

ФАРМАКОЛОГІЯ

УДК 591.441:591.443:615.375

С. А. Кащенко, М. В. Золотаревская, А. А. Захаров,
О. А. Чурилин, М. А. Бородина

ИЗМЕНЕНИЯ ОРГАНОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТИМУСА И СЕЛЕЗЕНКИ БЕЛЫХ КРЫС ПОЛОВОЗРЕЛОГО ВОЗРАСТА ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ВЫСОКОЙ ДОЗЫ ЦИКЛОФОСФАНА

Тимус-зависимые лимфоциты обеспечивают развитие специфического иммунного ответа при попадании во внутреннюю среду организма определенного антигена. Пролиферация и дифференцировка Т-лимфоцитов происходит в течение всего периода онтогенеза и включает претимический (костный мозг), внутритимический и посттимический (периферические органы иммунной системы) этапы, в течение которых происходит размножение, миграция и гибель клеток [1].

К центральным органам иммуногенеза, где развиваются и подвергаются первичному клональному отбору незрелые Т-лимфоциты, принадлежит тимус. К функциям тимуса относится контроль миграции созревающих лимфоцитов в Т-зависимые зоны периферических органов иммунной системы, важнейшим из которых является селезенка. Ее сложное анатомическое строение, включающее тимусзависимые, тимуснезависимые и макрофагальные элементы, создает благоприятные условия для кооперации клеток в иммунном ответе [2]. Темп миграции созревших Т-лимфоцитов из вилочковой железы в селезенку не зависит от потребности периферического отдела иммунной системы в Т-клетках и является постоянной величиной. В ответ на антигенную стимуляцию в селезенке происходит дифференцировка Т- и В-лимфоцитов при участии стромального микроокружения и антигенпредставляющих клеток [3; 4].

В экологически неблагоприятных условиях существования отмечается снижение уровня CD3+, CD4+, CD8+ лимфоцитов в крови, что приводит к развитию вторичной иммунной недостаточности в виде злокачественных опухолей, аутоиммунных и аллергических заболеваний [5]. В схемах лечения указанных болезней применяется иммунодепрессант циклофосфан, основное действие которого связано с подавлением пролиферации предшественников В-лимфоцитов, около 96% которых находится в костном мозге [6]. Препарат также проявляет свое иммуносупрессивное действие на Т-лимфоциты посредством влияния на уровень OPGL [7]. Доказано, что функциональная активность лимфоидной ткани после введения циклофосфана снижается в

зависимости от дозировки препарата [8; 9]. Терапия высокими дозами циклофосфана (200 мг/кг) вызывает полное репрограммирование иммунной системы [10].

В современной научной литературе широко освещены вопросы, касающиеся изучения иммунологических изменений после применения данного цитостатика. Однако работы морфологического направления, которые описывают структуру тимуса и селезенки после введения циклофосфана в высокой дозе, отсутствуют. Поэтому целью исследования было изучение органомерических показателей тимуса и селезенки половозрелых крыс при иммуносупрессии, индуцированной применением циклофосфана.

Исследование проводилось на 36 беспородных белых крысах-самцах половозрелого возраста массой 210 – 250 г. Животных разделили на 2 группы по 18 крыс. Крысам 1 группы вводили циклофосфан однократно внутримышечно 200 мг/кг массы тела. Интактные животные 2 группы служили контролем. Выведение крыс из эксперимента проводили путем декапитации под эфирным наркозом на 7, 30 и 90-е сутки после введения препарата. После извлечения определяли массу тимуса и селезенки (мг) с помощью торсионных весов, измеряли длину, ширину и толщину левой доли вилочковой железы и всей селезенки (мм) с использованием штангенциркуля. Полученные данные обрабатывали с помощью статистической программы «Statistica 6.0». Оценку статистической значимости различий между показателями экспериментальной и контрольной групп определяли с помощью критерия Стьюдента ($p < 0,05$).

Масса тимуса животных на 7-е сутки после инъекции циклофосфана имела минимальное значение – $205,72 \pm 9,82$ мг (табл. 1).

В дальнейшем масса тимуса постепенно увеличивалась и максимального значения достигала на 90-е сутки после введения препарата, что составило $300,87 \pm 10,57$ мг. В сравнении с контролем на 7-е сутки наблюдения масса тимуса подопытных животных была достоверно меньше на 25,37%, на 30-е сутки – на 6,30%. На 90-е сутки после введения препарата показатель был выше контрольного на 22,02%.

Применение циклофосфана вызывало выраженные изменения органомерических показателей тимуса половозрелых животных на ранних сроках наблюдения: длина левой доли была статистически значимо меньше контрольных данных на 20,18 и 17,51%, ширина – на 6,87 и 12,06%, толщина – на 27,27 и 17,97% соответственно 7 и 30-м суткам наблюдения (табл. 1). К 90-м суткам исследования параметры длины, ширины и толщины левой доли вилочковой железы оставались сниженными в сравнении с интактными крысами на 5,36% (длина), 10,82% (ширина) и 4,34% (толщина). Таким образом, максимальные отличия значений органомерических данных тимуса в

сторону их снижения фиксировались на ранних сроках наблюдения (7, 30-е сутки).

Таблица 1

Показатели массы тимуса (мг), длины, ширины и толщины левой его доли (мм) половозрелых белых крыс-самцов после введения циклофосфана и в контроле (M ± m, n = 36)

Группа	Сроки наблюдения (сутки)	Масса тимуса, мг	Длина левой доли тимуса, мм	Ширина левой доли тимуса, мм	Толщина левой доли тимуса, мм
После введения циклофосфана	7-е	205,72 ± 9,82*	13,41 ± 0,75*	6,51 ± 0,02*	2,16 ± 0,01
	30-е	240,27 ± 3,00*	14,76 ± 0,64*	6,78 ± 0,74*	3,15 ± 0,07*
	90-е	300,87 ± 10,57	17,84 ± 0,91	7,91 ± 1,33	3,97 ± 1,31
Контроль	7-е	275,67 ± 31,25	16,80 ± 0,15	6,99 ± 0,10	2,97 ± 0,01
	30-е	256,42 ± 5,78	17,89 ± 0,02	7,71 ± 0,17	3,84 ± 0,06
	90-е	234,62 ± 14,86	18,85 ± 0,13	8,87 ± 0,05	4,15 ± 0,08

Примечание: * – статистически значимые различия с показателями контрольной группы ($p \leq 0,05$)

Среди половозрелых животных после введения высокой дозы циклофосфана в ходе эксперимента масса селезенки уменьшалась на 32,13, 26,22, 17,91% (7, 30, 90-е сутки) в сравнении с контрольными данными (табл. 2).

Линейные размеры селезенки подопытных животных увеличивались с течением времени наблюдения, но их показатели не достигали значений, соответствующих интактным крысам. Длина органа возрастала от $35,67 \pm 0,56$, $37,06 \pm 0,32$ до $38,95 \pm 0,55$ мм, что ниже данных животных контрольной серии на 5,56, 6,98, 5,11% (7, 30, 90-е сутки). Параметры ширины и толщины селезенки на 7, 30, 90-е сутки исследования были снижены в сравнении с данными интактных особей на 1,10, 0,84 и 0, 86% (ширина) и 10,43, 3,46 и 4,02% (толщина).

Таким образом, органометрические показатели селезенки половозрелых подопытных крыс наиболее отличались от значений животных контрольной серии на 7-е и 30-е сутки эксперимента.

Таблиця 2

Показатели массы (мг), длины, ширины и толщины селезенки (мм) половозрелых белых крыс-самцов после введения циклофосфана и в контроле ($M \pm m$, $n = 36$)

Группа	Сроки наблюдения (сутки)	Масса селезенки, мг	Длина селезенки, мм	Ширина селезенки, мм	Толщина селезенки, мм
После введения циклофосфана	7-е	751,01 ± 7,95*	35,67 ± 0,56*	7,33 ± 0,34	3,95 ± 0,12
	30-е	836,83 ± 2,13*	37,06 ± 0,32*	7,08 ± 0,25	3,88 ± 0,09
	90-е	981,02 ± 15,23*	38,95 ± 0,55	8,11 ± 0,54	4,06 ± 0,23
Контроль	7-е	1106,67 ± 2,88	37,77 ± 0,75	7,25 ± 0,21	4,41 ± 0,25
	30-е	1134,17 ± 4,09	39,84 ± 0,45	7,14 ± 0,33	3,75 ± 0,11
	90-е	1195,01 ± 7,18	40,22 ± 0,78	8,18 ± 0,22	4,23 ± 0,16

Примечание: * – статистически значимые различия с показателями контрольной группы ($p \leq 0,05$)

Таким образом, проведенное исследование позволило сформулировать следующие выводы:

1. Вилочковая железа и селезенка половозрелых крыс активно реагируют на однократное введение иммуносупрессивного препарата циклофосфана в высокой дозе, что проявляется в выраженном снижении органометрических показателей органов на ранних сроках наблюдения (7, 30-е сутки).

2. К 90-м суткам исследования происходит завершение угнетающего воздействия препарата на лимфоидную ткань тимуса и селезенки животных и восстановление большинства их органометрических параметров. Полученные данные дают возможность предполагать, что по прошествии 1 месяца с момента введения иммуносупрессора активизируются процессы адаптации и частично восстанавливается нормальная структура указанных органов иммунной системы.

3. Однонаправленные изменения органометрических данных вилочковой железы и селезенки в одинаковые сроки наблюдения после введения высокой дозы циклофосфана указывают на присутствие тесной морфофункциональной связи между органами.

Список использованной литературы

- 1. Регулирующее** влияние пептидов эпифиза на развитие Т-лимфоцитов у мышей линии СВА при старении: роль микроокружения органов иммунной системы и нейроэндокринных факторов / И. Ф. Лабунец, Г. М. Бутенко, В. Х. Хавинсон и др. // Успехи геронтологии. – 2003. – Вып. 12. – С. 111 – 120. **2. Шапкин Ю. Г.** Селезенка и иммунный статус организма / Ю. Г. Шапкин, В. В. Масляков // Вестн. хирургии. – 2009. – Т. 168, № 2. – С. 110 – 113. **3. Лебединская О. В.** Анализ изменения количества клеток-предшественников в тимусе и селезенке животных различных возрастных групп / О. В. Лебединская, Ю. Ф. Горская, Е. Ю. Шуклина // Морфология. – 2005. – Т. 127, № 3. – С. 41 – 44. **4. Ярилин А. А.** Гомеостатические процессы в иммунной системе. Контроль численности лимфоцитов / А. А. Ярилин // Иммунология. – 2004. – № 5. – С. 312 – 320. **5. Караулов А. В.** Клинико-иммунологическая эффективность применения имунофана при оппортунистических инфекциях // А. В. Караулов. – Лечащий врач. – 2000. – № 5 – 6. – С. 28 – 29. **6. Машковский М. Д.** Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – М. : Новая волна, 2005. – 1206 с. **7. Kong Y.** OPG Lisa key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymphnode organogenesis / Y. Kong, H. Yoshida // Nature. – 1998. – Vol. 397. – P. 315 – 327. **8. Петрова Е. Э.** ГМДП потенцирует цитотоксическое действие TNF-а и цитостатиков на опухолевые клетки / Е. Э. Петрова, Т. И. Валякина, В. А. Несмеянова // Мед. иммунология. – 2002. – Т. 4, № 2. – С. 304 – 305. **9. Воробьев А. А.** Принципы классификации и стратегия применения иммуномодуляторов в медицине / А. А. Воробьев // Журн. микробиологии. – 2002. – № 4. – С. 93 – 98. **10. Чикилева И. О.** Современные подходы и направления в иммунотерапии и иммунопрофилактике злокачественных новообразований / И. О. Чикилева, Е. О. Халтурина, М. В. Киселевский // Молекуляр. медицина. – 2003. – № 2. – С. 40 – 47.

Кашенко С. А., Золотаревська М. В., Захаров О. О., Чурілін О. О., Бородіна М. О. Зміни органометричних показників тимуса й селезінки білих щурів статевозрілого віку після введення високої дози циклофосфану

Метою дослідження було вивчення органометричних показників тимуса й селезінки статевозрілих щурів-самців при імуносупресії, індукованій одноразовим застосуванням високої дози циклофосфану (200 мг/кг внутрішньом'язово). Дослідження проводилося на 36 безпородних білих щурах-самцях статевозрілого віку на 7, 30 і 90-ту добу після введення препарату. Вимірювали масу тимуса й селезінки

(мг), довжину, ширину й товщину частки вилочкової залози й усієї селезінки (мм). З'ясували, що ці органи імунної системи тварин реагували на ін'єкцію високої дози циклофосфану вираженням зниженням органометричних показників у ранні терміни спостереження (7, 30 доба). До 90 доби дослідження відбувалося відновлення більшості органометричних параметрів тимуса й селезінки, що свідчило про адаптацію органів до імуносупресивного впливу препарату.

Ключові слова: щури, тимус, селезінка, органометричні показники, циклофосфан.

Кашенко С. А., Золотаревская М. В., Захаров А. А., Чурилин О. А., Бородин М. А. Изменения органометрических показателей тимуса и селезенки белых крыс половозрелого возраста после введения высокой дозы циклофосфана

Целью исследования было изучение органометрических показателей тимуса и селезенки половозрелых крыс-самцов при иммуносупрессии, индуцированной однократным применением высокой дозы циклофосфана (200 мг/кг внутримышечно). Исследование проводилось на 36 беспородных белых крысах-самцах половозрелого возраста на 7, 30 и 90-е сутки после введения препарата. Измеряли массу тимуса и селезенки (мг), длину, ширину и толщину доли вилочковой железы и всей селезенки (мм). Выяснили, что данные органы иммунной системы животных реагировали на инъекцию высокой дозы циклофосфана выраженным снижением органометрических показателей на ранних сроках наблюдения (7, 30-е сутки). К 90-м суткам исследования происходило восстановление большинства органометрических параметров тимуса и селезенки, что свидетельствовало об адаптации органов к иммуносупрессивному воздействию препарата.

Ключевые слова: крысы, тимус, селезенка, органометрические показатели, циклофосфан.

Kashchenko S. A., Zolotarevskaya M. V., Zakharov A. A., Churilin O. A., Borodina M. A. Changes of Organometric Indices of the Thymus and Spleen of White Mature Rats After the Introduction of High-Dose Cyclophosphamide

The aim of investigation was been to study of the organometric indices of thymus and spleen of mature male rats with immunosuppression induced by a single introduction of high-dose cyclophosphamide (200 mg/kg intramuscularly), that promotes of complete reprogramming of immune system. Study was carried out on 36 white outbred male rats of mature age on 7, 30 and 90 days after injection. It were measured the mass of the thymus and spleen (mg), the length, width and thickness of left thymus lobe and spleen whole (mm). It was found that these organs of the immune system in animals

responded to an injection of high-dose cyclophosphamide by a pronounced decrease of organometric indices in early terms of supervision (7, 30 days). By 90 days of the study was been a restoration of most organometric parameters of the thymus and spleen, which indicated of adaptation to the immunosuppressive effect of the drug. Unidirectional changes of organometric indices of thymus and spleen in the same period of observation after the administration of high-dose cyclophosphamide indicated the presence of the close morphological and functional connection between the organs.

Key words: rats, thymus, spleen, organometric indices, cyclophosphamide.

Стаття надійшла до редакції 14.05.2013 р.

Прийнято до друку 26.06.2013 р.

Рецензент – д. мед. н., доц. П. К. Бойченко.