

ТЕОРЕТИЧНА І ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

УДК 616.4-092.9-099:543.395:612.015.11:57.083.185(043.3)

О.В. Авилова, Д.Н. Шиян

Харьковский национальный медицинский университет

ВЛИЯНИЕ КСЕНОБИОТИКОВ НА СТРУКТУРНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ ТИМУСА

Ксенобиотики оказывают иммуносупрессивное действие, морфогенез которого остается малоизученным. Понимание того, как загрязнение окружающей среды влияет на иммунную реакцию, не только помогает в эффективном регулировании загрязнителей и улучшении здоровья населения, но и приводит к переосмыслению основных функций иммунной системы. В связи с этим выявляли особенности структурной организации тимуса под воздействием триглицидилового эфира полиоксипропилентриола (ТЭППТ) и полипропиленгликоля (ПГ). В подостром эксперименте изучали изменения структуры тимуса зрелых крыс-самцов после введения 1/10 и 1/100 LD₅₀ ТЭППТ и ПГ на 7-, 15-, 30- и 45-й день. Гистологические микропрепараты изучали с выполнением морфометрических и статистических исследований. Выявлены изменения морфологических данных по сравнению с таковыми у контрольных животных, которые указывают на реактивность тимуса в ответ на индуцированный ксенобиотик. Полученные и проанализированные данные свидетельствуют о морфологических изменениях тимуса, в частности об изменениях соотношения относительных объемов коркового, мозгового вещества и стромы. Тимус чувствителен к воздействию ксенобиотиков, в данном случае лапроксидов, что отражается на его структурной организации.

Ключевые слова: *тимус, гистология, ксенобиотики, полиэфиры.*

Введение

Развитие человеческой цивилизации последних десятилетий тесно связано с процессами распределения продуктов питания, поскольку хроническая нехватка времени в высокоразвитых обществах привела к изменениям образа жизни и моделей потребления [1]. Научные достижения в различных областях жизни привели к созданию все большего количества чужеродных веществ, известных как ксенобиотики. Различные химические вещества пагубно влияют на организм и, таким образом, на все человечество. Разнообразные ксенобиотики оказывают иммуносупрессивное действие, и, следовательно, организм становится чувствительным к ви-

русным, бактериальным и паразитарным заболеваниям [2]. Кроме того, следует учитывать, что загрязнение окружающей среды может оказывать неблагоприятное воздействие на иммунную систему. Многие классы ксенобиотиков могут подавлять или усиливать иммунную реакцию в зависимости от уровня (то есть дозы) и контекста (то есть длительности, пути проникновения) воздействия [3]. Иммунная система реагирует чувствительно на концентрацию химических веществ, которые еще нетоксичны для других систем организма [2]. Понимание того, как загрязнение окружающей среды влияет на иммунную реакцию, не только помогает в эффективном регулировании загрязнителей и улучшении

© О.В. Авилова, Д.Н. Шиян, 2018

здоровья населения, но и приводит к переосмыслению основных функций иммунной системы [3].

Иммунная система играет решающую роль в поддержании здоровья, при этом накопленные данные указывают на то, что эта система может быть целью иммунотоксических эффектов, вызываемых различными химическими веществами. Тимус является первичным лимфоидным органом, который не только проявляет динамические физиологические изменения по мере старения, но и чрезвычайно чувствителен к стрессу и токсическому воздействию [4], при этом часто является ключевым органом в реакции организма на иммунотоксические ксенобиотики.

Одним из типов ксенобиотиков является класс простых полиэфиров, относящихся к группе под названием «лапроксины», которые используются в различных отраслях народного хозяйства для получения пластиков, эпоксидных смол, лаков, эмалей, адгезивов и т. д. [5, 6]. Среди указанных веществ в машиностроительной, радиотехнической, фармацевтической, химической, авиационной, автомобильной и других отраслях народного хозяйства широко используются триглицидиловый эфир полиоксипропилентриола (ТЭППТ) и полипропиленгликоль (ПГ). Из-за больших объемов их использования в производстве, широкого контакта с популяцией, отсутствия прогностических характеристик потенциальной опасности для людей и теплокровных животных, а также в силу необходимости объяснения патологических механизмов структурных и метаболических процессов со стороны иммунной системы изучение влияния ТЭППТ и ПГ на тимус представляется важной медицинской и социальной проблемой. Поскольку здоровье человека является продуктом как генетики, так и окружающей среды, справедливо предположить данное и для иммунной системы с неизученными морфогенетическими аспектами. В связи с этим **целью** нашей работы явилось установление особенностей структурной организации тимуса под воздействием триглицидилового эфира полиоксипропилентриола и полипропиленгликоля.

Материал и методы

Экспериментальное исследование, являющееся частью научной темы кафедры анатомии человека Харьковского национального

медицинского университета «Морфологические особенности органов и систем организма человека на этапах онтогенеза» (номер государственной регистрации 0114U003388), проведено на половозрелых самцах крыс линии WAG массой (200±10) г. Животные одинакового возраста были разделены на две группы: контрольную и экспериментальную. Первая группа – контрольные животные (4 подгруппы по 8 животных в каждой), которые получали обычную диету и обычное количество воды. Вторая группа – экспериментальные животные, случайным образом разделенные на 8 подгрупп по 8 крыс в каждой в зависимости от дозы индуцированного простого полиэфира и продолжительности введения: 7, 15, 30 и 45 дней. Всех животных содержали в обычной среде вивария Харьковского национального медицинского университета в помещении с контролируемой температурой (20±2) °С, влажностью (65±10)%. Всем крысам второй группы через желудочный зонд в течение 7, 15, 30 и 45 дней вводили водный раствор ТЭППТ (первая серия) и ПГ (вторая серия) в дозах 1/10 и 1/100 LD₅₀ в пересчете на 5,75 г/кг. Потребление пищи и массу тела измеряли каждые два дня. В указанные сроки животных выводили из эксперимента методом цервикальной дислокации в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 18.03.86), принципами закона Украины № 3447-IV о защите животных от жестокого обращения.

Полученный материал фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине в течение 24 часов, подвергали стандартной обработке и заливали в парафин. Из готовых блоков изготавливали серийные срезы толщиной 5×10⁻⁶ м. Предметные стекла окрашивали гематоксилином и эозином, по ван Гизону [7]. Гистологическое исследование удаленных тимусов проводили в соответствии с принятыми рекомендациями на микроскопе «Olympus BX41» (Япония) с последующим морфометрическим исследованием с использованием программы «Olympus DP-soft 3.12». Все значения выражены в виде среднего значения, стандартного отклонения и стандартной ошибки среднего значения для статистического анализа. Статистическое сравнение проводили с использованием критерия Ман-

на–Уитни для статистического анализа [8]. Принятый уровень значимости был $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Ранее нами были описаны данные, касающиеся макроскопических и гистологических изменений селезенки под влиянием ТЭППТ [6] и свидетельствующие о том, что селезенка очень чувствительна к воздействию ксенобиотиков.

При гистологическом исследовании тимуса выявлено его дольчатое строение, при этом дольки имеют различную величину, округлую или полигональную форму. Междольковая соединительная ткань в тимусе контрольных животных слабо выражена, в ее составе отмечаются фибробласты и фиброциты, при этом преобладают фибробласты. В дольках тимуса визуализируются корковое и мозговое вещество вследствие разной плотности клеточных элементов. Характерной чертой мозгового вещества является наличие телец Гас-сала, которые представляют собой концентрические скопления перерождающихся звездчатых тимоцитов.

Через 7 суток после введения ксенобиотиков при гистологическом исследовании тимуса выявляются многочисленные апоптотические тельца, которые сосредоточены преимущественно в субкапсулярной зоне, особенно заметной при использовании $1/10$ LD₅₀ ТЭППТ. На фоне апоптоза тимоцитов в *cortex* становятся заметными межклеточное вещество и клетки стромы (рис. 1), которые обычно сложно увидеть из-за высокой плотности расположения тимоцитов. Под действием

ксенобиотиков из-за снижения клеточной плотности сосуды визуализируются на большом протяжении, что создает впечатление искривления сосудов. Описанные изменения привели к нарушению соотношения относительных объемов коркового, мозгового вещества и стромы (таблица), которые лучше визуализируются в микропрепаратах, окрашенных по ван Гизону (рис. 2).

Структурные изменения в тимусе животных свидетельствуют о реакции органа иммунной системы, которую некоторые авторы связывают с увеличением частоты апоптоза и снижением уровня пролиферации клеток в ответ на действие неблагоприятного фактора [2, 9].

Наши результаты подтверждают данные авторов [10] о том, что влияние ТЭППТ и ПГ в тимусе напрямую связано с потерей тимоцитов вследствие активации апоптоза и появления дегенеративных изменений. Это может привести к иммуносупрессии, поскольку оценка иммунотоксической активности агентов как часть оценки риска в настоящее время установлена *in vivo* на животных моделях и *in vitro* с клеточными линиями или первичными клетками в различных органах под воздействием ксенобиотиков [11].

Нарушения соотношения структурных компонентов тимуса из-за иммунотоксических эффектов ксенобиотиков или их метаболитов на клеточные популяции могут еще больше отразиться на функции тимуса как одного из основных органов иммунной системы со снижением клеточности, что может свидетельствовать о дефиците иммунных реакций [12].

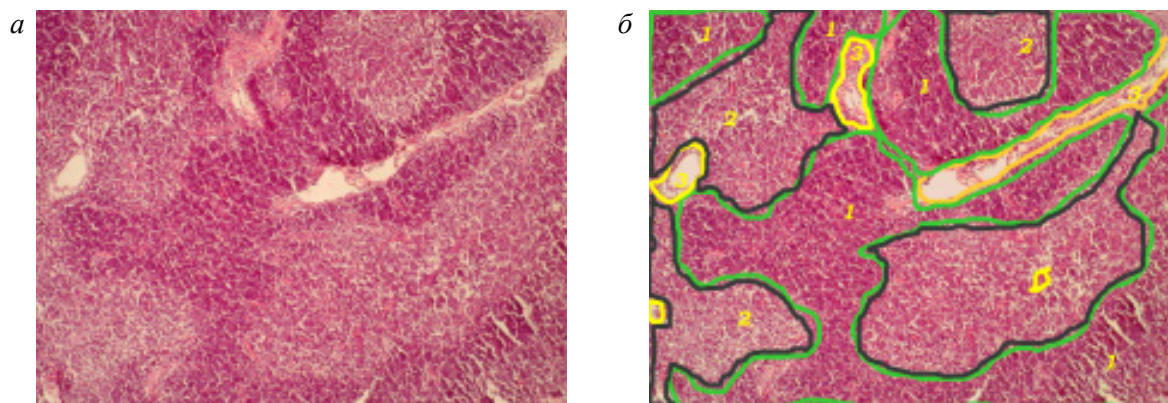


Рис. 1. Тимус животного через 7 дней после применения $1/100$ LD₅₀ ТЭППТ. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$: а – обнажение стромальных элементов; б – выделение коркового (1), мозгового вещества (2) и стромы тимуса (3)

Динамика относительной плотности коркового, мозгового вещества и стромы тимуса при использовании ТЭППТ и ПГ, %

Группа		Зона	7 дней	15 дней	30 дней	45 дней
Контрольная		КВ	65,3±3,2	64,5±3,6	65,2±3,7	65,2±3,9
		МВ	30,6±3,9	31,1±3,4	30,4±3,7	30,8±3,8
		Строма	4,4±1,0	4,3±1,1	4,4±1,1	4,4±1,2
ТЭППТ	1/100 LD ₅₀	КВ	60,94±4,11	58,13±4,11	55,13±5,93	54,13±3,96*
		МВ	30,34±3,66	32,15±3,71	33,18±3,62	32,14±3,41
		Строма	8,60±1,83	9,70±1,77	11,60±2,32	13,70±1,34*
	1/10 LD ₅₀	КВ	58,63±4,78	55,31±4,22	51,01±5,18	48,30±4,23*
		МВ	31,14±3,24	31,34±3,66	33,37±3,51	34,70±3,18*
		Строма	9,90±2,74*	13,30±2,72*	15,70±2,44*	17,20±2,21*
ПГ	1/100 LD ₅₀	КВ	64,08±4,99	60,08±4,57	58,98±4,44	57,98±4,44
		МВ	29,56±3,62	31,12±3,23	31,48±3,28	31,07±2,21
		Строма	6,30±0,91	8,70±1,66*	9,80±1,55*	10,90±1,57*
	1/10 LD ₅₀	КВ	63,23±4,28	60,4±3,8	57,6±3,8*	55,4±3,6
		МВ	27,57±3,78	29,1±3,4	30,1±3,4	31,4±3,7
		Строма	9,20±2,24	11,4±1,6*	12,3±1,6*	13,2±1,2*

Примечания: 1. КВ – корковое вещество; МВ – мозговое вещество.

2. * p<0,05; разница достоверна при сравнении с показателем контроля.

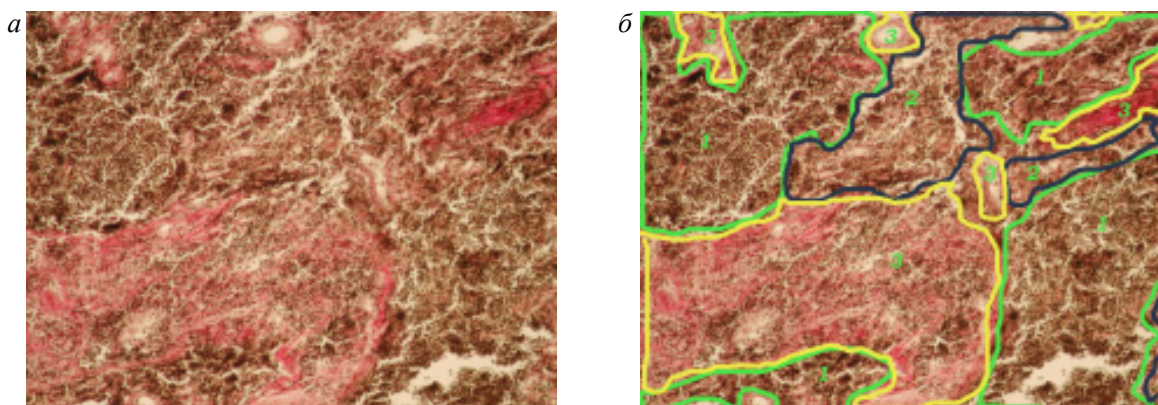


Рис. 2. Тимус животного через 45 дней после применения 1/10 LD₅₀ ТЭППТ. Окраска по ван Гизону, увеличение × 200: а – увеличение относительного объема стромальных компонентов; б – то же после выделения коркового (1), мозгового вещества (2) и стромы тимуса (3)

Индукция 1/10 и 1/100 LD₅₀ характеризуется сильным воздействием на тимус крыс, которое, по-видимому, объясняется дозой. Следовательно, эта доза оказывает статистически значимое влияние почти на все показатели морфометрии на 45-й день.

Выводы

1. Под воздействием триглицидилового эфира полиоксипропилентриола в тимусе крыс наблюдается изменение относительного объе-

ма коркового вещества на 48,13 %, мозгового вещества – на 30,34 % и стромы – на 8,6 %.

2. Под воздействием полипропиленгликоля в тимусе крыс-самцов изменяется относительный объем коркового вещества на 55,4 %, мозгового вещества – на 29,1 % и стромы – на 6,3 %.

3. Изменения данных соотношений в структуре тимуса крыс зависят от дозы (1/10, 1/100 LD₅₀) и длительности воздействия ксенобиотика.

Список літератури

1. *Szczepanska N.* Recent advances in assessing xenobiotics migrating from packaging material – A review / N. Szczepanska, B. Kudlak, J. Namiesnik // *Anal. Chim. Acta.* – 2018. – Vol. 1023. – P. 1–21.
2. *De Jong W. H.* Screening of xenobiotics for direct immunotoxicity in an animal study / W. H. De Jong, H. Van Loveren // *Methods.* – 2007. – Vol. 41 (1). – P. 3–8.
3. *Kreitinger J. M.* Environmental immunology: lessons learned from exposure to a select panel of immunotoxicants / J. M. Kreitinger, C. A. Beamer, D. M. Shepherd // *J. Immunol.* – 2016. – Vol. 196 (8). – P. 3217–3225.
4. Constitutively active aryl hydrocarbon receptor expressed specifically in T-lineage cells causes thymus involution and suppresses the immunization-induced increase in splenocytes / K. Nohara, X. Pan, S. Tsukumo [et al.] // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 174 (5). – P. 2770–2777.
5. National toxicology program nonneoplastic lesion atlas: a guide for standardizing terminology in toxicologic pathology for rodents [Internet] // Research Triangle Park, NC : National Toxicology Program, 2014 [cited 2017 Jun. 21]. – Available from : <https://ntp.niehs.nih.gov/index.cfm>.
6. Microscopic features of the spleen under the influence of laproxides / O. Avilova, D. Marakushin, O. Nakonechna, V. Gargin // *Georgian Med. News.* – 2018. – № 2 (275). – P. 163–167.
7. *Avwioro G.* Histochemical uses of haematoxylin – a review / G. Avwioro // *JPCS.* – 2011. – Vol. 1. – P. 24–34.
8. *Myers J. L.* Research design and statistical analysis / J. L. Myers, A. D. Well. – [2nd ed.]. – Lawrence Erlbaum, 2003. – 508 p.
9. Multiscale distribution and bioaccumulation analysis of clofazimine reveals a massive immune system-mediated xenobiotic sequestration response / J. Baik, K. A. Stringer, G. Mane, G. R. Rosania // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2013. – Vol. 57 (3). – P. 1218–1230.
10. *Sutjarit S.* Fusarenon-X-induced apoptosis in the liver, kidney, and spleen of mice / S. Sutjarit, A. Poapolathep // *J. Toxicol. Pathol.* – 2016. – Vol. 29 (3). – P. 207–211.
11. *Sewald K.* Assessment of immunotoxicity using precision-cut tissue slices / K. Sewald, A. Braun // *Xenobiotica.* – 2013. – Vol. 43 (1). – P. 84–97.
12. Cell-autonomous defects in thymic epithelial cells disrupt endothelial-perivascular cell interactions in the mouse thymus / J. L. Bryson, A. V. Griffith, B. Hughes [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8 (6). – e65196.

О.В. Авілова, Д.М. Шиян

ВПЛИВ КСЕНОБІОТИКІВ НА СТРУКТУРНУ ОРГАНІЗАЦІЮ ТИМУСА

Ксенобіотики справляють імуносупресивну дію, морфогенез якої залишається маловивченим. Розуміння того, як забруднення навколишнього середовища впливає на імунну реакцію, не тільки допомагає в ефективному регулюванні забруднювачів і поліпшенні здоров'я населення, а й приводить до переосмислення основних функцій імунної системи. У зв'язку з цим виявляли особливості структурної організації тимуса під впливом тригліцидилового ефіру поліоксипропілентріолу (ТЕППТ) і поліпропіленгліколю (ПГ). У підгострому експерименті вивчали зміни структури тимуса зрілих шурів-самців після введення 1/10 і 1/100 LD₅₀ ТЕППТ і ПГ на 7-му, 15-ту, 30-ту і 45-ту доби. Гістологічні мікропрепарати вивчали із застосуванням морфометричних і статистичних методів досліджень. Виявлено зміни морфологічних даних у порівнянні з такими у контрольних тварин, які вказують на реактивність тимуса у відповідь на індукований ксенобіотик. Отримані і проаналізовані дані свідчать про морфологічні зміни тимуса, зокрема про зміни співвідношення відносних об'ємів коркової, мозкової речовини та строми. Тимус чутливий до впливу ксенобіотиків, у даному випадку лапроксидів, що позначається на його структурній організації.

Ключові слова: тимус, гістологія, ксенобіотики, поліефіри.

O.V. Avilova, D.N. Shyian

THE INFLUENCE OF XENOBIOTICS ON THE STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE THYMUS

Xenobiotics have an immunosuppressive effect, the morphogenesis of which remains poorly understood. Understanding how environmental pollution affects the immune response not only helps in effective pollutants control and public health improvement but also provides new insights into the basic functions

of the immune system. The features of the structural organization of the thymus under the influence of triglycidyl ether of polyoxypropylentriol (TEPPT) and polypropylene glycol (PPG) was identified. In the subacute experiment, changes in the thymus structure of mature male rats after the administration of 1/10 and 1/100 LD₅₀ of TEEPТ and PPG were studied on days 7th, 15th, 30th and 45th. Histological microspecimens were investigated with morphometric and statistical studies. We have identified changes in morphological data compared to data of control animals, which indicate the reactivity of the thymus in response to induced xenobiotic. Obtained and analyzed data indicate the morphological changes of the thymus, in particular, changes in the ratio of the relative volumes of the cortex, medulla, and stroma. Thymus is sensitive to the effects of xenobiotics, in this case, laproxides, which is reflected in its structural organization.

Keywords: *thymus, histology, xenobiotics, polyethers.*

Надійшла 23.05.18

Відомості про авторів

Авілова Ольга Володимирівна – аспірант кафедри анатомії людини Харківського національного медичного університету.

Адреса: 61022, м. Харків, пр. Науки, 4, Харківський національний медичний університет.

Тел.: +38(057)700-36-26.

E-mail: ukraine.doctor2015@gmail.com.

ORCID: 0000-0003-4508-8336.

Шиян Денис Миколайович – доктор медичних наук, доцент, заступник директора Навчально-наукового інституту з підготовки іноземних громадян ХНМУ.

Адреса: 61022, м. Харків, пр. Науки, 4, Харківський національний медичний університет.

Тел.: +38(063)853-25-67.

E-mail: den.doctor@rambler.ru.

ORCID: 0000-0002-3755-7051.