,4$  мкм, беспорядочно располагаются на периферии коркового вещества.

Во внутренней части коркового вещества долек в области кортико-медулярной зоны в один или два ряда располагаются премедулярные клетки. Диаметр этих клеток составляет в среднем  $13,4 \pm 0,9$  мкм. В их цитоплазме содержатся крупные гранулы с беловато-желтой люминесценцией.

Среди биоаминсодержащих клеток в дольках тимуса довольно часто встречаются тучные клетки (ТК). Они заметно отличаются от других люминесцирующих структур тимуса. Форма тучных клеток более овальная. В середине цитоплазмы хорошо заметно темное ядро, в котором различимы люминесцирующие желтоватые гранулы. Эти клетки чаще располагаются группами.

В тимусе интактных крыс на окрашенных гематоксилином-эозином срезах хорошо определяются дольки округлой, овальной или полигональной формы со светлым мозговым и темным корковым веществом. На срезах, окрашенных полихромным толуидиновым синим, в междольковых промежутках обнаруживается небольшое количество тучных клеток, среди которых преобладают слабо дегранулированные и дегранулированные формы.

Нами выявлено, что через 30 суток после окончания курса введения канцерогена тимус крыс практически не отличается от интактного – дольки имеют хорошо выраженную границу между корковым и мозговым веществом. В паренхиме железы обнаруживаются ЛГК премедулярной и субкапсулярной зон, а также тучные клетки. Количество клеток по сравнению с интактными животными уменьшается в 1,3 раза. Установлено, что на этом сроке исследования уровень биогенных аминов по сравнению с нормой достоверно увеличивается во всех исследуемых структурах. При этом соотношение (СТ+ГСТ)/КА изменяется неоднозначно. В премедулярных и субкапсулярных клетках, а также в тимоцитах мозгового и коркового вещества оно увеличивается, а в тучных клетках и их микроокружении, наоборот, уменьшается. При окраске препарата тимуса гематоксилином-эозином хорошо определяются дольки полигональной формы, центральную часть которых составляет светлое мозговое вещество, окруженное более темным корковым. Проведенная морфометрия и окраска срезов по методу Унна показала, что размеры долек, общее количество тучных клеток, а также процентное содержание их различных форм не отличаются от интактных.

Через 60 суток после окончания курса инъекций при люминесцентной микроскопии структура тимуса исследованных животных тоже сходна с интактными крысами. Выявляются дольки округлой или овальной формы, в которых мозговое и корковое вещество ограничено четким и непрерывным рядом премедулярных клеток. Однако, проведенная морфометрия показала, что дольки имеют меньшие размеры, чем в норме. Площадь мозгового вещества по сравнению с нормой уменьшается в 2 раза, а по сравнению с предыдущей группой – в 2,3 раза. Толщина коркового вещества ниже значения интактной группы в 1,4 раза. Уровень биогенных аминов по сравнению с предыдущим сроком во всех исследуемых структурах снижается. Соотношение (СТ+ГСТ)/КА в тучных клетках по сравнению с интактными крысами достигает нормы. Во всех остальных клетках это соотношение увеличивается. Количество тучных клеток в поле зрения на срезах, окрашенных по методу Унна, незначительно превышает интактную и предыдущую группу. Преобладающими являются частично дегранулированные тучные клетки, которые составили 67%.

Морфофункциональная картина тимуса через 90 суток после окончания курса инъекций по сравнению с предыдущими сроками меняется более значительно. На этом сроке исследования встречаются крупные полигональные дольки, у которых площадь мозгового вещества превышает значения интактной группы в 2,3 раза. При обработке срезов методами Фалька или Кросса определяется мозговое вещество веретенообразной или неправильной амебовидной формы, которое не содержит люминесцирующих клеток. В корковом же веществе располагается множество одинаковых по величине крупных ярких корковых ЛГК, которые неравномерно распределены от кортико-медуллярной границы до периферии. Визуальное увеличение интенсивности свечения клеток коррелирует с данными уровня биогенных аминов. Содержание серотонина в премедуллярных клетках возрастает в 2,5 раза, гистамина – в 2 раза, катехоламинов – в 1,5 раза. Соотношение (СТ+ГСТ)/КА в премедуллярных и субкапсулярных клетках, а также в тимоцитах мозгового вещества увеличивается и составляет 7,2; 5,5 и 8,3. В тимоцитах коркового вещества, тучных клетках и их микроокружении это соотношение уменьшается и составляет 5,5; 6,3 и 5,7. При окраске срезов полихромным толуидиновым синим обнаруживается множество тучных клеток в прилежащей соединительной ткани.

Через 120 суток после окончания курса введения 1,2-диметилгидразина выявляется выраженная дезорганизация структуры тимуса: большая часть лимфоидной ткани тимуса замещается жировой и соединительной тканью. Дольки уменьшаются в размерах, принимают полулунную или веретенообразную форму, корковое и мозговое вещество плохо дифференцируются. Количество ЛГК по сравнению с предыдущими сроками исследования уменьшается. В некоторых дольках визуализируются лишь их остатки в виде сплошных оранжево-желтых пятен или гранул с расплывчатыми контурами на фоне желто-зеленого свечения окружающей ткани. Это, возможно, свидетельствует о том, что на этом сроке после введения 1,2-диметилгидразина в тимусе происходят процессы утилизации погибшей ткани. Содержание биогенных аминов в люминесцирующих структурах тимуса изменяется неоднозначно. За счет повышения уровня гистамина в премедуллярных и субкапсулярных клетках, а также в тимоцитах коркового и мозгового вещества, соотношение (СТ+ГСТ)/КА в этих структурах по сравнению с нормой увеличивается. В тучных клетках и их микроокружении оно уменьшается и составляет 7,3 и 7,8 соответственно при норме 9 и 9,2. Тучные клетки на этом сроке исследования обнаруживаются в паренхиме тимуса. При этом общее количество этих клеток возрастает в основном за счет недегранулированных и слабодегранулированных форм.

Полученные нами данные свидетельствуют о развитии акцидентальной инволюции тимуса на фоне канцерогенеза, вызванного введением 1,2-диметилгидразина, что согласуется с литературными данными. Этот процесс в органе – закономерный ответ, имеющий стереотипный фазовый характер, отражающий функциональную активность структурных элементов тимуса [8].

Известно, что в процессе развития акцидентальной инволюции тимуса условно выделяют пять основных фаз, отражающих динамику процесса [8, 11]. Согласно нашим данным, первые три фазы формируются через 30, 60 и 90 суток после окончания курса инъекций. К 120 суткам у большинства животных отмечается четвертая и пятая фаза, что свидетельствует о сильном антигеном воздействии. По данным литературы последние две фазы инволюции отражают состояние приобретенного иммунодефицитного синдрома [11].

Особая роль в процессе канцерогенеза принадлежит тучным клеткам. В ранние сроки нами отмечено появление большого количества дегранулированных тучных клеток. Дегрануляция является обычной реакцией тучных клеток на повреждение тканей, что сопровождается выбросом гепарина, гистамина, серотонина, ферментов в соединительную ткань, а это ведет к повышению сосудистой проницаемости, изменению тонуса сосудов [2, 3]. К 120 суткам тучные клетки обнаруживаются в паренхиме тимуса, при этом увеличивается процентное содержание их недегранулированных форм, что может быть связано с их повышенной миграцией [1].

Конечно, механизмы развития акцидентальной инволюции тимуса на фоне развития опухоли и иммунодефицита до сих пор остаются до конца не выясненными. Одним из ведущих считается недостаточное поступление клеток-предшественников в тимус, которые сохраняются в костном мозге в достаточном количестве и функционально полноценны. Кроме того, показано, что потенциальными индукторами инволюции тимуса при неопластическом процессе могут быть глюкокортикоидные гормоны и такие цитокины, как TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-4, TGF- $\beta$ , VEGF [7, 12].

Безусловно, патогенез развития инволюции тимуса сложен и многоступенчат, однако, по нашему мнению, основная причина – дисфункция взаимодействия в системе надпочечники-гипофиз-тимус [9].

Посредниками взаимодействия эндокринной и иммунной систем в этом случае являются дендритные клетки, способные при их стимуляции секретировать те или иные иммунорегулирующие факторы, в том числе и биогенные амины. Увеличение уровня глюкокортикоидов в крови, а также рост содержания гистамина и серотонина в тимocyтах, что и наблюдается в нашем эксперименте, запускает необратимую реакцию запрограммированной гибели клетки (апоптоза).

### Выводы

1. На фоне роста злокачественной опухоли возникает акцидентальная инволюция тимуса крыс, которая индуцирована введением 1,2-диметилгидразина и носит выраженный фазовый характер.
2. Через 30, 60 и 90 суток после окончания курса инъекций формируются первая, вторая и третья фазы акцидентальной инволюции, что свидетельствует о функциональном напряжении иммунной системы.
3. Через 120 суток после окончания введения канцерогена развивается четвертая и пятая фазы инволюции, что отражает состояние приобретенного иммунодефицитного синдрома.
4. Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ МД-2936.2011.7.

### Литература

1. Арташан ОС. Участие макроцитов в формировании соединительнотканной капсулы при изменении функциональной активности печени. // Мат. науч. конф. «Физиология человека и животных: от эксперимента к клинической практике». Сыктывкар, 2011;5-9.
2. Васендин ДВ, Мичурина СВ, Ищенко ИЮ. Морфологические изменения в тимусе в «катаболической» фазе после воздействия экспериментальной гипертермии. *Сибирский медицинский журнал*. 2011;101(2):33-35.
3. Зерчанинова ЕИ. О роли тучных клеток в регуляции кроветворения при действии на организм экстремальных факторов. // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Екатеринбург, 2000;20.
4. Киселева ЕП. Механизмы инволюции тимуса при опухолевом росте. *Успехи совр. биол.* 2004;124(6):102-114.
5. Маньчева ТА, Плотникова НА. Мелатонин и метформин подавляют опухолевый рост при индуцированных бенз(а)пиреном неоплазиях у мышей. *Российский биотерапевтический журнал*. 2011;10(2):73-78.
6. Мороз ГА. Морфофункциональные особенности тимуса двенадцатимесечных крыс при многократно повторяющемся гипергравитационном воздействии. *Морфология*. 2010;4(3):23-27.
7. Пинегин БВ, Хаитов РМ, Ярилин АА. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы. Руководство для врачей. М.: Гэотар-Медиа, 2009;352.
8. Сивоконюк, ОВ, Даниленко АИ. Патоморфологические особенности тимуса экспериментальных животных при остром токсическом гепатите. *Одесский медицинский журнал*. 2010;117(1):34-37.
9. Стоменская ИС, Меркулова ЛМ, Стручко ГЮ, и др. Роль биогенных аминов в регуляции функции надпочечников. Мат. науч. конф. «Фундаментальные и прикладные проблемы гистологии. Гистогенез и регенерация тканей». СПб, 2004;133-134.
10. Стручко ГЮ. Морфофункциональное исследование тимуса и иммунобиохимических показателей крови после спленэктомии и иммунокоррекции. Автореф. дис... докт. мед. наук. Саранск, 2003;23.
11. Турицына ЕГ. Морфологические и этиологические аспекты акцидентальной инволюции тимуса птиц. *Аграрный вестник Урала*. 2009;66(12):74-76.
12. Ohm JE. VEGF inhibits T-cell development and may contribute to tumor-induced immune suppression. *Blood*. 2003;101(12):4878-4886.

## Структурная организация мышечной ткани простаты мальчиков первого периода детского возраста

В. А. Краснобаев, \*А. К. Усович

Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Республика Беларусь

\*Corresponding author: E-mail: usovicha@mail.ru

### Structural organization prostatic muscular tissue of first period of child age

7 prostates of boys 4-7 years are examined by basic histologic methods. Structural changes of muscular tissue are observed in prostate of this age. Smooth muscular tissue and striated muscles are present in the organ.

**Key words:** prostatic, muscular tissue, muscles, first period of child age.