ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК АРМЕНИИ
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF ARMENIA
ДОКЛАДЫ ԶԵԿՈՒՅՑՆԵՐ REPORTS

Հատոր Том Volume 113 2013 № 3

БИОХИМИЯ

УДК 619:616-981.48-07:636.4

А. А. Агабабова, Н. О. Мовсесян, А. М. Акопян, О. А. Авакян

Морфогистохимические изменения при асцитной карциноме Эрлиха на фоне воздействия кишечной палочки

(Представлено академиком М.А. Давтяном 16/IV 2013)

Ключевые слова: *опухоль, микроорганизм, морфологические изменения, печень, мозг.*

Проблема канцерогенеза является одной из важнейших в современной медицине. Возникает вопрос: почему сопутствующие инфекции способны вызвать регрессию опухоли и в какой степени этот феномен обусловлен действием липополисахаридов (ЛПС), цитокинов либо других факторов. Патогенез ЛПС включает активацию бактериальными молекулами гуморальных и клеточных мишеней, высвобождение медиаторов, в том числе цитокинов, синтез биологически активных молекул, осуществляющих токсическую функцию в отношении инфекционного агента, а также ЛПС, способных вызвать выраженные метаболические изменения, апоптоз, воспалительный и иммуный ответ. Проникновение бактериальных ЛПС в системный кровоток наблюдается не только при острых и хронических инфекциях, но и при нарушениях функций интестициального барьера, при поражениях печени, травмах, ожогах, оперативных вмешательствах, стрессовых ситуациях, сопровождающихся транслокацией микроорганизмов из кишечника в кровоток [1]. Более того, если эпителий кишечника воспален и изъязвлен, то микроорганизмы и тем более продукты их жизнедеятельности беспрепятственно пересекают эпителиальный барьер и достигают лимфоцитов и, наконец, брыжеечных лимфоузлов. Дальнейшая их судьба зависит от состояния иммунитета. В здоровом организме моментально включается иммуновоспалительный механизм, нацеленный на быструю элиминацию проникших патогенов при развитии фазы острого воспаления с последующей столь же быстрой коррекцией воспаления – антивоспалением.

Как и почему развиваются воспалительные заболевания? С одной стороны – генетическая предрасположенность, нарушение иммуновоспалительной толерантности, несбалансированный ответ на собственные мик-

робные антигены, с другой – нарушение энергообеспечения нормальных функций, в том числе и барьерной.

Неповрежденная слизистая толстой кишки является достаточно надежным барьером, предотвращающим попадание эндотоксина в кровоток в больших количествах. Во всяком случае, в эксперименте чистый эндотоксин через кишечный эпителий не проникает. На сегодняшний день ясно, что практически у всех здоровых лиц эндотоксин можно обнаружить при помощи иммуноферментной реакции в тонких мазках крови на поверхности 3-4 % полиморфноядерных лейкоцитов [2]. Следовательно, хоть и в небольших количествах, зато постоянно эндотоксин проникает в кровоток.

Начиная с 2007 г. нами с комплексных позиций – бактериологических, биохимических, электронномикроскопических, гистохимических изучались транслокация некоторых микробов, их поведение при опухолевом процессе, в частности при аденокарциноме сигмовидной кишки, при острых лейкозах *in vivo* и *in vitro* [3, 4]. Согласно полученным данным у макроорганизма при аденокарциноме сигмовидной кишки наблюдались активация процесса транслокации фекальной флоры, в частности *E.coli*., из кишечника и выход ее в кровь соответственно инфицированию внутренних органов и опухоли. Полученные электронномикроскопические данные показали, что если кишечник, где происходили изменения с микробом, иногда необратимые (образование бесструктурных протопластов), является наименее благоприятной средой для *E.coli*, то кровь и тем более опухоль – наиболее благоприятные условия для ее существования [3, 4]. Если до настоящего времени нас интересовали поведение кишечной палочки при разных опухолевых процессах и ее активная транслокация, то в данном исследовании мы пытаемся проследить ее влияние на асцитную карциному Эрлиха. На данный момент первой и единственной бактерией, этиологическая роль которой неоспорима, является *Helicobacter pylori* [5]. Эта бактерия ответственна за более чем 60 % случаев рака желудка, что составляет около 5.5% всех случаев рака желудка в мире [5]. Что касается *E.coli*, то энтеропатогенная *E.coli* способна прикрепляться к кишечному эпителию, в дальнейшем инвазируя и вызывая воспаление, болезнь Крона и колоректальный рак [5]. Кроме того *E.coli* обладает некоторыми онкогенными токсинами: цитотоксическим некротизирующим фактором 1 и фактором ингибирования клеточного цикла.

Позитивную роль микрофлоры кишечника трудно недооценить: регуляция газового состава кишечника и других полостей организма; морфокинетические действия (у безмикробных животных снижена митотическая активность энтероцитов, скорость их миграции по микроворсинкам); продукция энзимов, участвующих в метаболизме белков, углеводов, липидов, нуклеиновых кислот, продукции биологически активных соединений (витамины, антибиотики, гормоны и др.); участие в водно-солевом обмене, в рециркуляции желчных кислот, холестерина и других макромолекул (микроорганизмы кишечника не только способны разрушать, модифицировать молекулу холестерина, но могут синтезировать данный стерин, а

также вызвать деструкцию и трансформацию желчных кислот, стероидных гормонов); мутагенная/антимутегенная роль; детоксикация экзогенных и эндогенных субстратов и метаболитов (процесс детоксикации идет по нескольким путям: биотрансформация с образованием нетоксичных конечных продуктов, микробная трансформация, сопровождающаяся образованием метаболитов, подвергшихся быстрой деструкции в печени; изменения полярности соединений, приводящие к изменению скорости их экскреции в окружающую среду или транслокации из кишечника в кровяное русло); обеспечение колонизационной резистентности и участие в неспецифической стимуляции иммунокомпетентных клеток и тканей (адьювантно-активные соединения, имеющие в качестве действующего начала ЛПС, мурамилдипептид), образуются из нормальной микрофлоры кишечника человека и животных под воздействием лизоцима и других литических агентов, постоянно присутствующих в просвете кишечника [2].

Целью настоящей статьи явилось исследование влияния ярко выраженного биологического фактора – кишечной палочки на опухолевый процесс. Нами использовались клинические штаммы *E.coli* как самые активные и легко транслоцируемые.

Исходной опухолью при асцитной карциноме Эрлиха послужил спонтанный рак молочной железы. По гистологическому строению это – недифференцированная опухоль, утратившая эпителиальный характер. При внутрибрюшинной прививке образуется асцит, богатый взвешенными в нем опухолевыми клетками. Прививается во всех без исключения случаях, не подвергается спонтанному рассасыванию. Латентный период после прививки длится 4-6 дней. Мыши, привитые внутрибрюшинно, живут в среднем 10-16 дней. Инфицирование кишечной палочкой делалось в течение недели начиная с первого дня после введения асцитной жидкости подопытным мышам. Инфицированные кишечной палочкой мыши были сравнительно активнее и жили в среднем на 2- 3 дня дольше.

Морфогистохимические исследования были проделаны в динамике; после инфицирования на 7-й и 12-18-й день в зависимости от того, сколько мыши жили, прямо перед гибелью. Сравнение проводилось между мышами с асцитной карциномой Эрлиха и мышами с асцитной карциномой Эрлиха, инфицированными кишечной палочкой.

Материалом для патоморфологического исследования служили кусочки ткани печени и мозга размером около 0.6х0.6х0.4 см, взятые у экспериментальных мышей. У этих же животных из брюшной полости бралась асцитическая жидкость (1 мл), к которой добавлялось несколько капель гепарина для предотвращения свертываемости. Потом жидкость помещали в центрифужную пробирку, центрифугировали 10 мин при 1500 об/мин, сливали надосадочную жидкость и из центрифугата готовили мазки, которые окрашивали методом Паппенгейма. Морфологические исследования материала проводились по общепринятой методике с последующей окраской препаратов гематоксилин-эозином. Обзорная характеристика гистограмм и цитограмм изучалась при увеличении микроскопа с окуляром E-PL-10 и объективом A-plan 10/0.25, 20/0.25 и 100/0.25.

У мышей 1-й серии исследований при изучении препаратов печени отмечалась сохранность структурных элементов, хотя местами наблюдалась некоторая размытость в архитектонике долек. Гепатоциты варьируют в размерах, в части клеток присутствуют дистрофические изменения. Основная часть клеток увеличена в размерах, ядро небольшой величины, цитоплазма широкая, светлая. В некоторых клетках пикноз и кариолизис. Часть клеток с укрупненным ядром с глыбчатым грубым хроматином. В капиллярах застой крови и краевое стояние эритроцитов (адгезия эритроцитов по периферии сосуда) (рис.1). В мозговой ткани наблюдались очаговая пролиферация нейроцитов и мелкие очаги межуточного отека (рис. 2).

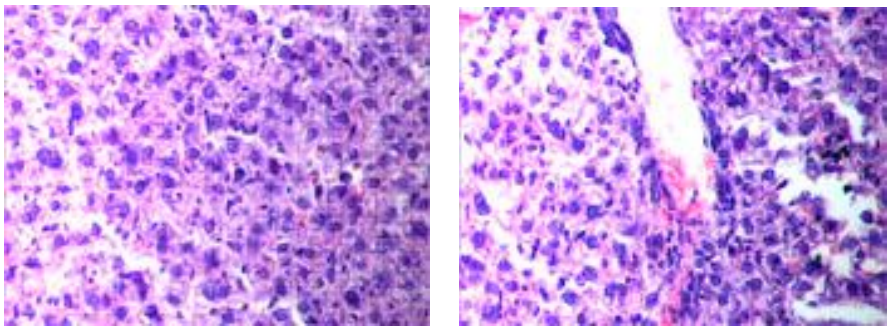


Рис. 1. Нарушение в структурном строении печеночных долек. Расширенные сосуды с краевым стоянием эритроцитов у мышей 1-й группы. Окраска гематоксилин-эозином. х100.

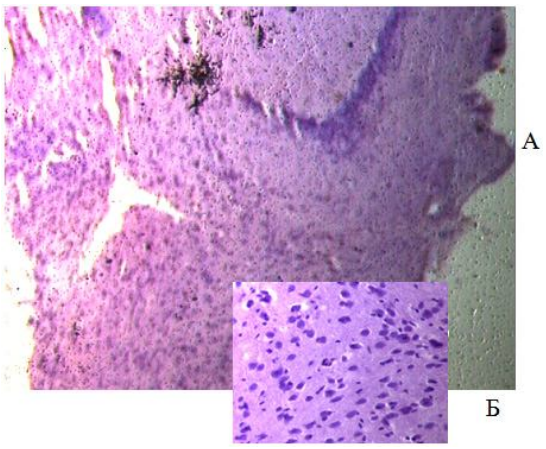


Рис. 2. Изменения в мозговой ткани в виде пролиферации клеток глии и развитие межуточного отека. Окраска гематоксилин-эозином. А – х100, Б – х200.

У мышей 2-й серии исследований цитограмма асцитической жидкости выявила значительное количество лимфоидных элементов, редкие клетки мезотелия и разрозненно лежащие гепатоциты с признаками умеренно выраженной анаплазии (клетки печени увеличены в размерах, ядра

крупные деформированные с грубыми зернами хроматина и несколькими ядрышками, часть клеток с обильной цитоплазмой) (рис. 3).

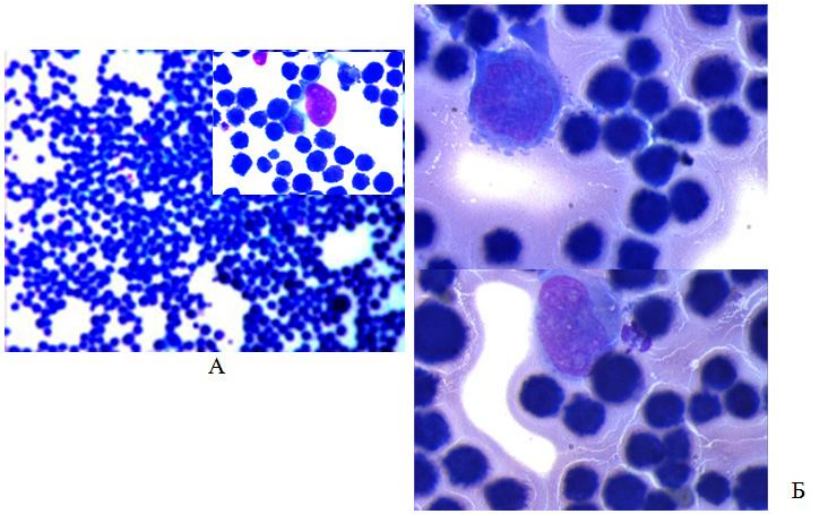


Рис. 3. Редкие гепатоциты с признаками умеренно выраженной анаплазии. Окраска по Паппенгейму. А – х200, Б – х1000.

При гистологическом исследовании препаратов печени обращало на себя внимание появление по периферии части долек участков некробиоза. Кроме того, наблюдались очаги разряжения в печеночной ткани, чередующиеся с участками уплотненного расположения гепатоцитов. Структура долек нарушена, отмечается трабекулярный тип роста клеток.

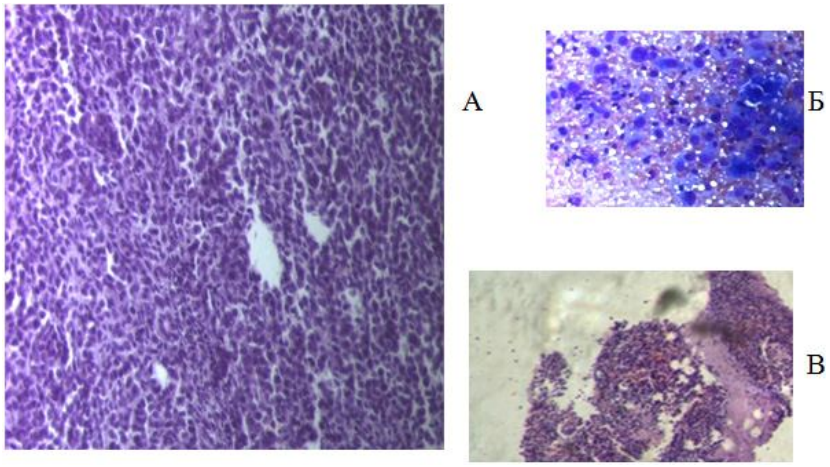
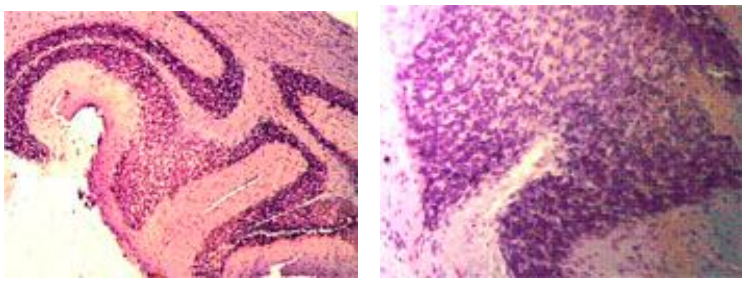


Рис. 4. Изменение архитектоники печеночной ткани, кровоизлияния, отек, очаги опухолевого роста. Окраска гематоксилин-эозином. А – х100, Б – х200, В – х50.

Имеются мелкие очаги кровоизлияний. Сами клетки с признаками слабо выраженной анаплазии (рис. 4).

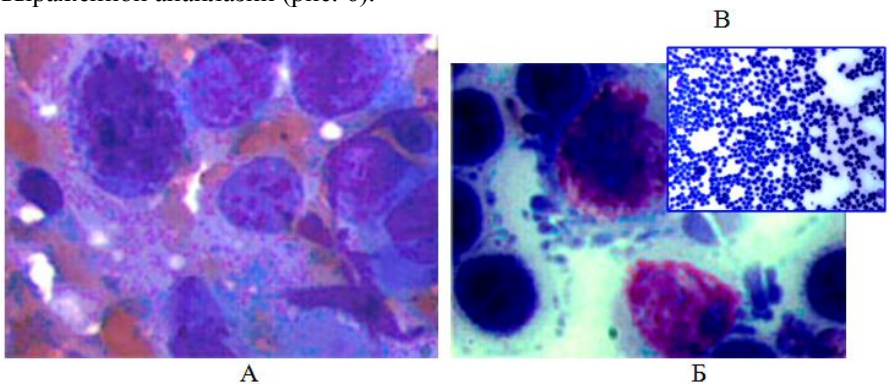
У мышей этой группы в мозговой ткани явления пролиферации нейроцитов носили более выраженный характер, в межуточной субстанции глии они располагаются в виде тонких лент (рис. 5).



А Б

Рис. 5. Пролиферация клеточных элементов ткани головного мозга. Окраска гематоксилин-эозином. А – х100, Б – х200.

При цитологическом изучении асцитической жидкости у мышей этой группы было обнаружено, что на фоне оксифильной субстанции и значительной лимфоидной инфильтрации располагается значительное количество разрозненно лежащих и мелких групп клеток печени с явлениями выраженной анаплазии (рис. 6).



А Б

Рис. 6. Гепатоциты с признаками анаплазии в асцитической жидкости. Окраска по Паппенгейму. А – х1000, Б – х1000, В – х200.

Гистологическое исследование подтвердило наличие у этой группы мышей диффузной солидной гепатоцеллюлярной карциномы печени умеренной и низкой степени дифференциации: клетки крупные, ядра разной формы, имеются ядрышки, много патологических митозов. Присутствуют светлые уродливые клетки (рис. 7).

Таким образом, исследования показали, что мыши экспериментальных групп страдают гепатоцеллюлярной карциномой с наличем метастатических очагов в брюшной полости и с развитием асцита. У мышей 1-й экспериментальной группы изменения в печени носят, в основном, дегенеративно-дистрофический характер, хотя и отмечаются участки с признаками клеточной дисплазии. В печеночной ткани мышей 2-й эксперименталь-

ной группы наблюдаются анапластические процессы слабой степени дифференциации. Обращают на себя внимание изменения в мозговой ткани.

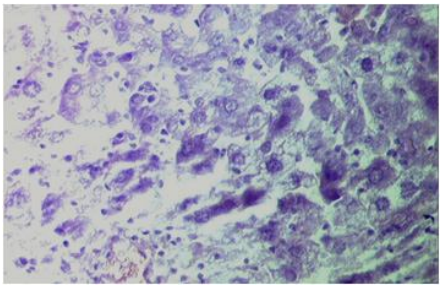


Рис. 7. Гепатоцеллюлярная карцинома низкой степени дифференциации. Окраска гематоксилин-эозином. х 100.

Так, отмечается значительная пролиферация клеточных элементов глии мозга, основная функция которых трофическая и опорная, причем у мышей 2-й группы эти изменения выражены значительно сильнее. Нужно отметить,что везде в поле зрения наблюдалась кишечная палочка, которая, возможно, и замедляла процессы дедифференцировки опухолевых клеток, таким образом продлевая мышам жизнь.

Институт биохимии им. Г.Х. Бунятяна НАН РА

А. А. Агабабова, Н. О. Мовсесян, А. М. Акопян,О. А. Авакян

Морфогистохимические изменения при асцитной карциноме Эрлиха на фоне воздействия кишечной палочки

Сравнительный анализ гистологического исследования тканей печени, мозга и асцитной жидкости у экспериментальных животных показал развитие гепатоцеллюлярной карциномы с метастазированием в брюшную полость. Также наблюдалась более выраженная воспалительная реакция в брюшной полости, которая возникала на фоне введения *E.coli*, что, возможно, замедляло процессы дедифференциации опухолевых клеток.

Ա. Ա. Աղաբաբովա, Ն. Օ. Մովսիսյան, Ա. Մ. Հակոբյան, Օ. Ա. Ավագյան

Էրլիխի ասցիտային կարցինոմայի ժամանակ մորֆոհիստոքիմիական փոփոխություններ աղիքային ցուպիկի ազդեցության ներքո

Գլխուղեղի, լյարդի և ասցիտային հեղուկի հիստոլոգիական հետազոտության համեմատական անալիզը էքսպերիմենտալ կենդանիների երկու խմբերում էլ ցույց տվեց հեպատոցելյուլյար կարցինոմայի զարգացում՝ մետաստազներով որովայնի խոռոչում: Որովայնի խոռոչում դիտվում է ավելի արտահայտված բորբոքային ռեակցիա, որը ի հայտ է գալիս *E.coli* ներարկման ֆոնի վրա, որը հնարավոր է՝ դանդաղեցնում է ուռուցքային բջիջների դեդիֆերենցիացիայի պրոցեսները:

A. A. Agababova, N. O. Movsesyan, A. M. Hkopyan, O. A. Avakyan B.

Morphohistochemical Changes in Ehrlich Ascites Carcinoma Arising in the Background of the Impact of *E. coli*

Morphohistochemical changes in Ehrlich ascites carcinoma arising in the background of the impact of *E. coli*.Comparative analysis of histological examination of liver tissue, brain, and ascites in experimental animals in both groups showed the development of hepatocellular carcinoma with metastasis to the abdomen. Also, there was a more expresses inflammatory reaction in the abdomen, which occurred on the background of *E.coli*, which can slow down processes of dedifferentiation of tumor cells.

Литература

1. *Бондаренко В.М., Лиходед В.Г.* - ЖМЭИ. 2008. № 5. С. 23-29.
2. *Рябиченко Е.В., Бондаренко В.М.* - ЖМЭИ. 2005. № 5. С. 76-81.
3. *Агабабова А.А., Авакян Л.А.* - ДНАН РА. 2009. № 3. С. 250-254.
4. *Авакян Л.А., Агабабова А.А.* - ДНАН РА. 2008. № 3. С. 262-269.
5. *Бухарин О.В.,Перунова Н.Б.* - ЖМЭИ. 2011. № 4. С. 56-61.