

*Котёлкина А.А., Меркулова Л.М., Кострова О.Ю.*

**РЕАКЦИЯ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ТИМУСА НА КАНЦЕРОГЕНЕЗ,  
ВОДНОИММОБИЛИЗАЦИОННЫЙ СТРЕСС И СОЧЕТАННОЕ  
ДЕЙСТВИЕ ФАКТОРОВ**

*Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова,  
г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия*

*С помощью люминесцентногистохимических и гистологических методов изучена популяция тучных клеток тимуса крыс – самок через 2 месяца после введения канцерогена и сочетанного воздействия факторов. В ходе исследования выявлено уменьшение количества тучных клеток в тимусе, их активная дегрануляция и увеличение содержания в них биогенных аминов*

*Ключевые слова: тимус, тучные клетки, канцерогенез, водноиммобилизационный стресс, биогенные амины.*

*A.A.Kotelkina, L.M.Merkulova, O.Y.Kostrova*

**THE REACTION OF THE FAT CELLS OF THE THYMUS IN  
CARCINOGENESIS, WATERIMMOBILIZATION STRESS AND THE  
COMBINED ACTION OF FACTORS**

*Department of instrumental diagnostics*

*Chuvash State University named after IN Ulyanova, Cheboksary, Russia*

*Using lyuminestsentnykh and histological methods studied population the fat cells of the thymus female rats after 2 months after administration of the carcinogen and combined effects of factors. The study revealed a reduction in the number of fat cells in the thymus, their active degranulation and increased content of biogenic amines*

*Key words: thymus, fat cells, carcinogenesis, waterimmobilization stress, biogenic amines.*

**Введение.** Проблема адаптации организма при воздействии стрессовых факторов на сегодняшний день является одной из ведущих проблем в медицине. Длительное влияние внешних физических и эмоциональных раздражителей приводит к накоплению негативных воздействий стресса на организм. Прежде всего это проявляется подавлением иммунной системы, вследствие чего может активироваться процесс злокачественного роста клеток. О значении тучных клеток (ТК) в процессе формирования общего адаптационного синдрома говорил еще Г.Селье. На сегодняшний день изучение

их роли в развитии новообразований и функциональных возможностей при воздействии на организм стрессовых факторов продолжается.

**Цель исследования** - изучить морфофункциональную характеристику тучных клеток тимуса и активность в них биогенных аминов через 2 месяца после введения канцерогена N-метил-N-нитрозомочевины или воздействия стресса и при сочетанном влиянии этих факторов.

**Материалы и методы исследования.** Работа проведена на 64 белых нелинейных крысах-самках массой 250-350 грамм. Животные содержались в виварии с соблюдением правил содержания лабораторных животных. Крысы были разделены на 4 группы. Первая – интактные. Вторая группа - крысы после введения канцерогена (N-метил-N-нитрозомочевины) в дозе 2,5 мг/кг еженедельно в течение пяти недель в область одной молочной железы. Третья группа – самки, подвергавшиеся воздействию водноиммобилизационного стресса по 5 часов в течение 10 дней. Четвертая – крысы после введения канцерогена и воздействия стресса через месяц от начала введения канцерогена по 5 часов в течение 10 дней. Выведение животных из эксперимента осуществлялось через 2 месяца после окончания всех воздействий, путем декапитации. Объект изучения – тимус.

При патоморфологическом исследовании установлено, что через 2 месяца после введения канцерогена в молочной железе определяется пролиферация долек, фиброзно - кистозная мастопатия с дисплазией.

В работе использовались следующие методы:

1. Люминесцентно-гистохимические методы: Фалька-Хилларпа для избирательного определения катехоламинов (КА) и серотонина (СТ); Кросса-Эвена-Роста для избирательного определения в структурах тимуса гистамина (ГСТ).

2. Цитоспектрофлюориметрия – для определения уровня биогенных аминов (в условных единицах (у.е.)) с помощью спектрофлуориметрической насадки ФМЭЛ – 1А на микроскопе ЛЮМАМ–4.

3. Определение соотношения (СТ+ГСТ)/КА для характеристики

суммарно-направленного влияния биогенных аминов (БА), свидетельствующее о функциональном состоянии клеток.

4. Метод окраски полихромным толуидиновым синим по Унна – для качественного и количественного определения популяции тучных клеток тимуса. По степени дегрануляции ТК подразделяют: Т-0 — недегранулированные тучные клетки с плотно заполненными неразличимыми гранулами и ядром; Т-1 — клетки с отдельно различимыми гранулами и частично замаскированным ядром; Т-2 – клетки с хорошо различимыми гранулами внутри и вокруг клетки и отчетливым ядром; Т-3 — опустошенные тучные клетки с единичными гранулами внутри и рассеянными гранулами вокруг клетки. Вычисляли индекс дегрануляции (ИД) по формуле:  $ИД = (А \times 0 + Б \times 1 + В \times 2 + Г \times 3) / n$ , где А – недегранулированные клетки, Б – слабо дегранулированные, В – умеренно дегранулированные, Г – сильно дегранулированные клетки, n – суммарное количество тучных клеток [1].

5. Статистическая обработка данных включала подсчет среднего значения выборок и стандартного отклонения ( $M \pm SD$ ). Достоверность полученных результатов оценивали по критерию Стьюдента ( $p \leq 0,01$ ).

**Результаты исследований.** При люминесцентной микроскопии в корковом веществе тимуса интактных крыс визуализируются ТК овальной или округлой формы с выраженным ядром, в цитоплазме клетки видны люминесцирующие гранулы желтого цвета. При цитоспектрофлуориметрии в гранулах ТК обнаруживаются биогенные амины: гистамин (ГСТ), серотонин (СТ), катехоламины (КА). Интенсивность люминесценции ГСТ в ТК интактных животных составила  $0,77 \pm 0,06$  у.е., СТ –  $0,9 \pm 0,05$ , КА –  $0,25 \pm 0,005$  у.е.

При исследовании гистологических срезов, окрашенных по методу Унна, в междольковых промежутках визуализируются тучные клетки. Число клеток в 10 полях зрения - 78. По степени дегрануляции преобладают недегранулированные (Т-0) и слабодегранулированные (Т-1) клетки, составляя 28% и 33% соответственно. ИД достигает величины 1,14.

Через 2 месяца после окончания курса введения канцерогена уровень ГСТ и СТ в гранулах тучных клеток достоверно увеличивается по сравнению с интактными животными в 1,8 и в 1,5 раза соответственно ( $p < 0,01$ ). Соотношение (СТ+ГСТ)/КА возрастает на 78% по сравнению с группой интактных животных. Общее количество ТК (окраска по Унна) возрастает до 106, при этом выявляется увеличение количества дегранулированных (Т-2) и опустошенных (Т-3) форм, они составили 25% и 22% соответственно. ИД увеличивается до 1,5.

В тимусе крыс, подвергшихся воздействию водноиммобилизационного стресса, обнаруживается еще большее достоверное увеличение уровня ГСТ (1,95 у.е.) и СТ (1,83 у.е.) по сравнению с интактными животными в 2,5 и 2 раза соответственно ( $p < 0,01$ ). Соотношение (СТ+ГСТ)/КА увеличивается на 48% по сравнению с интактными крысами. При стрессовом воздействии общее количество ТК в тимусе снижается до 69. По сравнению с контрольной группой выявлено увеличение количества дегранулированных и полностью опустошенных клеток, их процентное соотношение от общего количества ТК составило 29% и 32% соответственно. Увеличивается ИД – до 1,8.

Через два месяца после окончания комбинированного воздействия факторов уровень ГСТ в гранулах ТК достоверно возрастает в 2,8 раза по сравнению с интактными животными и в 1,8 раза по сравнению с животными после введения канцерогена, увеличивается уровень КА - в 3 раза по сравнению с самками после введения канцерогена и в 3,6 раз по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,01$ ). Соотношение (СТ+ГСТ)/КА уменьшается на 56% по сравнению с интактными животными и на 45% по сравнению с самками после введения канцерогена.

При обработке срезов полихромным толуидиновым синим общее количество ТК в данной группе составляет 49 клеток. На фоне снижения общего количества ТК наблюдается преобладание дегранулированных (Т-2) и полностью опустошенных (Т-3) форм, их количество составляет по 28%. ИД равен 1,7.

**Обсуждение результатов.** Таким образом, полученные данные показали, что при развитии злокачественного процесса в молочной железе на фоне стрессового воздействия общее количество ТК снижается более всего: в 1,5 раза по сравнению с интактными животными и в 2 раза по сравнению с крысами, подвергшимися только воздействию канцерогена. Возможно, этот процесс связан с миграцией ТК к патологическому очагу или вызван дегрануляцией и распадом клеток.

Что касается соотношения (СТ+ГСТ)/КА, то через 2 месяца после введения канцерогена оно увеличивается на 78%, что свидетельствует о подавлении активности клеток [2]. У крыс после сочетанного воздействия факторов показатель данного соотношения снижается на 56% по сравнению с интактными животными и на 45% по сравнению с крысами после введения канцерогена, что свидетельствует об увеличении функциональной активности клеток. Это связано с достоверным увеличением уровня катехоламинов при комбинированном воздействии канцерогена и стресса. По данным литературы известно, что типичной реакцией ТК на стресс является их тотальная дегрануляция и перераспределение между тканями. Тучные клетки при развитии патологических процессов моментально реагируют, выделяя биогенные амины, нейропептиды и провоспалительные цитокины.

**Вывод.** В процессе злокачественного роста в молочной железе на фоне стрессового воздействия нами выявлено снижение количества ТК в тимусе, усиление процессов их дегрануляции и изменения уровня биогенных аминов, что свидетельствует об активном участии тучноклеточной популяции тимуса в развитии ответной реакции на воздействие изученных факторов.

Список литературы:

1. Козлов А.А. Возрастные изменения тучноклеточной популяции вилочковой железы у крыс // Вестник Челябинского государственного университета. - 2013.-№7.- С.147-148.
2. Стручко Г.Ю. Морфологические особенности тимуса у потомства крыс с иммунодефицитной беременностью / Г.Ю. Стручко, Л.М. Меркулова, Е.В. Москвичев, О.Ю.Кострова, М.Н. Михайлова // Вопросы клинической медицины. Материалы научно-практической конференции, Чебоксары. – 2011.- С.177-179.