

УДК 599.323.4-147.3-147.6.044
ББК Е623.362.423*697.5*737.13-64

О.Ю. КОСТРОВА, Л.М. МЕРКУЛОВА, А.А. КОТЁЛКИНА,
И.С. СТОМЕНСКАЯ, Г.Ю. СТРУЧКО, М.Н. МИХАЙЛОВА

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НАДПОЧЕЧНИКОВ
И ТИМУСА У КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ КАНЦЕРОГЕНА
N-МЕТИЛ-N-НИТРОЗОМОЧЕВИНЫ**

Ключевые слова: надпочечники, тимус, канцерогенез, биогенные амины, люминесцирующие гранулярные клетки, акцидентальная трансформация тимуса

Целью настоящей работы явилось изучение морфофункциональной характеристики надпочечников и тимуса 22 белых нелинейных крыс-самок при введении N-метил-N-нитрозомочевина. С помощью люминесцентно-гистохимических и общегистологических методов выявлено, что при введении канцерогена в тимусе наблюдаются увеличение количества люминесцирующих гранулярных клеток, разнонаправленное изменение уровня биогенных аминов, уменьшение площади мозгового и толщины коркового вещества, что указывает на развитие акцидентальной трансформации органа. В надпочечниках выявляется рост количества люминесцирующих клеток, достоверное увеличение толщины коркового вещества, а также изменение содержания биогенных аминов. Посредниками взаимодействия между тимусом и надпочечниками являются клетки АПУД-серии, к которым относятся люминесцирующие гранулярные клетки, способные секретировать биогенные амины.

O. KOSTROVA, L. MERKULOVA, A. KOTYOLKINA,
I. STOMENSKAYA, G. STRUCHKO, M. MIKHAILOVA

**MORPHOFUNCTIONAL CHANGES OF ADRENAL GLANDS AND THYMUS
IN RATS AFTER CARCINOGEN N-METHYL-N-NITROSOUREA ADMINISTRATION**

Key words: adrenal, thymus, carcinogenesis, biogenic amines, luminescent granule cells, thymus accidental transformation

The aim of this work was to study the morphological and functional characteristics of adrenal glands and thymus of 22 white female rats when administered N-methyl-N-nitrosourea. Using luminescent-histochemical and general histological method revealed that the introduction of a carcinogen causes in the thymus, an increase in the number of luminescent granule cells, multidirectional changes in the level of biogenic amines, reduction in area and thickness of the cerebral cortex, which indicates the development of the thymus accidental transformation. In the adrenal glands there are an increase in the number of luminescent cells, a significant increase in the thickness of cortex, as well as changes in the content of biogenic amines. The interaction between the thymus and the adrenal glands is mediated by the cells of APUD series, which include granular luminescent cells able to secrete biogenic amines.

В последние годы экспериментальная иммунология уделяет большое внимание вопросам иммунофизиологии, предметом исследования которой является изучение механизмов взаимодействия иммунной и эндокринной систем [1]. Многочисленные исследования позволили выявить факторы, посредством которых реализуется связь между иммунными и эндокринными органами как при физиологических, так и при патологических состояниях [4]. К последним можно отнести онкологические заболевания, которые занимают одно из лидирующих мест в структуре смертности населения. В настоящей работе представлены результаты морфофункционального исследования тимуса и надпочечников крыс-самок при введении канцерогена N-метил-N-нитрозомочевина.

Эксперименты выполнены на 22 белых нелинейных крысах-самках. Животные были разделены на две группы. Первая группа – интактные крысы.

Вторая группа – животные с введением канцерогена (N-метил-N-нитрозомочевины) в молочную железу из расчета 2,5 мг 1 раз в неделю в течение 5 недель. Выведение животных из эксперимента проводилось через 2 месяца после окончания курса инъекций.

Объектом исследования служили тимус и надпочечники. При этом нами изучались органы лишь тех крыс, у которых гистологически были подтверждены изменения в молочной железе.

В работе использовались:

1. Люминесцентно-гистохимический метод Фалька – Хилларпа в модификации Крохиной – для избирательного выявления серотонина и катехоламинов в тимусе и надпочечниках.

2. Люминесцентно-гистохимический метод Кросса – Эвена – Роста – для идентификации гистаминсодержащих структур тимуса и надпочечников.

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

4. Для характеристики суммарно-направленного действия биогенных аминов вычислялось соотношение $(СТ+ГСТ)/КА$, свидетельствующее о функциональном состоянии клеток органов [2].

5. Окраска гематоксилином и эозином с последующей морфометрией коркового и мозгового вещества надпочечников и долек тимуса.

6. При анализе числовых данных применена описательная статистика: подсчитаны средние значения выборок и стандартное отклонение ($M \pm SD$). Определение значимости межгрупповых различий проводили с использованием критерия Стьюдента. Различия определяли при уровне доверительной вероятности 90%. Статистическая обработка результатов проводилась с применением лицензионной компьютерной программы Statistica 8.

При обработке препаратов надпочечников люминесцентно-гистохимическими методами у животных обеих групп хорошо различаются корковое и мозговое вещество, которые люминесцируют ярко-зеленым свечением. В корковом веществе отчетливо выявляются следующие зоны: клубочковая (наружная), пучковая (средняя) и сетчатая (на границе с мозговым веществом). Свечение биогенных аминов выявляется в капсуле, корковом и мозговом веществе, а также в люминесцирующих гранулярных клетках (ЛГК). Цитоспектрофлуориметрия показала, что у интактных животных преобладает СТ, а уровни ГСТ и КА в корковом и мозговом веществе приблизительно равны. ЛГК у интактных крыс оранжевого свечения и округлой формы, располагаются чаще всего в сетчатой зоне в количестве 1-3 в поле зрения.

После введения канцерогена количество люминесцирующих клеток увеличивается в 1,8 раза ($p \leq 0,01$). При этом встречаются клетки со слабой люминесценцией и размытыми границами, но с плотными гранулами. Уровень биогенных аминов в ЛГК также изменяется: наблюдается достоверное снижение СТ в 1,6 раза и КА – в 1,4 раза, а содержание ГСТ, наоборот, увеличивается в 1,3 раза.

В капсуле достоверно повышаются СТ и КА, что, безусловно, приводит к увеличению соотношения $(СТ+ГСТ)/КА$ в 1,5 раза по сравнению с нормой. Уровень СТ и КА в мозговом веществе, наоборот, достоверно снижается на

40% и 30%, соответственно. В клубочковой зоне содержание КА достоверно снижается в 1,7 раза по сравнению с интактными самками.

Мозговое вещество надпочечников опытной группы при окраске препаратов гематоксилином и эозином особых изменений не претерпевает и состоит из скоплений округлых или многоугольных клеток, между которыми находятся расширенные сосуды. В единичных препаратах выявляются сильно вакуолизированные клетки клубочковой зоны коркового вещества. Проведенная морфометрия выявила, что в этой группе достоверно увеличилась толщина пучковой и клубочковой зон в 2 раза ($p \leq 0,01$) по сравнению с интактными крысами, а площадь мозгового вещества не изменилась.

В тимусе интактных самок при люминесцентной микроскопии визуализируются дольки разной формы и размеров с четкой границей между корковым и мозговым веществом. Вокруг мозгового вещества выявляются яркие крупные полигональной формы ЛГК с гранулами желто-белого свечения – премедуллярные клетки (ПМК). По периферии дольки тимуса беспорядочно располагаются более мелкие субкапсулярные клетки (СКК) с гранулами зеленого свечения. В дольках тимуса также встречаются относящиеся к ЛГК тучные клетки, которые, чаще всего, располагаются попарно, имеют вытянутую форму, внутри цитоплазмы – темное ядро с люминесцирующими гранулами желтого свечения. Известно, что гранулы ЛГК тимуса также содержат биогенные амины.

Через 2 месяца после окончания введения канцерогена тимус крыс незначительно отличается от контрольной группы: граница между дольками сохранена, вокруг мозгового вещества выявляются ПМК небольших размеров в количестве до 5-7 клеток в поле зрения.

Отмечается достоверное увеличение уровня всех биогенных аминов в ПМК и СКК по сравнению с клетками тимуса интактных крыс. Так, уровень ГСТ достоверно возрастает в этих клетках в 2 раза ($p < 0,001$). В тимоцитах мозгового вещества выявляется достоверное снижение уровня ГСТ в 1,5 раза ($p < 0,01$). Содержание КА в тучных клетках возрастает на 51% по сравнению с аналогичным показателем у интактных самок.

При изучении соотношения (СТ+ГСТ)/КА было выявлено увеличение этого показателя в ПМК и СКК в 1,2 и в 1,3 раза, соответственно, что, возможно, свидетельствует о подавлении функциональной активности клеток тимуса. При этом в клетках коркового и мозгового вещества, а также в тучных клетках и их микроокружении, напротив, после воздействия канцерогена наблюдается повышение функциональной активности клеток, о чем говорит уменьшение данного соотношения. Так, в корковом и мозговом веществе оно снижается в 1,7 и в 1,2 раза, соответственно, в тучных клетках и их микроокружении уменьшается в 1,4 раза по отношению показателей интактных крыс.

Площадь мозгового вещества тимуса, а также толщина коркового вещества через 2 месяца после введения N-метил-N-нитрозомочевины достоверно уменьшаются в 3 и в 1,3 раза, соответственно ($p < 0,01$).

Таким образом, нами выявлено, что введение канцерогена N-метил-N-нитрозомочевины вызывает морфофункциональные изменения в органах эндокринной и иммунной системы – в тимусе и надпочечниках.

В тимусе это выражается увеличением количества ЛГК, дисбалансом уровня биогенных аминов, увеличением соотношения (СТ+ГСТ)/КА во всех исследуемых структурах, а также уменьшением площади мозгового и толщи-

ны коркового вещества. По-нашему мнению, подобные изменения свидетельствуют о развивающейся акцидентальной трансформации органа.

В надпочечниках также выявляются рост количества ЛГК, достоверное увеличение толщины коркового вещества, а также изменение содержания биогенных аминов в исследуемых структурах.

Согласно данным литературы, тимус участвует в регуляции гормонального равновесия, действуя параллельно с гипофизарно-надпочечниковым комплексом, так как вилочковая железа способна синтезировать глюкокортикоиды из-за наличия в клетках ферментов и кофакторов, необходимых для стероидогенеза [1, 3]. В свою очередь, функциональное состояние надпочечников зависит от активности тимуса. Известно, что на работу иммунных органов влияет выброс адреналина в кровь из мозгового слоя надпочечников, а также синтез катехоламинов клетками иммунной системы. Последние способны воздействовать на пролиферацию и дифференцировку иммунокомпетентных клеток через специфические рецепторы [1, 3].

Как показало наше исследование, посредниками взаимодействия иммунной и эндокринной систем являются клетки АПУД-серии, способные при их стимуляции секретировать те или иные иммунорегулирующие факторы, в том числе и биогенные амины.

Литература

1. Самотруева М.А., Теплый Д.Л., Тюреньков И.Н. Пути реализации нейро-иммуно-эндокринных взаимодействий // Естественные науки. 2009. № 4. С. 112–130.
2. Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Москвичев Е.В., Кострова О.Ю., Михайлова М.Н., Мухаммад З., Бессонова К.В. Морфологические изменения тимуса после применения полиоксидония // Фундаментальные исследования. 2012. № 5-1. С. 197–202.
3. Шилов Ю.И., Орлова Е.Г., Ланин Д.В. Роль адренергических механизмов в реализации иммуномодулирующих эффектов глюкокортикоидов при стрессе // Вестник Уральской медицинской академии наук. 2004. № 4. С. 87–93.
4. Elenkov I.J. Neurohormonal-cytokine interactions: implications for inflammation, common human diseases and well-being. *Neurochem Int.*, 2008, vol. 52(1-2), pp. 40–51.

References

1. Samotrujeva M.A., Teplyi D.L., Tyurenkov I.N. *Puti realizatsii neuro-immuno-endokrinnnykh vzaimodeistvii* [Ways of neuro-immuno-endocrine interactions realization]. *Estestvennye nauki* [Natural sciences]. 2009, no. 4, pp. 112–130.
2. Struchko G.Yu., Merkulova L.M., Moskvichev E.V., Kostrova O.Yu., Mikhailova M.N., Mukhammad Z., Bessonova K.V. *Morfologicheskie izmeneniya timusa posle primeneniya polioksidoniya* [Morphological changes of thymus after use polioxidonium] *Fundamental'nye issledovaniy* [Fundamental research], 2012, no. 5-1, pp. 197–202.
3. Shilov Yu.I. *Rol' adrenergicheskikh mekhanizmov v realizatsii immunomoduliruyushchikh effektiv glyukokortikoidov pri stresse* [The role of adrenergic mechanisms in realization of immunomodulating effects of glucocorticoids under stress]. *Vestnik Ural'skoi med. akademii nauk* [Bulletin of the Ural Academy of Medical Sciences], 2004, no. 4, pp. 87–93.
4. Elenkov I.J. Neurohormonal-cytokine interactions: implications for inflammation, common human diseases and well-being. *Neurochem Int.*, 2008, vol. 52(1-2), pp. 40–51.

КОСТРОВА ОЛЬГА ЮРЬЕВНА – кандидат медицинских наук, доцент кафедры инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (evkbiz@yandex.ru).

KOSTROVA OLGA – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor of the Instrumental Diagnostics Department with a course of Phthisiology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

МЕРКУЛОВА ЛАРИСА МИХАЙЛОВНА – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (merkulova192@mail.ru).

MERKULOVA LARISA – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Normal and Topographic Anatomy Department with Operative Surgery, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

КОТЁЛКИНА АНАСТАСИЯ АНДРЕЕВНА – ассистент кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары.

KOTYOLKINA ANASTASIA – Assistant Lecturer of Normal and Topographic Anatomy Department with Operative Surgery, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

СТОМЕНСКАЯ ИРИНА СТАНИСЛАВОВНА – кандидат медицинских наук, доцент кафедры инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары.

STOMENSKAYA IRINA – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor of the Instrumental Diagnostics Department with a course of Phthisiology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

СТРУЧКО ГЛЕБ ЮРЬЕВИЧ – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой инструментальной диагностики с курсом фтизиатрии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (glebstr@mail.ru).

STRUCHKO GLEB – Doctor of Medical Sciences, Head of Department of the Instrumental Diagnostics Department with a course of Phthisiology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

МИХАЙЛОВА МАРИНА НИКОЛАЕВНА – кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной и топографической анатомии с оперативной хирургией, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (mar3007@mail.ru).

MIKHAYLOVA MARINA – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor, Normal and Topographic Anatomy Department with Operative Surgery, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.
