

УДК 616-092.419:616-006.6

АКТИВНОСТЬ 5-НУКЛЕОТИДАЗЫ В КЛЕТКАХ ТИМУСА КРЫС С ОПУХОЛЬЮ ЯИЧНИКОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ**Шейко Е.А.***ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: rnoi@list.ru*

Целью исследования было изучение активности 5-нуклеотидазы в клетках тимуса у крыс с перевивной опухолью яичников (ОЯ) под влиянием переменного магнитного поля (ПеМП) совместно с химиотерапией тио-Тэфом. опыты были проведены на 30 крысах-самках линии Вистар массой 200 г. Первая группа состояла из интактных животных ($n = 5$). Остальным был перевит штамм опухоли ОЯ, полученной из Онкоцентра АМН России г. Москва. Все воздействия начинали на второй день после перевивки. Вторая группа ($n = 5$) – контрольная, вводили внутривенно физ.-р-р. Третьей группе ($n = 10$) вводили тио-Тэф в дозе 12 мг/кг. Четвертой группе ($n = 10$) сочетали введение тио-Тэфа и воздействие ПеМП. Во время опыта магниты помещали над головой крыс. ПеМП получали от аппарата «Полнос 1», использовали $H = 50$ Гц, $B = 0,3$ мТл, индуктор с прямым сердечником, время воздействия до десяти минут. Активность 5-нуклеотидазы (КФ 3.1.3.5.) определяли по методу Пирса. Для количественной оценки использовали метод сканирования стандартной площади на цитофотометре МУФ-5. Показано, положительное влияние ПеМП на 5-нуклеотидазную активность во всех зонах тимуса крыс с опухолью яичников.

Ключевые слова: тимоциты, активность 5-нуклеотидазы, ПеМП**ACTIVITY OF 5-NUCLEOTIDASE IN THE THYMUS CELLS OF OVARIAN TUMORS RATS UNDER THE INFLUENCE OF MAGNETIC FIELDS****Sheiko E.A.***Federal State budgetary institution «Rostov Scientific Research Institute of Oncology»
Minzdrava, Rostov-on-Don, e-mail: e-mail:rnoi@list.ru*

Aim of this study was to investigate the activity of 5-nucleotidase in the thymus cells in rats with transplanted ovarian tumors under the influence of an alternating magnetic field (AMF) in conjunction with chemotherapy in peritoneal thio-Teph. Experiments were carried out on 30 female rats of Wistar weighing 200 g. The first group was consisted of intact animals ($n = 5$). The rest of the animal was introduced into the abdominal cavity strain ovarian derived from AMS Moscow cancer center of Russia. All impacts were carried out on the second day after the inoculation of the strain of the tumor. The second group ($n = 5$) – a control, were injected with saline in the peritoneal cavity. The third group ($n = 10$) were injected thio-Teph 12 mg/kg. The fourth group ($n = 10$) were combined administration of thio-Teph and AMF. During the experiment, the magnets were placed over the head of rats. AMF received from the device «Pole 1» used $H = 50$ Hz, $B = 0,3$ mT, the inductor core with direct exposure time to ten minutes. The activity of 5-nucleotidase was determined by the method of Pierce. For quantitative evaluation method was used to scan the standard square cytometry MUF-5. It has been shown the positive impact of the AMF to the activity 5-nucleotidase in all zones of the thymus.

Keywords: thymocytes, 5-nucleotidase activity, AMF

Тимус является центральным органом иммунной системы, в котором происходит дифференцировка и созревание Т-лимфоцитов, осуществляется важнейшая функция в защите от патогенов и иммунологический надзор за ростом опухоли [5, 8]. Созревающие в тимусе Т-лимфоциты не только способны защищать организм от инфекции, но и являются основными клетками эффекторами, осуществляющими цитотоксические реакции противоопухолевой защиты [3]. Гистохимические исследования тимуса животных единичны [6, 9]. Исходя из неоднородности строения дольки тимуса, выделяют в ней три зоны: наружную – субкапсулярную, внутреннюю – корковую, собственно мозговую и периваскулярную. Вместе с тем исследования ферментативной активности различных зон коры и мозговой части представляют интерес, так как

их структурно-функциональная характеристика далеко не однозначна [3, 5]. Ферменты, контролируемые превращение нуклеотидов, по-видимому, играют существенную роль в дифференцировке и селекции лимфоцитов. [4, 9, 10]. Целью настоящего исследования было изучение активности 5-нуклеотидазы в клетках различных зон тимуса у крыс с опухолью яичника (ОЯ) при экспериментальной терапии и воздействием переменного магнитного поля (ПеМП).

Материал и методы исследования

Опыты были проведены на 30 крысах-самках линии Вистар массой 200 г. Первая группа состояла из интактных животных ($n = 5$). Остальным был перевит штамм опухоли ОЯ, полученной из Онкоцентра АМН России г. Москва, в брюшную полость количеством $16 \cdot 10^9$ опухолевых клеток в 0,3 мл физ.р-ра. Все воздействия начинали на второй день после перевивки. Вторая группа ($n = 5$) – контрольная, вводили

внутрибрюшинно физ.-р-р. Третьей группе (n = 10) была проведена химиотерапия (хт), вводили тио-Тэф в дозе 12 мг/кг. Четвертой группе (n = 10) было проведено сочетание введения тио-Тэфа и ПеМП. Во время опыта магниты помещали над головой крыс, находящихся в плексигласовых коробках. ПеМП получали от аппарата «Полус 1», использовали H = 50 Гц, B = 0,3 мТл, индуктор с прямым сердечником, время воздействия до десяти минут. Всего две недели, после чего животных забивали, извлекали тимус, готовили гистохимические препараты. Активность 5-нуклеотидазы (КФ 3.1.3.5.) определяли по методу Пирса [7]. Для количественной оценки использовали метод сканирования стандартной площади на цитофотометре МУФ-5.

Достоверность различий средних величин определяли с применением t критерия Стьюдента и непараметрическими методами.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты показали, что при сопоставлении массы тимуса опытных групп самые высокие показатели массы $188 \pm 2,1$ мг/кг были в группе 4 (хт и ПеМП), а самые низкие $110 \pm 1,8$ мг/кг в группе 3 (только хт). У крыс, после хт (группа 3) масса тимуса оказалась в 2,2 раза меньше против контроля, в 1,5 раз меньше против роста опухоли $167 \pm 3,4$ мг/кг (группа 2) и в 1,7 раз меньше против сочетания хт и ПеМП (группа 4), все отличия достоверны ($P \leq 0,05$). Самые высокие значения массы тимуса в опыте получены в группе 4 в 1,7 раз выше против 3-й группы и в 1,1 раз выше против 2-й группы ($P \leq 0,05$). Снижение массы тимуса сопровождается опустошением корковой и мозговой зон с резким уменьшением количества больших и малых лимфоцитов, а также снижением их

иммунологической активности. Известно, что тимус играет двойственную роль при неопластическом процессе. С одной стороны, это опухолеподдерживающая роль. С другой стороны, тимус поставляет основные клетки-эффекторы, осуществляющие цитотоксические реакции противоопухолевой защиты. Поэтому нарушения пролиферации. Дифференцировки и утраты функциональной активности тимоцитов может определять иммунодефицит у опухоленосителей [1,3,5].

В таблице представлены результаты анализа активности 5-нуклеотидазы в клетках различных зон тимуса у крыс с опухолью ОЯ в зависимости от вариантов опыта. Из таблицы следует, что в 3й группе 5-нуклеотидазная активность в тимоцитах подкапсульной зоны, коры и мозгового вещества была достоверно ниже $P \leq 0,05$, чем в других группах. При росте опухоли (группа 2) активность фермент была в 1,3 раза выше, чем при хт (группа 3) и в 3,2 раза ниже, чем при сочетании хт и ПеМП (группа 4), $P \leq 0,05$. У крыс, подвергнувшихся воздействию хт и ПеМП (группа 4), во всех зонах тимуса было выявлено присутствие двух пулов тимоцитов с относительно высокой и относительно низкой активностью 5-нуклеотидазы (таблицу), причем более многочисленным был пул с высокой активностью фермента. Возможно, что при воздействии ПеМП происходит селекция тимоцитов, обладающих более высокой 5-нуклеотидазной активностью без стимуляции последней, однако не исключена возможность стимуляции активности этого фермента воздействием ПеМП.

Показатели активности 5-нуклеотидазы в разных зонах тимуса в зависимости от вариантов опыта ($M \pm m$ у.е)

| Зоны тимуса | Группы | | | |
|-------------------|-----------------|-----------------------------|------------------|--------------------------------------|
| | 1 Интактные | 2 Рост опухоли и физ.р-р | 3 Тио-Тэф | 4 Тио-Тэф и ПеМП |
| Подкапсульная | $12 \pm 0,07$ | $6,4 \pm 0,3^*$ | $5,0 \pm 0,06^*$ | $20,6 \pm 0,1^*$ $8,0 \pm 0,01^*$ |
| Кора | $27 \pm 0,01^*$ | $33,8 \pm 0,07^*$ | $9,0 \pm 0,0^*1$ | $30,1 \pm 0,08^*$ $14 \pm 0,01^*$ |
| Мозговое вещество | $19 \pm 0,4^*$ | $34,0 \pm 0,3^*$ | $28,0 \pm 0,3^*$ | $33,8 \pm 0,06^*$ $19 \pm 0,08^*$ |
| $P \leq$ | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 |

Примечание: * отличия достоверны $19 \pm 0,4^*$ по отношению к контролю.

Обращает внимание факт повышения активности фермента в клетках мозгового вещества тимуса во всех опытных группах против интактного контроля: в группе 3 в 1,2 раза, в группах 2 и 4 в 1,8 раз

($P \leq 0,05$). В группе совместного применения хт и ПеМП при мозаичном распределении фермента, были обнаружены тимоциты с активностью в 1,8 раз выше контроля и тимоциты с активно-

стью не отличимой от него (группы 1). (см. таблицу)

По данным литературы у мышей зрелые тимоциты в медуллярной части обладают более высокой 5-нуклеотидазной активностью. Такой же высокой активностью обладают тимоциты, сохраняющиеся в тимусе после введения больших доз гидрокортизона. [2, 6, 7] Авторы считают, что низкая активность 5-нуклеотидазы суммарных тимоцитов может быть обусловлена присутствием высокого процента незрелых клеток, а повышение активности этого фермента можно объяснить увеличением доли тимоцитов с высокой активностью 5-нуклеотидазы в тимусе, но не увеличением суммарной молекулярной активности фермента [9, 10], как мы наблюдали в мозговой части тимуса всех опытных групп. Известно, что тимоциты с высокой 5-нуклеотидазной активностью кортизонрезистентны. Именно эти клетки, не содержащие костномозговых антигенов, но содержащие максимум антигенов, кодируемых главным комплексом гистосовместимости отвечают на Т-фитомигены (фитогемагглютинин и Con A) и обладают способностью распознавать аллогенные клетки в однонаправленной смешанной культуре. [6] Такие клетки обладают наименьшей активностью терминальной дезоксинуклеотилтрансферазы. По совокупности свойств они относятся к медуллярным тимоцитам, что возможно объясняет полученные нами результаты. В тоже время, к этой группе можно отнести малодифференцированные предшественники зрелых Т-лимфоцитов из подкапсульной и корковой части тимуса, число которых возрастает при действии ПемП, что представляет существенный интерес в связи с особенностями 5-нуклеотидазы лимфоцитов т своеобразием селекции тимоцитов. 5-нуклеотидаза является эктоферментом, разрушающим внеклеточные нуклеотиды. Таким образом, вполне вероятно, что в условиях тимуса, где происходит быстрое разрушение и регенерация Т-timoцитов, межклеточные нуклеотиды могут оказы-

вать токсическое действие на те популяции лимфоцитов, 5-нуклеотидазная активность которых недостаточна для сохранения нормальной внутриклеточной концентрации дезоксинуклеотидов, способствуя, таким образом, отбору определенных популяций Т-лимфоцитов.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют об определенных закономерностях активности 5-нуклеотидазы в клеточных популяциях различных зон тимуса при неопластическом росте, химиотерапии и ее сочетании с ПемП. Используемое в этих режимах ПемП несомненно оказывает благотворное влияние на состояние и 5-нуклеотидазную активность тимуса.

Список литературы

1. Киселёва Е.А. Механизмы инволюции тимуса при опухолевом росте // Успехи совр. биол. – 2004. – № 6. – С. 102–114.
2. Порфильева С.А., Сергеева В.Е. Иммунная супрессия на фоне введения гидрокортизона // Иммунодефицитные состояния в клинике внутренних болезней: тезисы докладов науч.-практ. конференции. – Чебоксары, 1999. – С. 691.
3. Робинсон Н.В., Труфакин В.А. Ферменты, являющиеся лейкоцитарными антигенами, в норме и патологии, еще один двуликкий Янус иммунологии // Бюл.Сиб.Отделения РАМН. – 2001. – № 4. – С. 89–92.
4. Робинсон Н.В., Труфакин В.А. Метаболическое обеспечение процессов пролиферации, миграции, апаптоза, дифференцировки лимфоцитов // Метаболические механизмы иммунореактивности: тезисы докл. науч.-практ. конференции. – Красноярск, 2004. – С. 92–94.
5. Ярилин А.А. Иммунология. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 752 с.
6. Bartron R.W., Goldschneider I. 5-nucleotidase activity in subpopulation of rat lymphocytes // J.immunol. – 1978. – № 6. – P. 2329–2334.
7. Buchwalow I.B., Böcher W. Immunohistochemistry: Basis and Methods. – Berlin, heidelberg: Springer-Verlag, 2010. – 927p.
8. Deschaux P. Le thymus organ endocrinica // J. Physiol Paris. – 1980. – P. 357–376.
9. Edwards N.T. et al Distribution of 5-nucleotidasein human lymphoid tissue // Proct. Natl. Acad. Sci, USA. – 1979. – № 7. – P. 3474–3476.
10. Taylor C.R., Cote R.J. Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the surgical pathologist. – 3rd ed. – Philadelphia: Saunders Elsevier, 2005.