

Юкина Г. Ю.¹, Исеева Е. А.², Благова О. Е.^{1,2}

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВЫСТИЛАЮЩЕГО И ЖЕЛЕЗИСТОГО ЭПИТЕЛИЕВ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ НИЗКИХ ДОЗ ЦИКЛОФОСФАНА

¹Лаборатория патоморфологии НИЦ (заведующая — к. б. н. Г. Ю. Юкина)
Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета
им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, e-mail: pipson@inbox.ru;

²Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (заведующий — проф. В. Л. Быков)
Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета
им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, e-mail: bokelan@rambler.ru

Цитостатическая терапия, широко применяемая для лечения злокачественных новообразований, аутоиммунных заболеваний и в трансплантологии, сопряжена с развитием осложнений, связанных с повреждающим действием цитостатиков на различные ткани и органы [4]. Кроме того, при использовании цитостатиков необходимо учитывать взаимодействие иммунной и эндокринной систем. Установлено, что как гормоны воздействуют на состояние иммунокомпетентных клеток и оказывают выраженное влияние на течение иммунных реакций, так и иммунные факторы изменяют активность эндокринных функций [6]. Морфофункциональная перестройка железистого эпителия на примере щитовидной железы (ЩЖ) и выстилающего эпителия на примере эпителия слизистой оболочки пищевода (ЭСОП) при цитостатической терапии имеет существенное значение в различных аспектах. Во-первых, состоянию ЩЖ при угнетении и нарушении деятельности иммунной системы цитостатиками необходимо уделять должное внимание, так как знание тканевых и клеточных механизмов, лежащих в основе перестройки железистого эпителия при использовании этих препаратов, необходимо для возможной коррекции проводимой терапии. Во-вторых, тканевые и клеточные механизмы осложнений при использовании цитостатиков остаются малоизученными, фрагментарными и имеют, главным образом, диагностическую направленность. Слизистая оболочка органов пищеварительного тракта при цитостатической терапии уязвима, и клинические наблюдения свидетельствуют о закономерном возникновении у таких больных ряда заболеваний органов желудочно-кишечного тракта, в частности пищевода. Таким образом, вопрос о морфофункциональных изменениях железистого и выстилающего эпителиев при использовании цитостатиков представляет теоретический и клинический интерес в связи со значительным контингентом больных, получающих этот препарат. Целью данного исследования является экспериментальное изучение влияния цитостатика циклофосфана (ЦФ) на структурно-функциональные характеристики железистого и выстилающего эпителиев.

Материал и методы исследования. Работа выполнена на 80 самках белых беспородных мышей с массой тела 23–25 г (питомник «Рапполово»). В организации эксперимента руководствовались требованиями Хельсинкской декларации Все-

мирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996 г). Животным внутрибрюшинно вводили ЦФ (фирма «Ферейн», Россия) из расчёта 40 мг/кг массы тела через сутки в течение 70 сут. Животным контрольной группы (К) с той же периодичностью вводили изотонический раствор хлорида натрия. Через 24 ч после 16-й, 32-й, 48-й и 70-й инъекции мышей наркотизировали эфиром и забирали ЩЖ и фрагменты переднего отдела пищевода, фиксировали их в 10 % нейтральном формалине на фосфатном буфере (рН 7,4), обезвоживали в серии этанола возрастающей концентрации и заливали материал в парафиновые блоки по стандартной гистологической методике. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином (Bio-Optica). Для гистоэнзимологического исследования материал замораживали в жидком азоте и на криостатных срезах толщиной 10 мкм тетразолиевым методом выявляли активность фермента НАДН-диафоразы, который является индикатором состояния митохондрий, отражая энергообеспечение клеток и характеризуя интенсивность обменных процессов в них [3]. Активность НАДН-диафоразы в тироцитах и в эпителии слизистой оболочки пищевода оценивали на спектроцитофотометре (ЛОМО) плаг-методом при увеличении 280 \times , площади зонда 0,785 мкм² и длине волны, соответствующей максимуму поглощения продуктов гистохимической реакции (545 нм), выражая результаты в относительных единицах оптической плотности (D). Измерения проводились в тироцитах и в цитоплазме клеток базального и шиповатого слоёв эпителия пищевода.

Морфометрическое исследование тироцитов включало измерение их средней высоты (h) [1]. Измерение h выполнялось при использовании винтового окулярного микрометра МОВ-1—15^x при увеличении 600 \times . У каждого животного выполняли по 100 измерений указанного параметра в различных фолликулах. Морфометрическое исследование эпителия пищевода включало определение толщины всего эпителиального пласта и его рогового слоя и выполнялось с помощью линейного окулярного микрометра при увеличении 280 \times , выполняя по 100 измерений на 5 срезах у каждого животного. Стереологическое исследование эпителия ЩЖ проводили методом точечного счёта, используя тест-сетку окулярного микрометра с 25 точками при увеличении 280 \times ; учитывали данные, полученные при регистрации 1000 точек [2]. Оценивали относительные объёмы, занимаемые в ЩЖ эпителием (E), в том числе его фолликулярным (Ef) и интерфолликулярным (Ei) компонентами.

Статистическую обработку количественных данных проводили с использованием программного пакета Statistica for Windows V6.0. Для каждого показателя определяли среднее значение M и ошибку средней арифметической m. Различия величин показателей оценивали с помощью критерия Стьюдента. Значение P менее 0,05 рассматривали в качестве значимого.

Результаты исследования и их обсуждение. При длительном введении ЦФ общий план структурной организации ЩЖ не меняется, но на 70-е сутки эксперимента отчётливо выявляется мозаичность в расположении фолликулов различных размеров по всей доле органа. В основном определяются мелкие фолликулы с высокопризматическими тироцитами, в которых видны капли коллоида. Имеются фолликулы с уплощёнными тироцитами.

Морфометрическое исследование показало, что величина h значимо возрастает с 32-х суток и остаётся на уровне 122 % от контрольной величины. Стереологический анализ выявил, что, по сравнению с контрольными уровнями, E не резко, но значимо повышен на всех сроках эксперимента, варьируя в пределах 111–114 % величины в группе К. В сочетании с появлением коллоидных капель данные результаты свидетельствуют о повышении функциональной активности ЩЖ.

В пищевode в начальные сроки опыта морфометрическое исследование выявило утолщение эпителия на 29 %, в том числе рогового слоя – на 78 % от уровня контрольных значений. При этом роговой слой локально разрыхлялся и усиливалась инфильтрация эпителия агранулоцитами. Начиная с 32-х суток, наблюдались нарушения вертикальной анизоморфии пласта, в эпителии практически не встречались лейкоциты [5]. На 70-е сутки опыта толщина эпителиального пласта значимо не отличалась от такового в группе К, а толщина рогового слоя превышала её на 49 %. Описанные явления свидетельствуют об умеренно выраженном нарушении процессов дифференцировки и кератинизации, что, в свою очередь, сопровождается снижением барьерных свойств эпителиального пласта.

Количественные гистоэнзимологические исследования тироцитов не выявили значимых различий активности НАДН-диафоразы на всех сроках эксперимента. В пищевode также слабо выражены величины гистоэнзимологического показателя на всех сроках опыта. Лишь на 48-е сутки активность НАДН-диафоразы в шиповатом слое эпителия снизилась на 19 % по сравнению с аналогичным показателем в группе К.

Слабая выраженность изменений величин гистоэнзимологических показателей, видимо, связана с отсутствием кумулятивного эффекта ЦФ и достаточно высоким темпом его выведения, исключающим накопление токсических концентраций в случае длительного введения умеренных доз.

Полученные в настоящей работе данные показывают, что в условиях иммунодепрессии при длительном введении умеренных доз ЦФ развиваются морфофункциональные изменения как в железистом, так и в выстилающем эпителии. В ЩЖ отмечалось повреждение лишь части тироцитов, и проявлялась незначительная гиперфункция органа. По всей видимости, гетероморфия ЩЖ, отмеченная в нашем эксперименте, отражает переходное состояние органа, связанное с её активной адаптацией к меняющимся условиям. В эпителии слизистой оболочки пищевода наиболее выраженные сдвиги морфофункциональных показателей отмечаются в начальные сроки эксперимента. В дальнейшем в динамике опыта величина этих показателей частично нормализуется. Таким образом, наблюдается тенденция к развитию компенсаторно-приспособительных реакций как в случае железистого, так и выстилающего эпителиев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990.
2. Быков В. Л. Стереологический анализ щитовидной железы (обзор методов) // Арх. анат. 1979. Вып.7. С. 124–132.
3. Лойда З., Госсрай Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов / Пер. с англ. М.: Мир, 1982.

4. *Eisen H. J., Kobashigawa J., Keogh A. et al.* Three-year results of a randomized, double-blind, controlled trial of mycophenolate mofetil versus azathioprine in cardiac transplant recipients // *J. Heart Lung Transplant.* 2005. Vol. 24. № 5. P. 517–525.
5. *Nagayoshi H., Fukatsu K., Ueno C. et al.* 5-Fluorouracil infusion reduces gut-associated lymphoid tissue cell number and mucosal immunoglobulin A levels // *J. Parenter. Enteral. Nutr.* 2005. Vol. 29. № 6. P. 395–400.
6. *Reinhardt W., Sauter V., Jockenhovel F. et al.* Unique alteration of thyroid function parameters after i.v. administration alkylating drugs (cyclophosphamide and ifosfamide) // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 1999. Vol. 107. P. 177–182.