

ВЛИЯНИЕ ФОРМАЛЬДЕГИДА НА МОРФОГЕНЕЗ ТИМУСА БЕЛЫХ КРЫС

© *Ваш И.Ю.*Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки
(ЛГМУ им. Святителя Луки)

91045, г. Луганск, Ленинский р-он, кв. 50-летия Обороны Луганска, д. 1г

Цель работы – изучение показателей морфометрии тимуса крыс неполовозрелого возраста, находившихся в условиях ингаляционного воздействия формальдегида.

Материалы и методы. Исследовано ингаляционное влияние формальдегида в концентрации 2,766 мг/м³ на строение тимуса белых крыс-самцов с начальной массой тела 40-50 г. Экспозиции формальдегида проводились в течение 1 ч/сутки ежедневно 10, 20, 30, 60 и 90 дней. Отдельно изучался морфогенез тимуса крыс, которые после 60 дней воздействия формальдегида в течение 30 дней находились в стандартных условиях вивария.

Результаты. Установлено, что ингаляционное воздействие формальдегида приводит к уменьшению органомерических параметров вилочковой железы в сравнении с контролем. У животных, которые подвергались воздействию формальдегида в течение 10 и 20 дней, средний показатель части коркового вещества был ниже данных контроля на 8,06% ($p < 0,05$) и 11,48% ($p < 0,01$) соответственно. Через 30 и 60 дней воздействия формальдегида эта разница с контрольными данными составила 13,60% ($p < 0,02$) и 13,98% ($p < 0,001$) соответственно. Уменьшение площади, занимаемой корковым веществом, привело к увеличению площади мозгового вещества.

Заключение. Ингаляционное воздействие формальдегида вызывает уменьшение площади коркового вещества тимуса, увеличение количества апоптотических тел, что проявляется картиной «звездного неба». Уменьшение выраженности изменений в тимусе животных, которые были выведены из эксперимента через 30 дней после воздействия формальдегида, свидетельствует об обратимости изменений в тимусе.

Ключевые слова: тимус; формальдегид; крыса; морфогенез; гистология.

Ваш Ирина Юрьевна – соискатель на кафедре анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии, ЛГМУ им. Святителя Луки, г. Луганск. ORCID ID: 0000-0001-9289-6788. E-mail: irinavash1988@mail.ru

С интенсификацией процессов урбанизации и индустриализации возрастают масштабы производственной деятельности. Это обуславливает необходимость решения одной из актуальных проблем – улучшение состояния окружающей среды, а также обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия человека. Формальдегид (ФА) является широко распространенным загрязнителем атмосферного воздуха [4], который относится ко 2-му классу опасности наряду с сероводородом, бензолом, 1,2,4,5-тетраметилбензолом, 1,2,4-триметилбензолом, 1,2-дихлорэтаном, трихлорметаном, тетрачлорметаном, октаналем (каприловым альдегидом) и фенолом. ФА относится к промышленным химикатам, которые достаточно активно используются в строительстве, обработке древесины [25], производстве разного рода материалов, промышленных товаров и т.д. [6]. Кроме того, ФА обычно используется в качестве консерванта для некоторых пищевых продуктов [16] и косметических средств [13]. ФА также является продуктом некоторых естественных процессов, к которым относятся сгорание биомассы, в том числе и при лесных пожарах [15], и облучение гуминовых

веществ солнечным светом [11]. Известно, что воздействие ФА на организм человека приводит к аллергическим заболеваниям, «синдрому больного здания» и канцерогенезу [12, 14]. Международное агентство по изучению рака (IARC) классифицирует ФА, как канцероген, способный вызывать рак носоглотки и лейкоз [10].

Таким образом, в настоящее время большое количество людей подвергаются воздействию ФА, пребывая как на открытом воздухе, так и в помещениях. Распространенность ФА в окружающей среде, серьезные последствия его воздействия на здоровье человека, а также отсутствие комплексных морфологических работ, позволяющих оценить морфогенез тимуса в условиях ингаляционного воздействия на организм данного химического агента, обуславливает актуальность настоящего исследования.

Цель представленной работы состоит в изучении показателей морфометрии тимуса крыс неполовозрелого возраста, находившихся в условиях ингаляционного воздействия формальдегида.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 72 белых крысах-самцах с начальной массой тела 40-50 г в возрасте 1 месяца. Животных получали из вивария ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки». В соответствии с дизайном эксперимента животные были разделены на 2 серии. Каждая серия состояла из 6 групп (по 6 крыс в каждой). Первую серию (серия К) составили контрольные крысы. Во вторую серию (серия Ф) вошли животные, которые подвергались ингаляционному воздействию ФА в концентрации 2,766 мг/м³. Экспозиции ФА осуществлялись 1 раз в день в течение 60 минут в затравочной камере объемом 1 м³. В соответствии с количеством экспозиций животные серии Ф были разделены на группы – 1, 2, 3, 4 и 6. Крысы этих групп подвергались воздействию изучаемого фактора, соответственно, в течение 10, 20, 30, 60 и 90 дней. Кроме этого, была выделена 5 группа животных, которые получали 60 экспозиций ФА, после чего 30 дней находились в стандартных условиях вивария без влияния изучаемого фактора. Во время воздействия ФА на крыс серии Ф контрольные животные помещались на 60 минут в другую камеру, конструкция и объем которой были аналогичными таковой камеры, в которой проводились экспозиции ФА. При этом контрольные крысы не испытывали влияние ФА.

После завершения экспозиций ФА животные выводились из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом. Забор тимуса проводился в соответствии с общепринятыми методиками. Исследуемые органы взвешивали на весах ВЛР-200 с точностью до 1 мг. Относительный вес тимуса рассчитывали, как отношение абсолютного веса органа, выраженного в мг на 100 г веса тела крысы. Изучали размеры тимуса – длину, наибольшую ширину и наибольшую толщину. Для этого органы фотографировали с линейкой, цена деления которой – 1 мм, и затем с помощью программы «ImageJ» (версия 1.48v) проводили органомерику с точностью до 0,01 мм. После фиксации органов в 10% растворе нейтрального формалина изготавливали парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм, которые окрашивали (1) гематоксилином и эозином и (2) по Ван-Гизон [2]. Светомикроскопическое исследование и микрофотографирование проводили с помощью микроскопа Olympus BX-41. С помощью пакета программ «ImageJ» определяли абсо-

лютную и относительную (в процентах) площадь гистологического среза, занимаемую корковым и мозговым веществом. Определяли корково-мозговой индекс. Для этого подсчитывали количество клеток в (1) субкапсулярной зоне, (2) собственно корковом веществе и (3) мозговом веществе. Подсчет в каждой из перечисленных зон проводили в участках серийных срезов площадью по 2500 мкм² в шести непересекающихся полях зрения каждого среза. По этому алгоритму исследовали каждый 10-й серийный срез. Количественные данные обработаны с применением параметрического (t-критерий Стьюдента) и непараметрического (U-критерий Манна-Уитни) методов оценки достоверности отличий при помощи программы «Statistica 10». Статистически значимыми считали отличия при значениях $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Тимус крыс контрольной серии представляет собой орган, состоящий из двух долей. При этом левая часть правой доли располагается кпереди по отношению к левой доле. Такое взаимоотношение между долями тимуса контрольных животных наблюдалось в большинстве случаев. В 4-х случаях определено обратное взаиморасположение, когда левая доля располагалась кпереди по отношению к правой, что составило 11,11%. Тимус уплощен в передне-заднем направлении. Продольный размер органа преобладает над поперечным. Его ширина постепенно уменьшается по направлению к верхушке. Во всех случаях тимус имел мягкую консистенцию и серовато-желтый цвет. На поверхности каждой доли определялись многочисленные более или менее выраженные борозды, что свидетельствует о дольчатом строении органа.

Вилочковая железа крыс, подвергавшихся воздействию ФА, имеет внешнее строение, сходное с таковым у животных контрольной серии. Правая доля тимуса располагалась кпереди по отношению к левой в 30 случаях из 36, что составило 83,33%. В остальных случаях левая доля располагалась кпереди по отношению к правой. Доли органа соединяются друг с другом таким образом, что верхушки каждой из них отстоят друг от друга на большем или меньшем расстоянии. Наибольший поперечный размер органа определяется в области основания органа. Продольный размер тимуса во всех случаях преобладал над поперечным. Тимус имеет

мягкую консистенцию. Цвет органа – серовато-желтый. Поверхность каждой доли несет на себе многочисленные неглубокие борозды.

У контрольных животных абсолютный вес тимуса увеличился с 216,67 мг – в 1 группе до 293,33 мг – в 6 группе. У крыс, подвергавшихся воздействию ФА, этот показатель был значительно ниже данных, полученных в соответствующих группах контроля. Относительный вес тимуса крыс под действием ФА не претерпевал значительных изменений. Лишь в 6 группе различие с контрольными показателями составило 13,99% ($p < 0,05$)

(табл. 1). Размеры тимуса крыс, находившихся в условиях воздействия ФА, уменьшаются (табл. 2).

Тимус животных контрольной серии на светооптическом уровне имеет строение типичное для крыс. У животных 1 и 2 групп серии К часть коркового вещества на гистологических препаратах составила 80,29% и 80,89% соответственно. При этом минимальные значения данного показателя в указанных группах составили 72,58% и 75,06%, а максимальные соответственно – 87,91% и 85,34% (рис. 4).

Таблица 1
Table 1

Абсолютный и относительный вес тимуса контрольных животных и крыс, подвергавшихся влиянию формальдегида

Absolute and relative weight of the thymus of control animals and rats exposed to formaldehyde

Серия Series	Группа Group	Mean	min	max	SD	t	p
Абсолютный вес, мг Absolute weight, mg							
Контроль Control	1	216.67	206.00	228.00	9.63	-	-
	2	224.17	207.00	254.00	15.66	-	-
	3	239.83	212.00	258.00	17.02	-	-
	4	263.00	247.00	281.00	11.52	-	-
	5	288.17	272.00	303.00	12.22	-	-
	6	293.33	277.00	310.00	12.86	-	-
Формальдегид Formaldehyde	1	176.83	152.00	196.00	14.82	5.52	<0.001
	2	178.17	169.00	187.00	6.88	6.59	<0.001
	3	177.33	168.00	185.00	7.00	8.32	<0.001
	4	177.00	154.00	191.00	12.92	12.17	<0.001
	5	209.33	198.00	222.00	11.45	11.53	<0.001
	6	193.17	179.00	202.00	9.75	15.20	<0.001
Относительный вес, мг/100 г Relative weight, mg/100 g							
Контроль Control	1	342.46	298.55	384.75	30.12	-	-
	2	285.89	258.82	352.78	35.27	-	-
	3	265.13	232.97	277.17	16.26	-	-
	4	167.64	157.32	175.51	7.86	-	-
	5	145.16	130.56	157.81	10.83	-	-
	6	142.95	133.94	158.16	10.08	-	-
Формальдегид Formaldehyde	1	338.66	330.19	356.36	9.73	0.29	>0.05
	2	289.60	260.00	308.33	19.45	0.23	>0.05
	3	260.47	236.62	273.85	13.43	0.54	>0.05
	4	154.31	130.51	169.03	14.80	1.95	>0.05
	5	139.76	120.61	150.69	12.90	0.78	>0.05
	6	122.95	114.01	132.03	6.59	4.07	<0.05

Примечание (здесь в табл. 2, 3): Mean – среднее значение; min – минимальное значение; max – максимальное значение; SD – стандартное отклонение; t – значение критерия Стьюдента; p – уровень значимости.

Note (here in tables 2, 3): min – the minimum value; max – maximum value; SD – standard deviation; t – the value of Student's criterion; p – level of statistical significance.

Таблица 2
Table 2

Размеры тимуса (мм) контрольных животных и крыс, подвергавшихся влиянию формальдегида
Thymus size (mm) of control animals and rats exposed to formaldehyde

Серия Series	Группа Group	Mean	min	max	SD	p
Длина, мм Length, mm						
Контроль Control	1	16.23	15.74	16.82	0.46	-
	2	16.71	16.05	17.64	0.59	-
	3	17.08	16.83	17.47	0.24	-
	4	17.42	16.82	17.86	0.45	-
	5	17.35	16.90	18.38	0.53	-
	6	17.84	16.23	19.82	1.34	-
Формальдегид Formaldehyde	1	14.86	13.33	15.85	0.93	<0.01
	2	14.64	13.25	15.78	0.93	<0.001
	3	14.77	13.90	15.38	0.57	<0.001
	4	14.72	13.82	15.38	0.60	<0.001
	5	15.22	13.70	16.80	1.03	<0.002
	6	14.61	13.77	15.54	0.59	<0.001
Ширина, мм Width, mm						
Контроль Control	1	9.87	9.23	10.52	0.42	-
	2	10.05	9.62	10.26	0.25	-
	3	10.37	9.73	10.62	0.37	-
	4	10.24	9.81	10.79	0.37	-
	5	10.45	10.07	10.96	0.36	-
	6	10.65	10.11	11.44	0.55	-
Формальдегид Formaldehyde	1	9.42	8.75	10.07	0.46	>0.05
	2	9.39	8.75	9.95	0.43	<0.01
	3	9.50	8.94	10.05	0.48	<0.01
	4	9.08	8.53	9.93	0.53	<0.01
	5	9.45	9.21	10.09	0.33	<0.001
	6	9.61	9.26	10.22	0.38	<0.01
Толщина, мм Depth, mm						
Контроль Control	1	2.15	1.95	2.34	0.15	-
	2	2.27	2.11	2.42	0.11	-
	3	2.42	2.17	2.61	0.16	-
	4	2.63	2.42	2.94	0.20	-
	5	2.55	2.38	2.72	0.12	-
	6	2.69	2.10	3.05	0.36	-
Формальдегид Formaldehyde	1	2.03	1.90	2.14	0.10	>0.05
	2	2.21	2.02	2.39	0.14	>0.05
	3	2.31	2.01	2.47	0.16	>0.05
	4	2.45	2.26	2.55	0.11	>0.05
	5	2.41	2.12	2.61	0.16	>0.05
	6	2.46	2.24	2.66	0.15	>0.05

Таблица 3
Table 3Показатели гистоморфометрии тимуса контрольных животных и крыс,
подвергавшихся влиянию формальдегида

Parameters of thymus histomorphometry of control animals and rats exposed to formaldehyde

Серия Series	Группа Group	Mean	min	max	SD	p
Часть коркового вещества, % Part of the cortex, %						
Контроль Control	1	80.29	72.58	87.91	5.33	-
	2	80.89	75.06	85.34	4.52	-
	3	78.09	67.96	90.12	7.10	-
	4	77.24	73.57	80.74	2.89	-
	5	75.48	69.55	83.06	4.52	-
	6	74.15	70.16	80.65	3.96	-
Формальдегид Formaldehyde	1	73.82	67.42	79.77	4.65	<0.05
	2	71.60	62.30	76.56	5.08	<0.01
	3	67.47	61.62	72.91	4.25	<0.02
	4	66.44	60.68	71.80	4.19	<0.001
	5	67.70	58.91	72.39	4.81	<0.02
	6	59.65	51.90	63.78	4.23	<0.001
Часть мозгового вещества, % Part of the medulla, %						
Контроль Control	1	19.71	12.09	27.42	5.33	-
	2	19.11	14.66	24.94	4.52	-
	3	21.91	9.88	32.04	7.10	-
	4	22.76	19.26	26.43	2.89	-
	5	24.52	16.94	30.45	4.52	-
	6	25.85	19.35	29.84	3.96	-
Формальдегид Formaldehyde	1	26.18	20.23	32.58	4.65	<0.05
	2	28.40	23.44	37.70	5.08	<0.01
	3	32.53	27.09	38.38	4.25	<0.02
	4	33.56	28.20	39.32	4.19	<0.001
	5	32.30	27.61	41.09	4.81	<0.02
	6	40.35	36.22	48.10	4.23	<0.001
Корково-мозговой индекс Cortex-medulla index						
Контроль Control	1	4.43	2.65	7.27	1.63	-
	2	4.48	3.01	5.82	1.24	-
	3	4.19	2.12	9.12	2.48	-
	4	3.45	2.78	4.19	0.56	-
	5	3.22	2.28	4.90	0.90	-
	6	2.95	2.35	4.17	0.68	-
Формальдегид Formaldehyde	1	2.92	2.07	3.94	0.71	>0.05
	2	2.60	1.65	3.27	0.57	<0.01
	3	2.12	1.61	2.69	0.41	>0.05
	4	2.02	1.54	2.55	0.38	<0.001
	5	2.15	1.43	2.62	0.42	<0.05
	6	1.50	1.08	1.76	0.24	<0.001



Рис. 1. Микрофотография тимуса крысы 4 группы, подвергавшейся воздействию формальдегида. К – корковое вещество; М – мозговое вещество; С – септа. Стрелки указывают на скопление аморфного эозинофильного вещества в мозговом веществе. Картина «звездного неба» в корковом веществе. Гематоксилин и эозин. Объектив – x10.

Fig. 1. Micrograph of rat's thymus of 4th group, exposed to formaldehyde. K – cortex; M – medulla; C – septum. Arrows show amorphous eosinophilic substance in the medulla. The picture of the "starry sky" in the cortex. Bar – 100 μ m. H&E, x10.

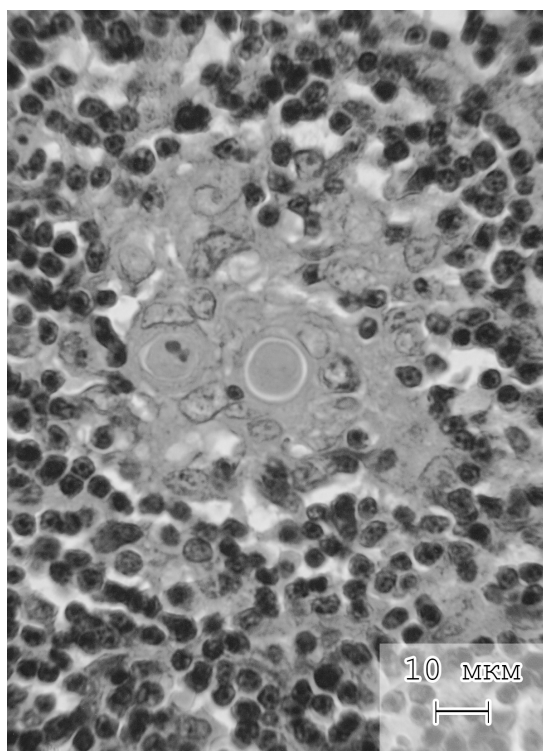


Рис. 2. Микрофотография тимуса крысы 6 группы, подвергавшейся воздействию формальдегида. Тельца Гассалья в мозговом веществе. Гематоксилин и эозин. Объектив – x100.

Fig. 2. Micrograph of rat's thymus of 6th group, exposed to formaldehyde. Hassall's corpuscles in the medulla. Bar – 10 μ m. H&E, x100.

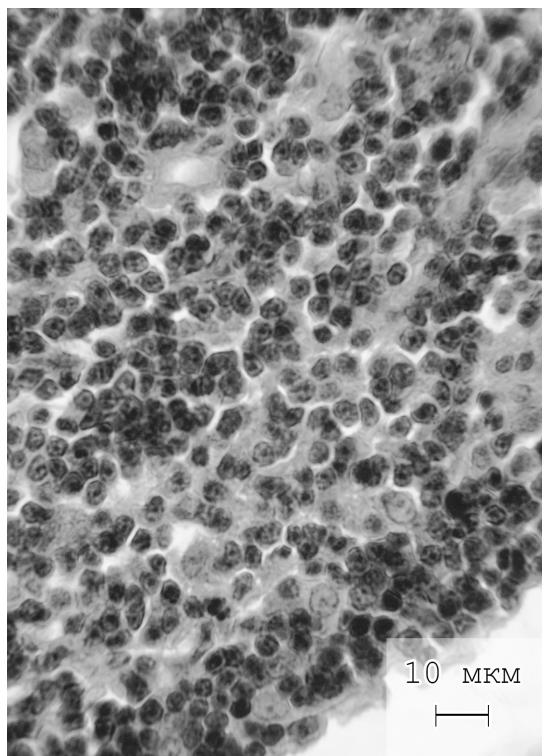


Рис. 3. Микрофотография тимуса крысы 6 группы, подвергавшейся воздействию формальдегида. Снижение количества клеток коркового вещества. Гематоксин и эозин. Объектив – х100.

Fig. 3. Micrograph of rat's thymus of 6th group, exposed to formaldehyde. Decreased cellularity of the cortex. Bar – 10 μm. H&E. Lens – x100.

Строение тимуса животных, подвергавшихся воздействию ФА, на светоптическом уровне в целом напоминает таковое у контрольных крыс. Капсула, покрывающая доли тимуса, посылает в толщу органа междольковые перегородки. Кортиковое и мозговое вещество хорошо выражены. На некоторых препаратах встречаются участки коры с инверсией коркового и мозгового вещества. При этом на малом увеличении видно, что площадь, которую занимает корковое вещество, значительно меньше в сравнении с контрольными данными. Количество апоптотических клеток в корковом веществе значительно возрастает, что в ряде случаев приводит к ярко выраженной картине «звездного неба» (рис. 1). Типичным признаком развивающегося апоптоза является выраженная конденсация хроматина в ядре, в окружении прозрачного ореола. Значительно чаще в сравнении с контрольными данными на препаратах встречаются крупные клетки, содержащие в своей цитоплазме разного размера базофильно окрашенные включения. Это, а также наличие большого количества апоптотических тел в их окружении, позволяет определить эти клетки, как макрофаги. Хорошо визуализируются эпителиоретикулоциты коркового вещества в окружении тимоцитов. Меньшее количество последних

позволяет обнаружить отростки эпителиоретикулоцитов на небольшом удалении от тела клеток. Количество тимических телец и их размеры, как правило, соответствовали таковым, обнаруженным у контрольных животных (рис. 2). Достаточно частой находкой в мозговом веществе вилочковой железы крыс, находившихся в условиях воздействия ФА, стало наличие скоплений аморфного эозинофильного вещества между тимоцитами (рис. 1). В мозговом веществе определяются такие структуры, как эпителиальные трубочки и тяжи. В капсуле и перегородках тимуса определяются кровеносные сосуды, в стенке которых при окрашивании пикриновой кислотой и фуксином хорошо визуализируются коллагеновые волокна. Уменьшение площади коркового вещества тимуса крыс, находившихся в условиях воздействия ФА, подтверждается данными гистоморфометрии (рис. 4).

Количество клеток в субкапсулярной и в средней части коркового вещества тимуса крыс контрольной серии оставалось приблизительно на одном уровне независимо от сроков выведения животных из эксперимента. В мозговом веществе значения этого показателя значительно ниже по сравнению с корковым. У животных 1-3 групп колебания значений данного показателя находились в

диапазоне от 110,62 до 114,55 клеток, а в 4-6 группах – от 112,41 до 117,48 клеток.

Количество клеток субкортикальной зоны тимуса крыс, находившихся в условиях влияния ФА, во всех случаях было ниже значений контроля. Но значимые различия с контрольными данными были обнаружены только у животных 3, 4 и 6 групп (рис. 3). В средних отделах коркового вещества количество клеток в условиях воздействия на организм животных ФА также снижается. Статистически значимые отличия по сравнению с контрольной группой определены только в 3 и 6 группах крыс (рис. 5). В мозговом веществе тимуса животных, находившихся в условиях влияния ФА, количество клеток было снижено в сравнении с данными контроля во всех случаях. В 1 и 2 группах крыс это снижение составило 4,69% ($p>0,05$) и 5,05% ($p>0,05$), а в 3 и 4 группах – 10,64% ($p<0,01$) и 9,31% ($p<0,05$) соответственно.

Известно, что наиболее чувствительными к действию разных токсических веществ яв-

ляются иммунокомпетентные органы, вследствие высокой активности пролиферативных процессов. Результаты данного исследования демонстрируют значительное снижение абсолютного веса тимуса крыс, находившихся в условиях воздействия ФА. Статистически значимые изменения этих показателей определены во всех группах животных. Отсутствие существенных изменений относительного веса вилочковой железы (за исключением 6 группы животных) связано с относительно пропорциональным снижением веса органа и веса тела животных. Эти данные согласуются с результатами ранее проведенных исследований влияния ФА на вес тимуса мышей [26] и крыс [3]. Такие изменения, равно как и уменьшение линейных размеров органа, являются типичным следствием воздействия на организм разного рода химических агентов, тем более обладающих цитотоксическими и/или цитостатическими эффектами.

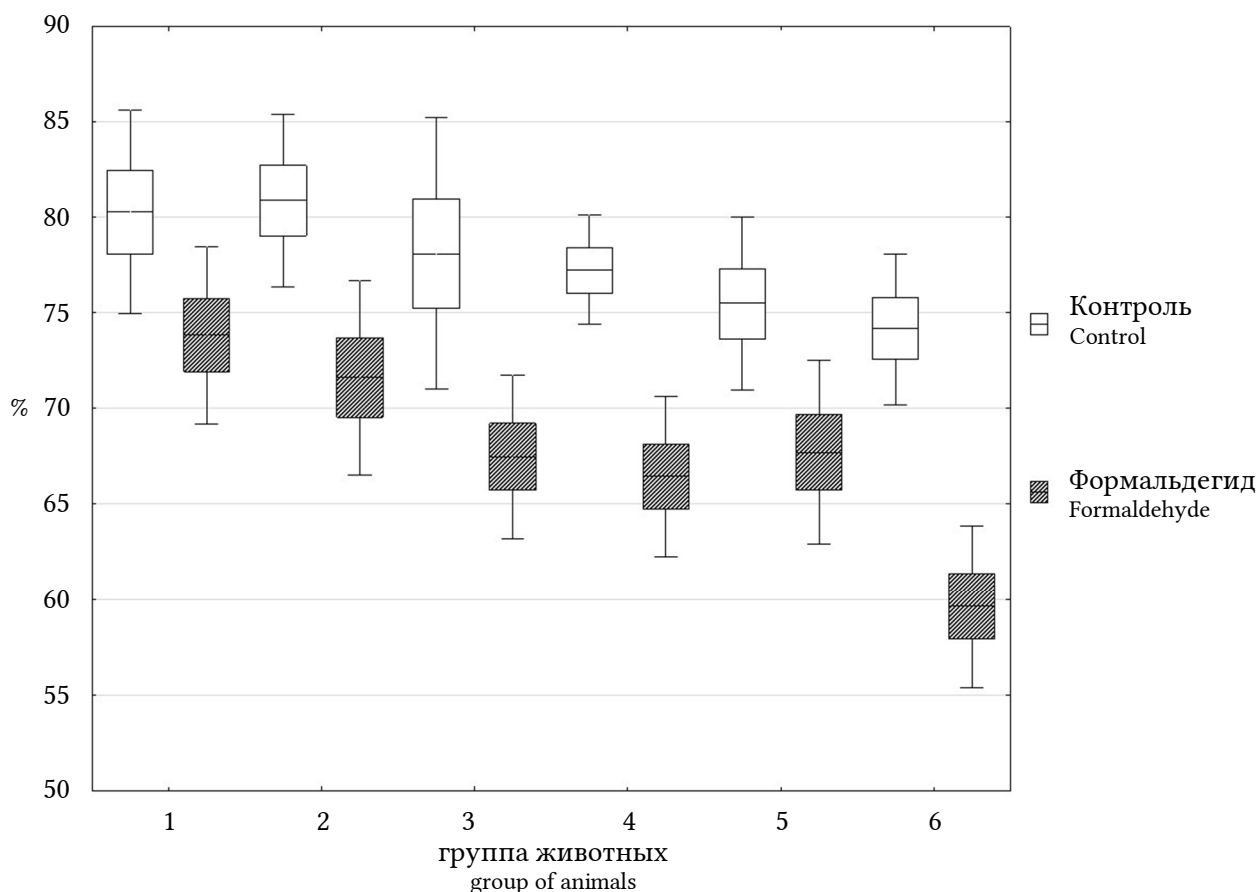


Рис. 4. Показатели части (%) коркового вещества контрольных животных и крыс, подвергавшихся влиянию формальдегида. Линия – среднее; прямоугольник – среднее $\pm$ стандартная ошибка; отрезок – среднее $\pm$ стандартное отклонение.

Fig. 4. Indicators of the part (%) of the cortical substance of control animals and rats exposed to formaldehyde. Line – mean; rectangle – mean $\pm$ standard error; segment – mean $\pm$ standard deviation.

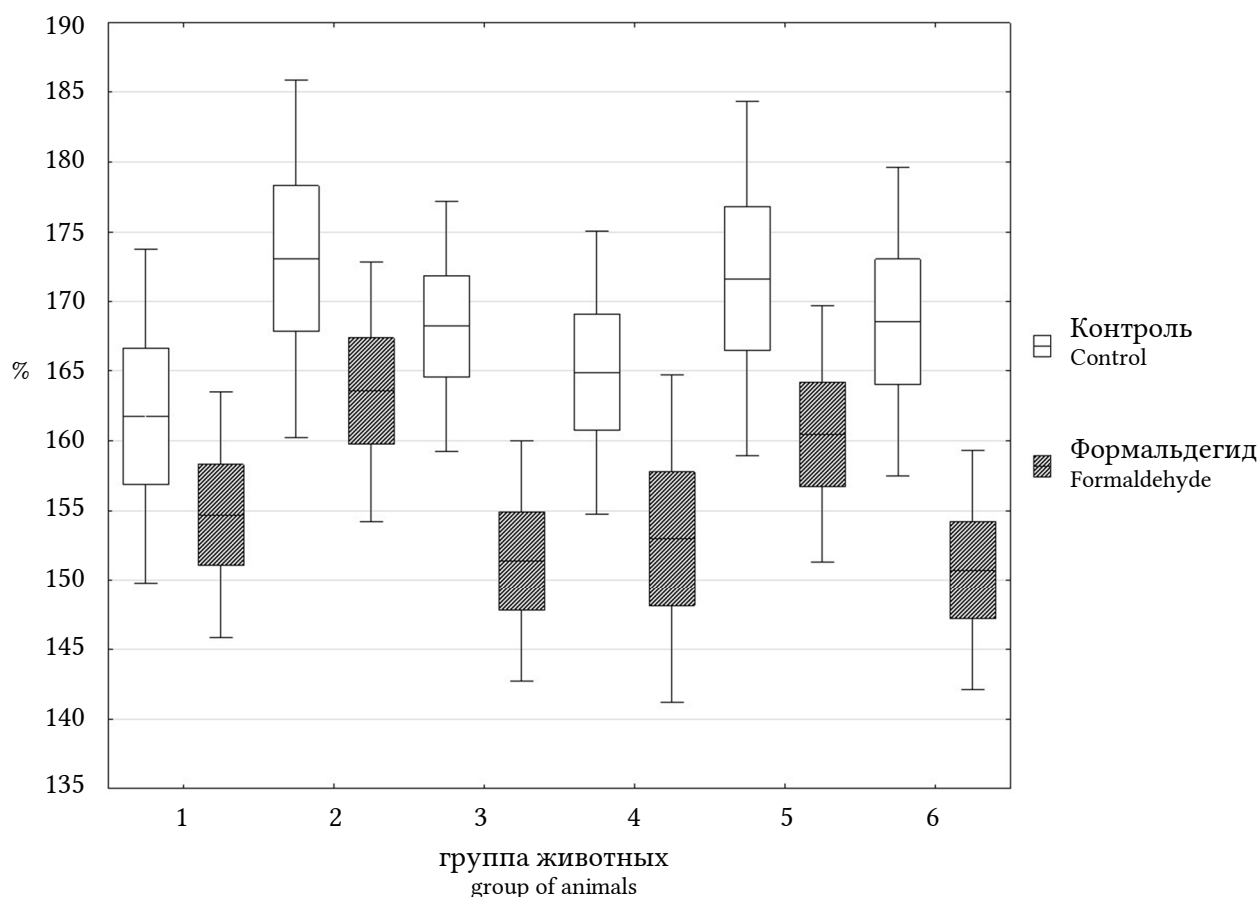


Рис. 5. Показатели количества клеток коркового вещества тимуса контрольных животных и крыс, подвергавшихся влиянию формальдегида. Линия – среднее; прямоугольник – среднее $\pm$ стандартная ошибка; отрезок – среднее $\pm$ стандартное отклонение.

Fig. 5. Indicators of the number of thymus cortical cells of control animals and rats exposed to formaldehyde. Line – mean; rectangle – mean $\pm$ standard error; segment – mean $\pm$ standard deviation.

Тимоциты коркового вещества вилочковой железы подвержены действию токсичных соединений при их непосредственном и косвенном (через высвобождение эндогенных кортикостероидов) влияниях. Вследствие этого динамику изменения гистологического строения вилочковой железы можно полагать моделью для определения иммунотоксичности разного рода ксенобиотиков. Эффекты ФА в отношении клеток тимуса ранее уже изучались [8], и способность ФА повышать частоту хромосомных aberrаций и мутаций генов следует считать подтвержденной. Последние могут быть вызваны прямым разрывом ДНК, репликацией поврежденной матрицы ДНК, ингибированием синтеза ДНК или другими механизмами. Кроме того, имеются данные о том, что ФА относится к соединениям, которые специфически ингибируют пролиферацию Т-лимфоцитов, при этом не снижая их жизнеспособность [19]. Все вышесказанное позволяет предположить причины установленной нами динамики гистоморфологических изменений вилочковой

железы животных, находившихся в условиях воздействия ФА.

Известно, что гипоталамо-гипофизарная система активно реагирует на стресс, вызванный, в том числе, и воздействием химических факторов, путем увеличения секреции кортикотропин-рилизинг-гормона в гипоталамусе, аденокортикотропина – в передней доле гипофиза, что приводит к увеличению продукции кортикостероидов в надпочечниках [21]. Ранее сообщалось, что введение экспериментальным животным глюкокортикоидов приводит к кариопикозу тимоцитов. При этом большое количество скоплений апоптотических клеток обнаруживается в корковом веществе тимуса уже через 3-24 часа после введения указанных гормонов [17]. Таким образом, одним из вероятных механизмов влияния ФА на строение тимуса можно считать стресс-индуцированное усиление функциональной активности надпочечников крыс и связанное с этим повышение продукции глюкокортикоидов.

В настоящем исследовании четкие морфологические признаки апоптоза тимоцитов были продемонстрированы уже через 10 дней воздействия ФА. С увеличением количества экспозиций ФА изменения со стороны строения тимуса на светооптическом уровне усиливались. Значительное количество тимоцитов имело признаки конденсации хроматина. Было отмечено, что многие макрофаги поглощают апоптотические материалы и апоптотические тела, а корковое вещество тимуса имеет вид «звездного неба». Эти результаты согласуются с данными Takai et al., которые наблюдали изменения гистологической структуры тимуса, вызванные повышенным уровнем глюкокортикоидов в крови [24]. Вероятно, это было результатом активности эпителиоретикулярных клеток и макрофагов. Как показано в работе Savill et Fadok, апоптотические клетки быстро поглощаются макрофагами для предотвращения высвобождения потенциально вредных и иммуногенных внутриклеточных «материалов» из погибающих клеток, тем самым сохраняя целостность и функцию окружающих тканей [22]. Фагоциты поглощают апоптотические, а не здоровые клетки, что указывает на то, что именно апоптотические клетки представляют сигнал фагоцитам, который воспринимается последними благодаря специфическому рецептору [18]. Среди факторов, которые способствуют поглощению апоптотических тел тимическими макрофагами, в настоящее время выделяется MFG-E8 (milk fat globule-EGF-factor 8), который специфически связывается с апоптотическими клетками путем распознавания аминокислотных остатков последних [6]. Такие аминокислоты, как PS и PE, локализованы на внутренней поверхности плазматической мембраны в здоровых клетках и появляются на наружной поверхности мембраны в случае, когда клетки подвергаются апоптозу [5].

Известно, что в организме существует физиологический баланс между активными формами кислорода и системой антиоксидантной защиты, а любое изменение или нарушение этого равновесия может запустить процесс окислительного стресса. Описанная ранее [20] способность экзогенного ФА нарушать механизмы антиоксидантной защиты мембран клеток может служить еще одним из объяснений генеза полученных в нашей работе результатов.

В представленной работе показано, что прекращение ингаляционного воздействия на организм крыс ФА приводит к некоторому

уменьшению эффектов изучаемого фактора на органомерические и гистоморфометрические показатели тимуса. Это согласуется с результатами исследования Songur et al., которые отметили уменьшение или исчезновение эффектов со стороны структуры гиппокампа, вызванных ФА, через 30-60 дней после прекращения воздействия этого фактора [23].

На основании полученных в представленной работе результатов можно сделать следующие выводы.

Ингаляционное воздействие ФА на крыс приводит к замедлению роста тимуса, что проявляется в уменьшении его абсолютного веса и линейных размеров.

Выявленные изменения в строении тимуса крыс, подвергавшихся воздействию ФА, на светооптическом уровне проявляются в уменьшении площади коркового вещества и увеличении в нем количества апоптотических тел.

Уменьшение выраженности изменений в тимусе животных, которые были выведены из эксперимента через 30 дней после прекращения воздействия ФА, свидетельствует об определенной степени обратимости изменений в тимусе.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии внешних источников финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование проводилось в соответствии с правилами и рекомендациями, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Совет Европы, Страсбург, 1986), и руководству по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях [1] (Н.Н. Каркищенко и др., Москва, 2010). Проведение исследования одобрено на заседании комиссии по вопросам биоэтики ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки» (протокол № 5 от 05.11.2018).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Каркищенко Н.Н., Грачев С.В., под ред. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. Москва: Профиль-2С; 2010. 358 с. [Karkishchenko N.N., Grachev S.V., editors. *Guide*

- to laboratory animals and alternative models in biomedical research. Moscow: Profil'-2S; 2010. 358 p. (in Russ.).
2. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. Москва: Мир, 1969. 646 с. [Lilli R. *Histopathological technique and practical histochemistry*. Moscow: Mir, 1969. 646 p. (in Russ.).]
3. Петушок Н.Е., Петушок В.Г., Ельчанинова М.А., Баньковский А.А., Требухина Р.В. Функциональная активность клеток крови и печени при ингаляционной интоксикации формальдегидом. *Биомедицинская химия*. 2005; 51(1): 76-80. [Petushok N.E., Petushok V.G., Yelchaninova M.A., Bankovsky A.A., Trebukhina R.V. Functional activity of blood and liver cells under formaldehyde intoxication via inhalation. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2005; 51(1): 76-80. (in Russ.).]
4. Сайфутдинов Т.А., Мамадиев Р.А., Павлова К.А., Исхакова Д.Р. Анализ способов интенсификации абсорбции формальдегида в производстве формалина. *Вестник технологического университета*. 2015;18(24): 45-46. [Sayfutdinov T.A., Mamadiyev R.A., Pavlova K.A., Iskhakova D.R. Analysis of formaldehyde absorption enhancement methods in formalin production *Vestnik tekhnologicheskogo universiteta*. 2015;18(24): 45-46. (in Russ.).]
5. Blankenberg F.G., Katsikis P.D., Tait J.F., Davis R.E., Naumovski L., Ohtsuki K., Kopiwoda S., Abrams M.J., Marilyn Darkes M., Robbins R.C., Maecker H.T., Strauss H.W. In vivo detection and imaging of phosphatidylserine expression during programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998; 95(11): 6349-6354.
6. Checkoway H., Ray R.M., Lundin J.I., Astrakianakis G., Seixas N.S., Camp J.E., Wernli K.J., Fitzgibbons E.D., Li W., Feng Z., Gao D.L., Thomas D.B. Lung cancer and occupational exposures other than cotton dust and endotoxin among women textile workers in Shanghai, China. *Occup Environ Med*. 2011; 68(6): 425-429. DOI: 10.1136/oem.2010.059519.
7. Cidlowski J.A., King K.L., Evans-Storms R.B., Montague J.W., Bortner C.D., Hughes F.M. The biochemistry and molecular biology of glucocorticoid-induced apoptosis in the immune system. *Recent Prog Horm Res*. 1996; 51: 457-491.
8. Costa S., Carvalho S., Costa C., Coelho P., Silva S., Santos L.S., Gaspar J.F., Porto B., Laffon B., Teixeira J.P. Increased levels of chromosomal aberrations and DNA damage in a group of workers exposed to formaldehyde. *Mutagenesis*. 2015.30(4): 463-473. DOI: 10.1093/mutage/gev002
9. Hanayama R., Tanaka M., Miwa K., Shinohara A., Iwamatsu A., Nagata S. Identification of a factor that links apoptotic cells to phagocytes. *Nature*. 2002; 417(6885): 182-187. DOI: 10.1038/417182a
10. International Agency for Research on Cancer. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. Vol. 88, Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxypropan-2-ol. Lyon: IARC; 2006. 496 p.
11. Kieber R.J., Zhou X., Mopper K. Formation of carbonyl compounds from UV-induced photodegradation of humic substances in natural waters: Fate of riverine carbon in the sea. *Limnology and Oceanography*. 1990; 35(7): 1503-1515. DOI: 10.4319/lo.1990.35.7.1503
12. Loh M.M., Levy J.I., Spengler J.D., Houseman E.A., Bennett D.H. Ranking cancer risks of organic hazardous air pollutants in the United States. *Environ Health Perspect*. 2007; 115(8): 1160-1168. DOI: 10.1289/ehp.9884.
13. Malinauskiene L., Blaziene A., Chomiciene A., Isaksson M. Formaldehyde may be found in cosmetic products even when unlabeled. *Open Med (Wars)*. 2015; 10(1): 323-328. DOI: 10.1515/med-2015-0047.
14. Marsh G.M., Youk A.O., Buchanich J.M., Erdal S., Esmen N.A. Work in the metal industry and nasopharyngeal cancer mortality among formaldehyde exposed workers. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2007; 48(3): 308-319. DOI: 10.1016/j.yrtph.2007.04.006
15. Na K., Cocker D.R. Fine organic particle, formaldehyde, acetaldehyde concentrations under and after the influence of fire activity in the atmosphere of Riverside, California. *Environ Res*. 2008; 108(1): 7-14. DOI: 10.1016/j.envres.2008.04.004.
16. Nowshad F., Islam M.N., Khan M.S. Concentration and formation behavior of naturally occurring formaldehyde in foods. *Agriculture & Food Security*. 2018; 7(17): 1-8. DOI: 10.1186/s40066-018-0166-4
17. Oldenburg N.B., Evans-Storms R.B., Cidlowski J.A. In vivo resistance to glucocorticoid-induced apoptosis in rat thymocytes with normal steroid receptor function in vitro. *Endocrinology*. 1997; 138(2): 810-818. DOI: 10.1210/endo.138.2.4912
18. Platt N., da Silva R. P., Gordon S. Recognizing death: the phagocytosis of apoptotic cells. *Trends Cell Biol*. 1998; 8(9): 365-367. DOI: 10.1016/S0962-8924(98)01329-4
19. Poirier M., Fournier M., Brousseau P., Morin A. Effects of volatile aromatics, aldehydes, and phenols in tobacco smoke on viability and proliferation of mouse lymphocytes. *J Toxicol Environ Health A*. 2002; 65(19): 1437-1451. DOI: 10.1080/00984100290071342
20. Ramos C. de O., Nardeli C.R., Campos K.K.D., Pena K.B., Machado D.F., Bandeira A.C.B., Costa G.de P., Talvani A., Bezerra F.S. The exposure to formaldehyde causes renal dysfunction, inflammation and redox imbalance in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2017.69(6): 367-372. DOI: 10.1016/j.etp.2017.02.008
21. Sari D.K., Kuwahara S., Tsukamoto Y., Hori H., Kunugita N., Arashidani K., Fujimaki H., Sasaki F. Effect of prolonged exposure to low concentrations of formaldehyde on the corticotropin releasing hormone neurons in the hypothalamus and

- adrenocorticotrophic hormone cells in the pituitary gland in female mice. *Brain Res.* 2004; 1013(1): 107-716. DOI: 10.1016/j.brainres.2004.03.070
22. Savill J., Fadok V. Corpse clearance defines the meaning of cell death. *Nature.* 2000; 407(6805): 784-788. DOI: 10.1038/35037722
 23. Songur A., Akpolat N., Kus I., Ozen O.A., Zararsiz I., Sarsilmaz M. The effects of the inhaled formaldehyde during the early postnatal period in the hippocampus of rats: A morphological and immunohistochemical study. *Neuroscience Research Communications.* 2003; 33: 168-178. DOI: 10.1002/nrc.10093
 24. Takai K., Shiraishi K., Fujikawa K., Hiragino T., Konishi M., Aoki A., Suga A., Fujimoto M., Nakamura K., Naito K. Effects of glucocorticoids on rat thymus and apoptosis. *Transplant Proc.* 2000; 32(7): 2082-2085. DOI: 10.1016/S0041-1345(00)01578-5
 25. Xing F., Song W., Lu Z., Zhang S. Research on Characteristics of Formaldehyde Emission of Medium Density Fiberboard Based on Chamber. *Journal of Building Materials.* 2015; 4: 688-691. DOI: 10.3969/j.issn.1007-9629.2015.04.026
 26. Zhang J., Sun R., Chen Y., Tan K., Wei H., Lihong Yin L., Pu Y. Small molecule metabolite biomarker candidates in urine from mice exposed to formaldehyde. *International Journal of Molecular Sciences.* 2014; 5(9): 16458-16468. DOI: 10.3390/ijms150916458

Поступила в редакцию 25.01.2019

Подписана в печать 21.03.2019

Для цитирования: Ваш И.Ю. Влияние формальдегида на морфогенез тимуса белых крыс. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».* 2019;(1):57–69. DOI: 10.21626/vestnik/2019-1/07.

EFFECT OF FORMALDEHYDE ON THYMUS MORPHOGENESIS OF WHITE RATS

© *Vash I.Yu.*

Saint Luka Lugansk State Medical University (Saint Luka LSMU)

1g, 50-let Oborony Luganska Sq., Leninsky district, Lugansk, 91045

Objective. The study of morphometric parameters of thymus of immature white rats exposed to inhalation of formaldehyde.

Materials and methods. It was studied the formaldehyde inhalation effects at concentration of 2.766 mg/m³ on the structure of the thymus of white male rats with an initial body weight of 40-50 g. Formaldehyde exposures were carried out for 1 h/day daily for 10, 20, 30, 60 and 90 days. We studied separately the morphogenesis of thymus of rats that after 60 days of exposure to formaldehyde for 30 days were under standard vivarium conditions.

Results. It has been established that the inhalation effect of formaldehyde leads to a decrease in the organometric parameters of the thymus gland in comparison with the control. In animals that were exposed to formaldehyde for 10 and 20 days, the average of the cortex area was lower than the control by 8.06% (p < 0.05) and 11.48% (p < 0.01), respectively. After 30 and 60 days of exposure to formaldehyde, this difference with control data was 13.60% (p < 0.02) and 13.98% (p < 0.001), respectively. A decrease in the area occupied by the cortex resulted in an increase in the area of the medulla.

Conclusion. Inhalation of formaldehyde causes a decrease in the area of the cortex of the thymus, an increase in the number of apoptotic bodies, which is manifested in the “starry sky” pattern. Reducing the severity of changes in the thymus of animals that were removed from the experiment 30 days after exposure to formaldehyde indicates that the changes in the thymus are reversible.

Keywords: thymus; formaldehyde; rat; morphogenesis; histology.

Vash Irina Yu. – Postgraduate Student at the Department of Human Anatomy, Operative Surgery and Topographic Anatomy, Saint Luka LSMU, Lugansk. ORCID iD: 0000-0001-9289-6788. E-mail: irinavash1988@mail.ru

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no external funding sources for the study.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The study was conducted in accordance with the rules and recommendations adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 18.III.1986) and the Guide to laboratory animals and alternative models in biomedical research (N.N. Karkishchenko et. al, Moscow, 2010). The research was approved by the Commission on Bioethics under State In-

stitution of Lugansk Public Republic "St. Luke's Lugansk State

Medical University" (Protocol No. 5 of 05.11.2018).

Received 25.01.2019

Accepted 21.03.2019

For citation: Vash I.Yu. Effect of formaldehyde on thymus morphogenesis of white rats. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik "Chelovek i ego zdorov'ye"* = *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2019;(1):57–69. DOI: 10.21626/vestnik/2019-1/07.