

УДК: 599.323.4-114.73:611.018.2

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТКАНЕВЫХ СТРУКТУР ТИМУСА  
ПРИ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ**

А.А. КОТЁЛКИНА

*ФГБОУ ВО «Чуваши́йский государственный университет имени И.Н. Ульянова»,  
пр-т Московский, д. 15, Чебоксары, Чувашская Республика, 428015, Россия,  
e-mail: ds6426@chebnet.com*

**Аннотация.** В работе проведен анализ морфологических изменений тимуса крыс на фоне введения канцерогенов *N*-метил-*N*-нитрозомочевина и 1,2-диметилгидразина и последующим развитием рака молочной железы и рака толстой кишки соответственно. При сопоставлении результатов в разных моделях канцерогенеза выявлены общие закономерности, а также некоторые отличия в морфологии и функциональной активности клеток тимуса. При воздействии канцерогенов были обнаружены изменения долек органа. Они приобретают веретенообразную форму, уменьшаются междольковые промежутки, паренхима органа замещается жировой и соединительной тканью, изменяется площадь мозгового и толщина коркового вещества. Отмечается увеличение количества люминесцирующих гранулярных клеток в исследуемых группах, достоверное повышение уровня гистамина, установлено достоверное увеличение тучных клеток за счет дегранулированных и полностью опустошенных форм.

Наблюдается увеличение количества *S*-100<sup>+</sup> клеток и *CD3*<sup>+</sup> клеток при развитии рака толстой кишки и рака молочной железы. Полученные изменения можно объяснить тем, что введение канцерогенов активирует клеточное звено иммунной системы.

Отмеченные изменения в структуре тимуса могут свидетельствовать о напряженности иммунной системы на фоне процессов канцерогенеза, а также о признаках развития акцидентальной инволюции органа при воздействии канцерогена 1,2-диметилгидразина. Можно предположить, что это связано с более агрессивным действием самого канцерогена 1,2-диметилгидразина по сравнению с канцерогеном *N*-метил-*N*-нитрозомочевина.

**Ключевые слова:** тимус, канцерогенез, *N*-метил – *N*-нитрозомочевина, 1,2-диметилгидразин, рак молочной железы, рак толстой кишки, тучные клетки, люминесцирующие гранулярные клетки.

**MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THYMUS TISSUE STRUCTURES IN CARCINOGENESIS  
OF DIFFERENT LOCALIZATION**

A.A. KOTELKINA

*Chuvash State I.N. Ulyanov University,  
Moskovsky Av., 15, Cheboksary, Chuvash Republic, 428015, Russia, e-mail: ds6426@chebnet.com*

**Abstract.** The paper analyzes the morphological changes of rat thymus against the background of the carcinogens *N*-methyl-*N*-nitrosourea and 1.2-dimethylhydrazine administration and the subsequent development of breast cancer and colon cancer, respectively. When comparing the results in different models of carcinogenesis revealed common patterns, as well as some differences in the morphology and functional activity of thymus cells. When exposed to carcinogens were detected changes of the lobules of the organ. They acquire a spindle shape, with decreasing of the interlobular spaces, the parenchyma is replaced by adipose and connective tissue, there are also changes in the area of the medulla and the thickness of the cortical substance. There is an increase in the number of luminescent granular cells in the study groups, a significant increase in the level of histamine, a significant increase in mast cells due to degranulated and completely degranulated forms.

There is an increase in the number of *S*-100<sup>+</sup> cells and *CD3*<sup>+</sup> cells in the development of colon cancer and breast cancer. These changes can be explained by the fact that the introduction of carcinogens activates the cellular component of immune system.

The noted changes in the structure of the thymus may indicate the tension of the immune system against the background of carcinogenesis processes, as well as signs of the development of accidental organ involution under the influence of carcinogen 1.2-dimethylhydrazine. It can be assumed that this is due to the more aggressive action of the carcinogen 1.2-dimethylhydrazine compared to the carcinogen *N*-methyl-*N*-nitrosourea.

**Key words:** thymus, carcinogenesis, *N*-methyl-*N*-nitrosourea, 1.2-dimethylhydrazine, breast cancer, colon cancer, mast cells, luminescent granular cells

**Введение.** Проблема онкопатологии является одной из самых актуальных и сложных в медицине не только в России, но и во всем мире. К сожалению, отмечается повышение смертности от рака среди всех возрастных групп людей. На сегодняшний день известно множество причин, способных привести к развитию злокачественных новообразований: вредные факторы окружающей среды, генетическая предрасположенность, нарушение гормонального баланса, стресс, иммунодефицит и др. [1].

Всё чаще врачей и учёных, занимающихся проблемами онкологических заболеваний, интересует вопрос о роли иммунной системы при канцерогенезе [2]. Одна из важных ролей в противораковом иммунном ответе принадлежит тимусу, в котором происходит дифференцировка основных популяций *T*-лимфоцитов. Исследования процессов, развивающихся в органах иммунной системы, позволяют сформулировать принципы формирования и поддержания иммунной защиты в процессе прогрессирующего развития злокачественных новообразований, что, несомненно, является актуальной проблемой и для фундаментальной, и для клинической медицины.

**Цель исследования** – изучить морфофункциональное состояние тимуса крыс после введения канцерогенов: *N*-метил-*N*-нитрозомочевины и 1,2-диметилгидразина, вызывающих развитие опухолей различной локализации.

**Материалы и методы исследования.** Эксперименты выполнены на 250 белых нелинейных крысах. Животные были разделены на 3 группы. Первая – интактные крысы ( $n=50$ ). Вторая группа – животные с введением *N*-метил-*N*-нитрозомочевины в область одной молочной железы в дозе 2,5 мг на крысу еженедельно в течение 5 недель (в общей дозе 12 мг/крысу), индуцирующую развитие рака молочной железы ( $n=100$ ). Третья группа – животные с внутрибрюшинным введением 1,2-диметилгидразина из расчета 20 мг/кг 1 раз в неделю в течение 4 недель (общая доза составила 80 мг/кг), вызывающего рак толстой кишки ( $n=100$ ).

Из эксперимента животные были выведены через 1, 2 и 3 месяца после окончания введения канцерогенов. В статье представлены данные последнего месяца исследования, так как на этом сроке были выявлены наибольшие изменения. Объект исследования – тимус.

В процессе патоморфологического исследования установлено, что через 3 месяца после введения канцерогенов наблюдается прогрессирование опухолевого роста с развитием инфильтрирующего долькового рака молочной железы и развитием аденомы толстой кишки с признаками клеточной атипии.

В работе использовались:

1. Люминесцентно-гистохимические методы: Фалька – Хилларпа для избирательного определения *серотонина* (СТ) и *катехоламинов* (КА); Кросса-Эвена – Роста для избирательного определения уровня *гистамина* (ГСТ) в отдельных структурах тимуса. Уровень биогенных аминов определяли в условных единицах (у.е.) с помощью спектрофлуориметрической насадки ФМЭЛ – 1А на микроскопе ЛЮМАМ - 4.

2. Для оценки суммарно-направленного влияния *биогенных аминов* (БА) определяли соотношение (СТ+ГСТ)/КА. Этот показатель свидетельствует о функциональной активности клеток [4].

3. Метод окраски полихромным толуидиновым синим по Унна – для качественного и количественного определения популяции тучных клеток тимуса. По степени дегрануляции клеток выделяют: Т-0 — недегранулированные тучные клетки с плотно заполненными неразличимыми гранулами и ядром; Т-1 — клетки с отдельно различимыми гранулами и неполностью замаскированным ядром; Т-2 — клетки с хорошо различимыми гранулами как внутри, так и вокруг клетки и отчетливым ядром; Т-3 — опустошенные тучные клетки с единичными гранулами внутри и рассеянными гранулами вокруг клетки.

4. Окраска гематоксилином и эозином с последующей морфометрией коркового и мозгового вещества тимуса.

5. Иммуногистохимические методы с использованием *коммерческих моноклональных* (МКАТ) и *поликлональных* (ПКАТ) антител производства *NovoCastra* (Великобритания) и фирмы *Santa Cruze* (США): поликлональных антител к белку *S-100<sup>+</sup>* клеток - маркеру дендритных клеток, моноклональных антител к кластеру дифференцировки лимфоцитов 3 типа (*CD3<sup>+</sup>*).

6. Достоверность полученных результатов эксперимента оценивали с помощью *t* критерия Стьюдента ( $p \leq 0,01$ ). Данные представляли в виде средней арифметической величины (*M*) и ее средней ошибки (*m*).

**Результаты и их обсуждение.** Дольки тимуса интактных крыс имеют полигональную форму, ограничены друг от друга междольковыми соединительнотканью септами, хорошо определяются корковое и мозговое вещество. При люминесцентной микроскопии выявляются *люминесцирующие гранулярные клетки* (ЛГК) премедулярной и субкапсулярной зон, тучные клетки.

При окраске гематоксилином и эозином у животных при канцерогенезе наблюдаются изменения в структуре тимуса. Дольки приобретают веретенообразную форму, уменьшаются междольковые промежутки. Однако, замещение паренхимы органа жировой и соединительной тканью больше выражено при введении 1,2-диметилгидразина. При введении этого же канцерогена происходит уменьшение и площади мозгового вещества, и толщины коркового вещества.

При введении канцерогена, вызывающего рак молочной железы, площадь мозгового вещества уменьшается в 2 раза, а толщина коркового, напротив, возрастает в 1,5 раза по сравнению с группой интактных животных.

На фоне введения канцерогенов при люминесцентной микроскопии количество ЛГК достоверно увеличивается в опытных группах. Если у интактных крыс люминесцирующие гранулярные клетки образуют непрерывную границу между корковым и мозговым веществом, то при введении канцерогенов клетки премедуллярной зоны располагаются хаотично по всему корковому веществу. При этом мозговое вещество приобретает неправильную амёбовидную форму.

Через 3 месяца в ЛГК на фоне введения канцерогенов обнаруживается достоверное увеличение уровня гистамина, наибольшее – при введении канцерогена, вызывающего развитие рака молочной железы. Так, в клетках премедуллярной зоны ГСТ возрастает в 2 раза ( $p \leq 0,01$ ), в клетках субкапсулярной зоны – в 3,3 раза ( $p \leq 0,01$ ), в тимоцитах коркового и мозгового вещества и в тучных клетках – в 2 раза ( $p \leq 0,01$ ) по сравнению с интактными животными (рис. 1). Уровень серотонина и катехоламинов при воздействии различных канцерогенов изменяется разнонаправлено.

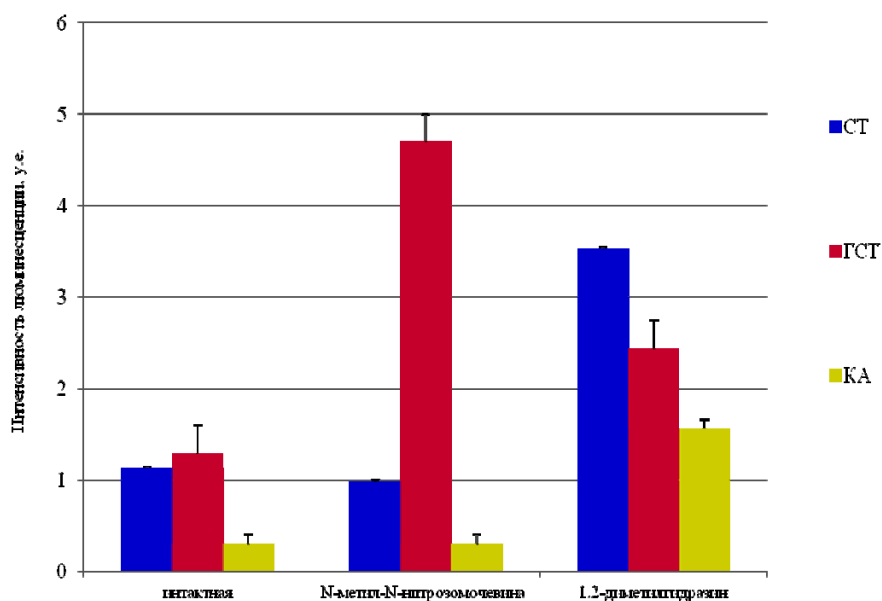


Рис. 1. Интенсивность люминесценции биогенных аминов (у.е.) в клетках субкапсулярной зоны у интактных крыс и через 3 месяца после введения канцерогенов

При изучении соотношения (СТ+ГСТ)/КА, свидетельствующего о функциональной активности клеток тимуса, при развитии опухоли молочной железы было выявлено увеличение этого показателя в клетках премедуллярной и субкапсулярной зон в 3 раза, в тимоцитах коркового вещества – почти в 4 раза, в тучных клетках – в 2,2 раза по сравнению с интактными животными того же возраста. По данным литературы, это может свидетельствовать о подавлении функциональной активности клеток тимуса на фоне процесса канцерогенеза [4]. При раке толстой кишки наблюдаются противоположные изменения этого показателя, что говорит об увеличении функциональной активности клеток тимуса.

Тучные клетки, различные по степени дегрануляции, выявляются в междольковых промежутках органа у интактных крыс в небольшом количестве. При этом преобладают недегранулированные Т-0 (41%) и слабодегранулированные Т-1 (30%) формы.

Через 3 месяца после введения канцерогенов общее количество тучных клеток достоверно увеличивается, что больше выражено на фоне развития опухоли толстой кишки. При этом преобладают дегранулированные клетки Т-2 и полностью опустошенные Т-3 формы – 26% и 52% соответственно при раке толстой кишки, 33% и 25% соответственно при развитии рака молочной железы.

И при раке толстой кишки, и раке молочной железы  $S-100^+$  клетки достоверно увеличиваются в 2 раза ( $p \leq 0,01$ ). Количество  $CD3^+$  клеток также увеличивается на фоне введения обоих канцерогенов: на 42% при введении *N*-метил-*N*-нитрозомочевины и на 14% при введении 1,2-диметилгидразина (рис. 2, 3).

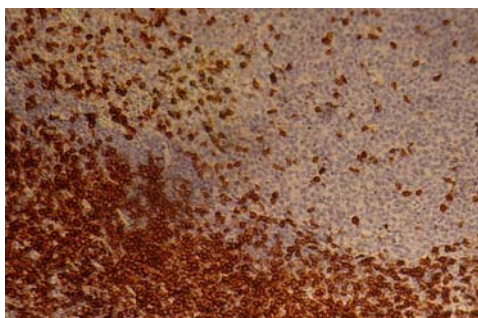


Рис. 2. Тимус. Интактная крыса.  
Иммуногистохимическая реакция на  $CD3^+$ -клетки. Микромед 3 Люм. Ув.× 40

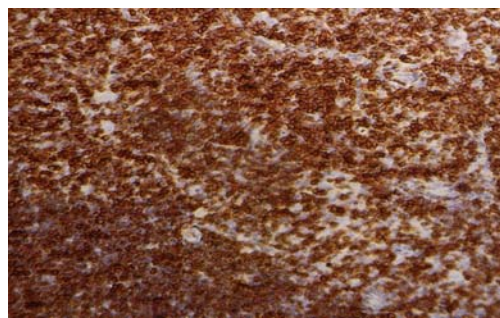


Рис. 3. Тимус крыс. Через 3 месяца после введения *N*-метил-*N*-нитрозомочевины. Иммуногистохимическая реакция на  $CD3^+$ -клетки. Увеличение  $CD3^+$ -клеток. Микромед 3 Люм. Ув.× 40

Таким образом, при сопоставлении результатов в разных моделях канцерогенеза мы обнаружили общие закономерности и некоторые отличия в морфологии и функциональной активности клеток тимуса. Так, при воздействии канцерогенов дольки приобретают веретенообразную форму, уменьшаются междольковые промежутки, происходит замещение паренхимы органа жировой и соединительной тканью, изменяется площадь мозгового вещества и толщина коркового вещества.

При люминесцентной микроскопии во всех исследуемых группах ЛГК увеличивается. Обнаруживается достоверное повышение уровня гистамина в опытных группах, по данным литературы это может быть связано с тем, что гистамин принимает участие в клеточном и противоопухолевом иммунитете, стимулируя натуральные киллеры и усиливая цитотоксичность Т-клеток [5]. По мере прогрессирования канцерогенеза выявляется достоверное увеличение тучных клеток за счет дегранулированных и полностью опустошенных форм, наблюдается увеличение количества  $S-100^+$  клеток и  $CD3^+$  клеток.

Полученные изменения можно объяснить тем, что введение канцерогенов вызывает стимуляцию клеточного звена иммунной системы, что, в свою очередь, приводит к увеличению числа дендритных и тучных клеток. По данным литературы, увеличение количества дендритных клеток может нарушать соотношение биогенных аминов, которое направлено на активацию, созревание и дифференцировку Т-клеток [2, 4]. Также известно, что тучные клетки, реагируя на патологические процессы, возникающие в организме, выделяют ряд медиаторов системы иммунитета, биогенные амины, противовоспалительные цитокины и нейропептиды. Можно предположить, что процесс дегрануляции тучных клеток свидетельствует об их активном участии в иммунном ответе в процессе канцерогенеза [3].

Необходимо отметить, что изменения структуры тимуса наиболее ярко выражены через 3 месяца после введения канцерогена, индуцирующего рак толстой кишки, что проявляется в уменьшении площади мозгового и толщины коркового вещества, активном замещении паренхимы жировой и соединительной тканью, повышении функциональной активности биоаминсодержащих структур тимуса, преобладанием дегранулированных и полностью опустошенных форм тучных клеток. Все это может свидетельствовать о напряженности иммунной системы на фоне процессов канцерогенеза, а также о признаках развития акцидентальной инволюции органа при воздействии канцерогена 1,2-диметилгидразина. Возможно, это связано с более агрессивным действием самого канцерогена 1,2-диметилгидразина по сравнению с канцерогеном *N*-метил-*N*-нитрозомочевина.

#### Литература

1. Забежинский М.А. Принципы первичной профилактики рака // Практическая онкология. 2011. Т. 12, № 2. С. 57–61.
2. Кострова О.Ю. Акцидентальная инволюция тимуса крыс на фоне развития аденокарциномы толстой кишки, вызванной введением канцерогена в различной дозировке // Фундаментальные исследования. 2013. №3. С. 321–324.
3. Котёлкина А.А., Меркулова Л.М., Кострова О.Ю. Реакция тучных клеток тимуса на канцерогенез, водноиммобилизационный стресс и сочетанное действие факторов. Сборник научных работ, посвященный 85-летию со дня рождения профессора А.С. Леонтьюка "Строение организма человека и животных в норме, патологии и эксперименте" Минск: БГМУ, 2017. С. 300–304.
4. Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Кострова О.Ю., Михайлова М.Н., Москвичев Е.В. Морфологическое и иммуногистохимическое исследование тимуса в норме и после применения полиоксидония (обзор литературы) // Вестник Чувашского университета. 2012. №3. С. 525–531.

5. Hellstrand K. Histamine in cancer immunotherapy: a preclinical background // Semin. oncol. 2002. V. 29, № 3, suppl. 7. P. 35–40.

#### References

1. Zabezhinskij MA. Principy pervichnoj profilaktiki raka [Principles of primary cancer prevention]. Prakticheskaya onkologiya. 2011;12(2):57-61. Russian.
2. Kostrova OYU. Akcidental'naya involyuciya timusa krysa na fone razvitiya adenokarcinomy tolstoj kishki, vyzvannoj vvedeniem kancerogena v razlichnoj dozirovke [Accidental involution of the thymus of rats on the background of the development of adenocarcinoma of the colon, caused by the introduction of a carcinogen in a variety of dosage]. Fundamental'nye issledovaniya. 2013;3:321-4. Russian.
3. Kotyolkina AA, Merkulova LM, Kostrova OYU. Reakciya tuchnyh kletok timusa na kancerogenez, vodnoimmobilizacionnyj stress i sochetannoe dejstvie faktorov [Reaction of the fat cells of the thymus in carcinogenesis, vodoemulsionny stress and the combined action of factors]. Sbornik nauchnyh rabot, posvyashchennyj 85-letiyu so dnya rozhdeniya professora AS. Leontyuka "Stroenie organizma cheloveka i zhivotnyh v norme, patologii i ehksperimente" Minsk: BGMU; 2017. Russian.
4. Struchko GYU, Merkulova LM, Kostrova OYU, Mihajlova MN, Moskvichev EV. Morfologicheskoe i immunogistohimicheskoe issledovanie timusa v norme i posle primeneniya polioksidoniya (obzor literatury) [Morphological and immunohistochemical study of the thymus in normal and after application polioksidoniya (review of literature)]. Vestnik CHuvashskogo universiteta. 2012;3:525-31. Russian.
5. Hellstrand K. Histamine in cancer immunotherapy: a preclinical background. Semin. oncol. 2002;29(3):35-40.

---

#### Библиографическая ссылка:

Котёлкина А.А. Морфофункциональное состояние тканевых структур тимуса при канцерогенезе различной локализации // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2018. №4. Публикация 3-14. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-4/3-14.pdf> (дата обращения: 13.07.2018). \*

\* номера страниц смотреть после выхода полной версии журнала: URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-4/e2018-4.pdf>