

ЗМІСТ-CONTENTS

МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН ТКАНИН І ОРГАНІВ У НОРМІ
ТА ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ПАТОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ

- Ковальчук Л.Я., Гнатюк М.С., Футуйма Ю.М.** Кількісна морфологічна оцінка особливостей ремоделювання артерій шлунка при виразковій хворобі (Johnson I) 5
- Мороз В.М., Колісник П.Ф., Колісник С.П., Хомовський В.В., Кравець Р.А.** Механізм формування структурних змін у тканинах органів при патологічних імпульсаціях з сегментарних вегетативних анатомічних утворень 7
- Мицкан Богдан, Попель Сергій, Файчак Роман** Вплив психоемоційного стресу на морфологічні властивості букального епітелію 10
- Козлов В.О., Жаріков М.Ю.** Гістотопографічне взаємовідношення компонентів міокарда у різних відділах серцевої стінки 12
- Захарова В.П. *, Федонюк Л.Я. **, Руденко О.В. *** Клапанні вади серця: механізми альтерації, що визначають розвиток різних патологічних процесів (за матеріалами гістологічних досліджень) 14
- Куц О.Г., Волошин М.А.** Кількісний та якісний склад лімфоцитів децидуальної тканини матки породіль при фізіологічно перебігаючій вагітності та при пізніх гестозах 16
- Шутка Б.В., Жураківська О.Я., Попадинець О.Г., Іваночко В.М., Гречин А.Б.** Морфофункціональні зміни міокарда передсердь на висоті дії загальної глибокої гіпотермії 18
- Горбенко В.М., Яковцова А.Ф. *, Масловський С.Ю. *, Кихтенко О.В. *** Зміна мітотичної активності епітеліальних злоякісних пухлин щитоподібної залози під впливом цитостатичної терапії 20
- Раскалей Д.В., Стеченко Л.О.** Ультраструктурні зміни пошкодженого нерва в умовах дії магнітного поля та лазерного випромінювання з різною частотою модуляції 21
- Єршов В.Ю.** Зміни інтрамурального нервового апарату кишки при атрезіях у новонароджених ... 24
- Баринів Е.Ф., Бондаренко Н.Н., Волошин В.В.** Ремоделювання нефронів при обструкції сечоводу: роль ангіотензину II 26
- Висоцька В.Г.** Хронобіологія тканинного фібринолізу нирки тварин при дії стресу та ксенобіотиків 28
- Герасименко В.В., Коноплицький В.С.** Корекція порушень постави і сколіозів першого та другого ступенів у дітей та підлітків 30
- Грушка Н.Г., Корнійчук Г.М., Макогон Н.В., Алексеєва І.М.** Вплив екзогенного тромбоксану В₂ на загибель культивованих гепатоцитів щурів за різними шляхами та участь мітохондрій в цих процесах 31
- Гнатюк М.С., Франчук В.В., Сельський П.Р., Андрійчук О.В.** Морфометрична оцінка вікових та патологічних змін кардіоміоцитів частин серцевого м'язу 33
- Заячківський С.А., Федонюк Я.І., Герасимюк І.Є.** Особливості структурно-просторової організації кровоносного русла серця собак за умов хірургічної корекції пострезекційної легеневої артеріальної гіпертензії 36
- Боднар Я.Я., Кузів О.Є., Боднар Р.Я., Сиваківський М.А., Сельський П.Р.** Морфогенез водно-електролітної міокардіопатії 38
- Калинюк І.Г., Головацький А.С., Попович Ф.А.** Зміни клітинного складу лімфоїдних вузликів слизової оболонки шлунка білих статевонезрілих щурів після антигенної стимуляції організму 40
- Коваленко Т.М., Осадченко І.О., Сможаник К.Г., Ніконенко О.Г., Скибо Г.Г.** Ультраструктурні основи відстроченої загибелі нейронів гіпокампу після експериментальної ішемії мозку 42
- Козлов В.О., Савенкова О.О., Козлов С.В.** Міокард – як функціонально неоднорідна структура 45
- Кочмарь М.Ю., Гербут А.О., Калинюк І.Г., Попович Ф.А.** Характеристика лімфоїдних структур стравоходу, шлунка та селезінки у статевозрілих білих щурів 46
- Лушнікова І.В., Маляревський П.Ю., Воронін К.Ю., Сможаник К.Г., Скибо Г.Г.** Моделювання ішемічного ушкодження мозку на культивованих зрізах гіпокампу 48
- Мардар Г.І., Трибовська С.В., Савчук Г.Г.** Динаміка змін морфології печінки при дії рентгенівського опромінення (РВ) і суміші солей важких металів (СВМ) 50
- Милованова М.І.** Вплив солей алюмінію та свинцю на транспорт іонів натрію в нирках білих щурів ... 52

- Орел Ю.М.** Структурно-просторова організація кровоносного русла плаценти при фізіологічному перебігу вагітності та різних ступенях хронічної плацентарної недостатності 54
- Орловський М.О., Скибо Г.Г.** Загибель нейронів гіпокампу при стрептозотоциновому цукровому діабеті 57
- Піскун Р.П., Шеремета Р.О., Степанюк Г.І.** Структурні зміни сенсомоторної кори великого мозку щурів в умовах гострого порушення мозкового кровообігу та при фармакокорекції похідним 1,4-нафтохінону 60
- Пришляк А.М., Гнатюк М.С.** Секреторна активність кардіоміоцитів передсердь у дослідних тварин з різною стійкістю до гіпоксії за умов інтоксикації кадмієм 62
- Скорейко П.М.** Анатомічні особливості венозної системи яєчка у плодів 6-7 місяців 65
- Сулима В.П., Гапонов В.В., Беспятый Д.О.** Обґрунтування методу диференціальної діагностики патологічних станів тканин прямої кишки 67
- Штутін А.А., Дмитрієв А.В., Зенін О.К.** Структурний кількісний критерій норми інтраорганного артеріального русла серця людини 69
- Телешева И.Б.** Возрастные изменения активности супероксиддисмутазы и каталазы в различных отделах спинного мозга человека 71
- Шутка Б.В., Попадинець О.Г., Жураківська О.Я., Іваночко В.М.** Світлооптичні та ультраструктурні зміни кровонесних судин сечового міхура на першу добу постгіпотермічного періоду 73
- Головата Т.К.** Морфогенез лімфогенного кардіосклерозу при хронічній алкогольній інтоксикації 75
- Гомоляко І.В., Копчак В.М., Татаршаов М.Т.-Б., Григорова І.В., Хомяк І.В.** Нова модель холецистититу та її морфологічна характеристика 76
- Волков К.С., Лучанко Л.Д., Самборський М.В.** Перебіг пристосувально-компенсаторних та регенераторних процесів у деяких органах травної системи при термічній травмі в умовах використання ліофілізованих ксенодермотрансплантатів 78
- Киричок О.М.** Вікові зміни в кістках скелета при адаптації організму до загального зневоднення ...80
- Островська С.С.** Порівняльна оцінка дії опромінення та поєднаної дії опромінення і кадмію на серце щурів при експериментальній нирковій гіпертонії 82
- Абрамов А.В., Камишний О.М., Преподобний Є.Ю.** Вплив L-аргініну на будову лімфоїдної популяції тимуса 84
- Галкін Д.Ю.** Морфологічні ознаки регресії пухлини раку шлунка 85
- Богун О.А., Гвозд'юк Ю.О.** Морфологічні зміни стінки тонкої кишки при обтураційній кишковій непрохідності 89
- Власов В.В., Малоголовка О.А., Півторак В.І.** Особливості анатомії трахеї і головних бронхів плодів людини 90
- Іщенко І.С., Стеченко Л.О., Куфтирева Т.П., Петренко В.А., Горовенко Л.К.** Вікові особливості змін ультраструктури міокарда мишей, які перебували в зоні відчуження у місті Чорнобилі 92
- Абдуллін Р.Ф.** Імуноекспресія панцитокератинів як маркер ступеня епітеліального диференціювання пухлини Вільмса 94
- Бенедикт В.В., Волков К.С., Гнатюк М.С.** Структурні зміни тонкої кишки при експериментальній механічній непрохідності 97
- Гончарова С.В.** Морфологія протокових карцином in situ молочної залози 99
- Заячківська О.С., Гаврилюк О.М., Нектегаєв І.О., Терлецька О.І., Ковальчук С.М., Паніна Л.В., Гжегоцький М.Р.** Фізіологічні механізми впливу мелатоніну як гепатопротектора за умов стрес-індукованих уражень 101
- Козлов В.О., Шаторна В.Ф., Савенкова О.О., Козлов С.В., Козловська Г.О.** Формоутворення структурних компонентів серця в нормі та при моделюванні вад розвитку 106
- Постолюк І.Г.** Стан рецепторного апарату до стероїдних гормонів в міоепітеліальних пухлинах молочної залози 108
- Климчук Л.Ф., Кузів О.Є., Левандовська К.В.** Вплив ендотоксемії на морфофункціональний стан нейтрофільних гранулоцитів крові опікових хворих ...110
- Гончарук С.Ф., Павлова О.С., Насібулін Б.А., Бахолдина О.І., Касьяненко Г.В.** Морфологічний та функціональний стан тимуса щурів в умовах бензоллової моделі імунодефіциту 112
- Горбоконь Н.М.** Застосування імуноморфологічного типування в диференціальній діагностиці тяжкої дисплазії та інвазивного раку шийки матки ..115
- Гуда Н.В.** Регенераторні процеси в опіковій рані у хворих з дермальними опіками при використанні фотооксигенованих ксенодермотрансплантатів ...117
- Гейленко О.А., Гомоляко І.В., Савицька І.М.** Морфологічні особливості формування рубця після електротермоадгезії печінки в експерименті 119

- Гортинська О.М., Карпенко Л.І., Моїсеєнко О.С., Романюк К.А., Будко Г.Ю.* Гістоморфометричні особливості реакції довгих кісток скелета в умовах споживання солей важких металів 121
- Рузибаєв Р.Ю.* Экспериментальное прицельное моделирование язвы желудка у крыс. I часть 123
- Кононенко В.С., Яворська О.В.* Рефлекторні впливи на вегетативний гомеостаз 125
- Каширіна Н.К., Рогозіна О.В.* Ультраструктурний та морфометричний аналіз гонадотропоцитів гіпофіза під впливом хронічної свинцевої інтоксикації 126
- Кондратюк Р.Б.* Особливості паренхіми, що впливають на стромоутворення в кишковому типі раку шлунка 128
- Поляков К.В.* Морфологічні особливості васкулопатій при легеневій артеріальній гіпертензії 130
- Корсак А.В., Стеченко Л.О., Куфтирева Т.П., Козак Г.І.* Морфологічні зміни периферійного нерва щура за умов його пошкодження та застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот 133
- Гульков Ю.К.* Морфологічні особливості раку шлунка дифузного типу 135
- Григорьева Е.А.* Особенности морфогенеза суставного хряща новорожденных крыс после введения гидрокортизона беременным 137
- Кучеренко Н.П.* Морфологічні зміни кишечника щурів під дією антибіотикотерапії 139
- Ремезюк Е.В., Боднар Я.Я., Дацко Т.В., Сельський П.Р., Леськів І.М.* Аналіз клітин запального інфільтрату періульцелярної зони при виразковій хворобі, ускладненій перфорацією 142
- Сікора В.В.* Ультраструктура кіркової речовини нирок щурів при споживанні солей важких металів 143
- Ющак М.В., Голод Б.В., Флекей П.П., Волошин В.Д.* Структурні та фізіологічні зміни в довгих кістках тварин з парасимпатотонічним типом вегетативної нервової системи при загальній дегідратації 146
- Цицюра Р.І.* Досвід використання А-бактерину у лікуванні гнійних ран 148
- Холодкова О.Л.* Стан репродуктивної функції самців білих мишей лінії ICR за умов адрибластинової інтоксикації 150
- Сафин Р.Я.* Применение иммунологических методов исследования нейтрофильных лейкоцитов трупной крови для определения давности наступления смерти 151
- Чорнописький О.Я., Волков К.С.* Морфологічні і кількісні зміни лейкоцитів периферійної крові при експериментальних опіках і використанні ліофілізованих ксенодермотрансплантатів 153
- Шашкова О.Н., Изатулин В.Г., Воймова Ю.С., Изатулин А.В., Провадо А.И.* Морфологические изменения в паренхиматозных органах, обусловленные преморбидным и токсическим стрессом при отравлениях прижигающими ядами и суррогатом алкоголя – этиленгликолем в эксперименте и клиническом исследовании 155
- Пермякова И.С.* Влияние комбинированной оральной контрацепции на примере препарата «Регулон» на систему адгезивной активности в системе “Candida Albicans – вагинальные эпителиоциты” 158

МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН ТКАНИН І ОРГАНІВ У НОРМИ ТА ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ПАТОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ

Ковальчук Л.Я., Гнатюк М.С., Футуйма Ю.М.

КІЛЬКІСНА MORFOLOGIЧНА OЦІНКА OСОБЛИВОСТЕЙ РЕМОДЕЛЮВАННЯ АРТЕРІЙ ШЛУНКА ПРИ ВИРАЗКОВІЙ ХВОРОБИ (JOHNSON I)

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

КІЛЬКІСНА MORFOLOGIЧНА OЦІНКА OСОБЛИВОСТЕЙ РЕМОДЕЛЮВАННЯ АРТЕРІЙ ШЛУНКА ПРИ ВИРАЗКОВІЙ ХВОРОБИ (JOHNSON I) – Комплексом морфометричних методів вивчені особливості структурної перебудови артерій шлунка при виразковій хворобі. Встановлено, що остання призводить до потовщення стінки досліджуваних судин, звуження їхнього просвіту, зменшення їхньої пропускної здатності та погіршення кровопостачання шлунка, ураження епітеліоцитів. При цьому морфологічні зміни більш виражені у артеріях дрібного калібру, які залежать від ступеня дисплазії.

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ MORFOLOGIЧESKAYA OЦЕНКА OСОБЕННОСТЕЙ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ АРТЕРИЙ ЖЕЛУДКА ПРИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ (JOHNSON I) – Комплексом морфометрических методов изучены особенности структурной перестройки артерий желудка при язвенной болезни. Установлено, что последняя приводит к утолщению стенки исследуемых сосудов, сужению их просвета, уменьшению их пропускной способности и ухудшению кровоснабжения желудка, поражению эпителиоцитов. При этом морфологические изменения более выражены в артериях мелкого калибра, которые зависят от степени дисплазии.

QUANTITATIVE MORPHOLOGIC EVALUATION OF THE PECULIARITIES OF GASTRIC ARTERIES REMODELLING IN ULCEROUS DISEASE (JOHNSON I) – Peculiarities of the structural reconstruction of gastric arteries in ulcerous disease have been studied by the complex of morphometric methods. It has been determined that ulcer results in thickening of the walls of the studied vessels, narrowing of their lumen as well as decrease of their carrying capacity, impairment of gastric blood supply and endotheliocyte damage. Besides, morphologic changes are more marked in small arteries that depend on the degree of dysplasia.

Ключові слова: виразкова хвороба шлунка, морфометрія, дисплазія.

Ключевые слова: язвенная болезнь желудка, морфометрия, дисплазия.

Key words: gastric ulcer, morphometry, dysplasia.

ВСТУП В останній час немало дослідників звертають увагу на ремоделювання органних артерій при різних патологічних станах. Ремоделювання судин – це відповідь усіх складових їхньої стінки на різні негативні фактори [3, 7]. Необхідно зазначити, що особливості ремоделювання артерій шлунка при виразковій хворобі вивчені недостатньо. Виходячи із сказаного, метою даної роботи стало морфологічне вивчення структурної перебудови стінки артерій шлунка при виразковій хворобі залежно від ступеня дисплазії.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Морфологічними та гістологічними методами досліджені артерії 57 шлунків, які були розділені на 3 групи. При цьому вивчалися артерії малої кривини шлунка. 1-ша група (контрольна) включала 14 стінок неураженого шлунка, 2-га – 30 хворих на виразку шлунка, де діагностовано помірно виражену дисплазію, 3-я – 13 стінок ураженого шлунка з тяжкою дисплазією. Для морфологічного дослідження вирізані шматочки стінки шлунка фіксували в 10 % нейтральному розчині формаліну, рідинах Карнуа, Ценкера, 96° етилового спирті, і після відповідного проведення через спирти зростаючої концентрації заливали в парафін. Мікротомні зрізи фарбували гематоксилін-еозин, пікрофусцином за Ван-Гізона, Маллорі, Вейгертом, визначали ДНК та РНК. Морфометрично визначали зовнішній діаметр артерій (ДЗ), діаметр просвіту (ДВ), товщину медії (ТМ), висоту ендотеліоцитів (ВЕ), діаметр ядер ендотеліоцитів (ДЯЕ), ядерно-цитоплазматичні

відношення в цих клітинах (ЯЦВЕ) та відносний об'єм уражених ендотеліоцитів (ВОПЕ). Артерії шлунка ділили на судини середнього (діаметр 51 - 125 мкм) та дрібного калібру (діаметр 25-50 мкм) за С.В. Шормановим [8]. При морфометрії артерій притримувались правил та рекомендацій Г.Г. Автанділова [1, 2]. Визначався також мітотичний індекс епітеліоцитів. Кількісні показники оброблялися статистично. Достовірність різниці між порівняльними цифровими величинами визначали за Стьюдентом [4].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Морфологічна характеристика артерій шлунка середнього та дрібного калібрів показана в таблиці 1. Необхідно зазначити, що мітотичний індекс в контрольній групі дорівнював (5,82±0,18), у 2-й групі – (10,40±0,51), а у 3-й – (27,60±1,50). Аналізом представлених у таблиці кількісних величин встановлено, що в ураженому шлунку при помірній та тяжкій дисплазії змінювалися структура артерій середнього та дрібного калібрів. Так, зовнішній діаметр досліджуваних артерій середнього калібру при помірній дисплазії зріс на 3,2 %, а при тяжкій – на 4,8 %. Внутрішній діаметр цих судин при цьому зменшувався на 5,7 та 10,0 %. Товщина медії судин в цих патологічних умовах зростає при помірній дисплазії на 6,5 %, а при тяжкій – на 12,2 %. Ще у більшому ступені змінювався індекс Вогенворта. Так, при помірній дисплазії останній зростає з (257,60±6,60) до (306,30±7,20) %.

Наведені цифрові величини статистично достовірно ($P<0,01$) між собою відрізнялися і останній показник перевищував попередній на 48,7 %. При тяжкій дисплазії індекс Вогенворта зріс на 91,6 %. Знайдене потовщення стінки досліджуваних артерій, звуження їхнього просвіту, зростання індекса Вогенворта свідчили про істотне зменшення їхньої пропускної здатності [1, 8].

Висота ендотеліоцитів лише при тяжкій дисплазії статистично достовірно ($P<0,05$) відрізнялася від аналогічної контрольної і перевищувала її на 12,3 %. В даних умовах патології збільшилися на 15,1 % просторові характеристики ядер цих клітин. Нерівномірне зростання розмірів ендотеліоцитів та їхніх ядер призводило до порушення ядерно-цитоплазматичних відношень в цих клітинах. Знайдені зміни останніх свідчили про порушення клітинного структурного гомеостазу [5]. В досліджуваних патологічних умовах зростає також відносний об'єм пошкоджених ендотеліоцитів. Так, при помірній дисплазії він збільшився на 12,5 %, а при тяжкій – майже на 17,0 %. Ступінь структурної перебудови стінки артерій дрібного калібру в ураженому шлунку був більш вираженим, порівняно із судинами середнього калібру. Так, зовнішній діаметр артерій дрібного калібру при помірній дисплазії зріс на 5,0, а при тяжкій – на 14,2 %. Просвіт цих судин відповідно зменшився на 12,2 та 31,2 %. Товщина медії при цьому також зростала при помірній дисплазії на 13,2 %, а при тяжкій майже на 17,0 %, індекс Вогенворта відповідно – 123,3 та 491,5 %. Отже, отримані дані свідчать, що пропускна здатність артерій ураженого шлунка була зменшена набагато більше порівняно з артеріями середнього калібру. За даними деяких дослідників

Таблиця 1. Морфометрична характеристика артерій ураженого шлунка при різних ступенях дисплазії (M±m)

Показник	Групи спостережень		
	Контрольна n = 14	помірна дисплазія n = 33	тяжка дисплазія n = 15
артерії середнього калібру			
ДЗ, мкм	78,80±2,40	81,30±2,70	82,60±3,30
ДВ, мкм	49,10±1,20	46,30±1,50	44,20±1,20*
ТМ, мкм	12,30±0,36	13,10±0,33	13,80±0,36*
ІВ, %	257,60±6,60	306,30±7,20**	349,20±7,50***
ВЕ, мкм	5,84±0,15	6,10±0,18	6,56±0,21*
ДЯ, мкм	3,05±0,12	3,20±0,15	3,51±0,18*
ЯЦВЕ	0,272±0,006	0,276±0,008	0,293±0,007*
ВОПЕ, %	1,83±0,06	14,30±0,45***	18,80±0,51***
артерії дрібного калібру			
ДЗ, мкм	36,00±1,20	37,80±1,50	41,10±1,80*
ДВ, мкм	21,52±0,63	18,90±0,45**	14,80±0,42***
ТМ, мкм	6,36±0,18	7,20±0,21*	7,44±0,24**
ІВ, %	279,80±8,10	403,10±10,50***	771,30±19,20***
ВЕ, мкм	5,73±0,15	5,96±0,18	6,64±0,21**
ДЯ, мкм	2,93±0,06	3,18±0,08**	3,80±0,09***
ЯЦВЕ	0,216±0,007	0,285±0,009**	0,326±0,012**
ВОПЕ, %	1,88±0,09	19,60±0,51***	36,10±1,80***

Примітка: зірочкою позначені величини, що статистично достовірно відрізняються від контрольних (* - P<0,05; ** - P<0,01; *** - P<0,001)

артерії дрібного калібру відіграють основну роль у кровопостачанні органів та регуляції в них кровотоку і при патологічних станах пошкоджуються вираженіше порівняно з судинами вищих калібрів [1, 8].

Висота ендотеліоцитів досліджуваних судин при помірній дисплазії зросла на 4,8 %, а при тяжкій – на 15,9 %, діаметри ядер при цьому збільшувалися відповідно на 8,5 та 29,7 %. Нерівномірне та диспропорційне зростання просторових характеристик ядер та ендотеліоцитів досліджуваних артерій призводило до порушення ядерно-цитоплазматичних відношень у названих клітинах. При цьому даний морфометричний показник при тяжкій дисплазії досягав (0,326±0,012) і перевищував аналогічну контрольну величину на 24,9 %. Знайдені зміни даного показника свідчили не тільки про виражену нестабільність, а й зрив та поломку клітинного структурного гомеостазу [5]. Відносний об'єм пошкоджених ендотеліоцитів у дрібних артеріях шлунка при помірній дисплазії досягав (19,60±0,51) %, а при тяжкій – (36,10±1,80) %, що перевищувало аналогічну контрольну величину відповідно у 10,4 та 19,2 раза. Світлооптично в досліджуваних судинах спостерігали набряк їхньої стінки, вогнища фібриноїдного некрозу, міоеластофіброз, структурно-просторову перебудову міоцитів та ендотеліоцитів, а також вогнища десквамації останніх.

Отже, при хронічній виразковій хворобі відмічається виражена структурна перебудова стінки артерій та ендотеліоцитів, яка більш виражена в судинах дрібного калібру. Пошкодження ендотеліоцитів призводить до їхньої дисфункції, яка відіграє важливу роль у патогенезі багатьох захворювань. Сьогодні ендотелій розглядають, як багатифункціональний ендокринний орган, що містить рецептори до різних гормонів, як важливу систему регуляції тону судин, що секретує і звільняє у кров та судинну стінку речовини, що мають вазоконстрикторну та вазодилаторну дію. Серед релаксуючих чинників найпотужнішим є оксид азоту (NO), який синтезується в ендотеліоцитах з амінокислоти L-аргініну під впливом NO-синтази. Найбільш виражену вазоконстрикторну дію мають вазоактивні пептиди - ендотеліні. При пошкодженні ендотеліоцитів виникає ен-

дотеліальна дисфункція, що призводить до зниження секреції ендотеліоцитами оксиду азоту, збільшення синтезу ендотеліну-1, рівня ендоперексидів і активних форм кисню, зниження чутливості гладком'язових клітин до вазодилаторів [6]. Порушення структури ендотеліоцитів призводить до їхньої дисфункції, блокади NO-синтази, зменшення синтезу NO і процесів його активації. Ці процеси супроводжуються спазмом та звуженням судин, що не лише підтримує, а й посилює набряк, дистрофічні та некробіотичні зміни в тканинах [9].

Отже, на основі отриманих результатів дослідження можна зробити висновок, що при хронічній виразці шлунка виникає істотна структурна перебудова стінки артерій, яка характеризується потовщенням їхньої стінки, звуженням просвіту та ураження ендотеліоцитів. При цьому морфологічні зміни більш виражені у артеріях дрібного калібру і залежать від ступеня дисплазії. Подальше вивчення цих процесів суттєво розширить існуючі уявлення про морфогенез уражень судинної стінки і дозволить проводити їхню адекватну діагностику, корекцію та профілактику.

ЛІТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990.- 318с.
2. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии. – М.: Медицина, 2002. – 240с.
3. Калинин Н.В., Кашонская О.К., Кетинг Е.В. Ремоделирование артерий при сердечно-сосудистых заболеваниях // Серце і судини, 2004. - №4 (8). – С. 87-92.
4. Лапач С.Н., Губенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях. Excel- Киев: Морион. – 2001. – 410 с.
5. Саркисов Д.С. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. – М.: Медицина, 1997. – 330 с.
6. Чоп'як В.В. Ендотеліоцит і фізіологія та патологія // Серце і судини. – 2004. - №1 (15). – С. 105-109.
7. Шестакова М.В. Дисфункция эндотелия – причина или следствие метаболического синдрома // Рос. мед. журн. – 2001, №2. – С.88-90.
8. Шорманов С.В. Морфологические изменения коронарных артерий при экспериментальной коарктации аорты и после ее удаления // Арх. анатомии. – 1992. – Т.82, №1. – С. 98-107.
9. Britten M. Clinical importance of coronary endothelium vasodilator dysfunction and therapeutic options // J. Intern. Med. – 1999. – V. 24, № 4. – P. 315-324.

**Мороз В.М., Колісник П.Ф., Колісник С.П., Хомовський В.В., Кравець Р.А.
МЕХАНІЗМ ФОРМУВАННЯ СТРУКТУРНИХ ЗМІН У ТКАНИНАХ ОРГАНІВ ПРИ ПАТОЛОГІЧНИХ
ІМПУЛЬСАЦІЯХ З СЕГМЕНТАРНИХ ВЕГЕТАТИВНИХ АНАТОМІЧНИХ УТВОРЕНЬ**

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова

МЕХАНІЗМ ФОРМУВАННЯ СТРУКТУРНИХ ЗМІН У ТКАНИНАХ ОРГАНІВ ПРИ ПАТОЛОГІЧНИХ ІМПУЛЬСАЦІЯХ З СЕГМЕНТАРНИХ ВЕГЕТАТИВНИХ АНАТОМІЧНИХ УТВОРЕНЬ – Вертеброгенна патологія досить часто зустрічається в загальнотерапевтичній практиці. Збільшення кількості вертебрологічних хворих призводить до зростання вертеброгенних захворювань внутрішніх органів та систем. Тому метою нашого дослідження є розкриття механізмів впливу патологічних змін хребтових сегментів на генез порушень у тканинах внутрішніх органів, виникнення вертеброгенних захворювань та розвиток резистентної до фармакологічного лікування терапевтичної патології. Виявлення травмуючих елементів і дослідження їх впливу на стан внутрішніх органів проводилось у терапевтичних хворих з резистентними до лікування захворюваннями та супутньою патологією хребта. Вплив сегментарних вегетативних структур на мікроциркуляторну систему тканин при їх подразненні або блокуванні імпульсу вивчався в дослідіах на щурах. Після проведеного вертебрологічного лікування достовірно покращувався стан мікроциркуляції тканин та функціональні показники діяльності внутрішніх органів. В експерименті встановлена чітка залежність стану мікроциркуляторного русла від впливу сегментарних вегетативних нервових структур.

МЕХАНИЗМ ФОРМИРОВАНИЯ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТКАНЯХ ОРГАНОВ ПРИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИМПУЛЬСАЦИЯХ ИЗ СЕГМЕНТАРНЫХ ВЕГЕТАТИВНЫХ АНАТОМИЧЕСКИХ ОБРАЗОВАНИЙ – Вертеброгенная патология довольно часто встречается в общетерапевтической практике. Увеличение количества вертебрологических больных приводит к росту вертеброгенных заболеваний внутренних органов и систем. Поэтому целью нашего исследования является раскрытие механизмов влияния патологических изменений позвоночных сегментов на генез нарушений в тканях внутренних органов, возникновение вертеброгенных заболеваний и развитие резистентной к фармакологическому лечению терапевтической патологии. Выявление травмирующих элементов и исследование их влияния на состояние внутренних органов проводилось у терапевтических больных с резистентными к лечению заболеваниями и сопутствующей патологией позвоночника. Влияние сегментарных вегетативных структур на микроциркуляторную систему тканей при их раздражении или блокировании импульса изучалось в опытах на крысах. После проведенного вертебрологического лечения достоверно улучшалось состояние микроциркуляции тканей и функциональные показатели деятельности внутренних органов. В эксперименте установлена четкая зависимость состояния микроциркуляторного русла от влияния сегментарных вегетативных нервных структур.

THE MECHANISM OF FORMING STRUCTURAL CHANGES IN TISSUES OF ORGANS AT THE PATHOLOGICAL IMPULSE FROM THE SEGMENTAL VEGETATIVE ANATOMIC FORMATIONS – The vertebrologic pathology enough often occurs in the general practice. Increase of vertebrologic patients quantity results in to growth of the vertebrologic diseases of inner organs and systems. Therefore the aim of our research was to open the mechanisms of pathologic changes influence of vertebral segments on the development of organ tissues abnormalities, origin of vertebrologic diseases and development of resistance to the pharmacologic treatment of therapeutic pathology. The revelation of traumatic elements and their influence on the inner organs condition was assessed in the therapeutic patients with the concomitant spine pathology and resistance to the generally accepted schemes of medical treatment. The influence of segmental vegetative structures on the microcirculatory system of tissues in case of their irritation or impulse blocking was studied in the experiments on rats. After performed vertebrologic treatment the condition of tissues microcirculation and functional activities of inner organs were significantly improved. The clear dependence of microcirculatory stream condition from influence of segmental vegetative nervous structures was determined in the experiment.

Ключові слова: мікроциркуляторне русло, патологія хребта, сегментарні вегетативні структури, структурні зміни, трофічний комплекс тканин.

Ключевые слова: микроциркуляторное русло, патология позвоночника, сегментарные вегетативные структуры, структурные изменения, трофический комплекс тканей.

Key words: microcirculatory stream, spine pathology, segmental vegetative structures, structural changes, tissues trophic complex.

ВСТУП Серед пацієнтів терапевта та спеціалістів інших медичних профілів досить часто зустрічаються хворі з вер-

теброгенною патологією. В загальній структурі захворювань з тимчасовою втратою працездатності вертебрологічні хворі займають одне з перших місць [3, 6]. Спостерігається тенденція до збільшення кількості вертебрологічних хворих, що призводить до зростання вертеброгенних захворювань внутрішніх органів та систем.

Наукові роботи з нейровегетології дають можливість прогнозувати ступінь вертеброгенних впливів на інші органи та системи [1]. При зміні хребців, міжхребцевих дисків, суглобів, зв'язок виникають умови для подразнення чи навіть компресії сегментарних вегетативних структур сегмента, і ця патологічна імпульсація передається на інші органи [1, 3, 6, 7].

Прикладом вертеброгенних впливів на органи та системи може бути виникнення аритмії серця при подразненні вегетативних шийних гангліїв, зокрема – зірчастого [5, 7]. Звичайно, безпосередньою причиною появи аритмії є порушення в провідниковій системі серця, але останні пов'язані з мікроциркуляторними змінами, які, в свою чергу, залежать від сегментарних вегетативних порушень.

Функціонування мікроциркуляторного русла цілком залежить від потреб органів та тканин у кисні, поживних речовинах, пластичному матеріалі, а також від стану вегетативної іннервації. За даними Шахламова А.А. [8], вегетативну сегментарну іннервацію отримують не лише артерії, але й артеріоли і навіть капіляри. Тому порушення у вегетативній нервовій системі на рівні сегментів обов'язково призводить до змін у мікроциркуляторному руслі органів та їх тканинах. Рівень наукових досягнень у дослідженнях кардіальної вертеброгенної патології вищий порівняно з іншими вертеброгенними захворюваннями внутрішніх органів. Значних здобутків досягли автори у вивченні шийного гіпертензивного синдрому. Більшість авторів вважає, що гіпертензія виникає внаслідок гіпоксії певних ділянок головного мозку в зв'язку з порушеннями локальної гемодинаміки [2, 3]. Відомо, що патологія верхньогрудних спинномозкових нервів супроводжується боєм в глотці, стравоході, ділянці серця. Відомі роботи, що вказують на порушення ритму серця вертеброгенного характеру, коронарний спазм, зміни трофіки міокарда при захворюваннях хребта. На електрокардіограмах в період загострення захворювань хребта реєструються ознаки порушень метаболізму в міокарді. Лише в окремих роботах подані відомості про вертеброгенну патологію інших внутрішніх органів і систем.

У зв'язку з викладеним вище, великого практичного значення набуває розробка теоретичних основ, які б висвітлювали шляхи та механізми передачі патологічних змін хребта на інші органи та системи. Важливим також є розкриття механізмів формування структурних змін у тканинах органів при патологічних імпульсаціях з сегментарних вегетативних анатомічних утворень.

Мета дослідження. Розкрити механізми впливу патологічних змін хребтових сегментів на генез порушень у тканинах внутрішніх органів, виникнення вертеброгенних захворювань та розвиток резистентної до фармакологічного лікування терапевтичної патології.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Для клінічних та інструментальних досліджень відбирали терапевтичних хворих з супутньою патологією хребта, у яких протягом значного терміну загальноприйнятого лікування не спостерігався достатній терапевтичний ефект. Для верифікації захворювань хребта і виявлення травмуючих елементів проводили рентгенографію в прямій та бічній проекціях. З метою візуал-

ізації рентген-негативних змін, застосовували магнітно-резонансну або комп'ютерну томографію.

В таблиці 1 подано аналіз рентгенологічних змін в сегментах хребта у обстежених хворих. Частіше виявляли ос-

теохондроз, остеопороз, спондилоартроз, спондилоз та лігаментоз. У ролі травмуючих патологічних змін були діагностовані остеофіти, псевдоостеофіти, зміщення хребців, осифікати, деформації суглобових відростків тощо.

Таблиця 1. Нозологічні форми патології хребта і травмуючі елементи, виявлені при рентгенологічному дослідженні

Подразнюючі та компресуючі елементи	Захворювання хребта			
	Остеохондроз n-190	Остеопороз n-223	Спондилоартроз n-227	Спондилоз та лігаментоз n-68
Остеофіти	177 (75,6 %)			
Відхилені кути хребців (псевдоостеофіти)		222 (99,6 %)		
Зменшення ширини та висоти міжхребцевих отворів	182 (93,2 %)	220 (98,7 %)	115 (50,7 %)	55 (80,9 %)
Зміщення кісткової маси		59 (26,5 %)		
Спондилолітези та дисторзії	125 (65,8 %)	45 (20,2 %)	27 (11,9 %)	
Осифікації зв'язок				59 (86,9 %)
Деформація суглобових відростків		210 (94,2 %)	219 (96,5 %)	
Зменшення ширини щілини міжхребцевих суглобів			219 (96,5 %)	

Вивчення порушень у різних органах та системах під час подразнення або компресії сегментарних вегетативних структур проводилось з урахуванням того, що ці порушення будуть реалізовуватись через зміни в мікроциркуляторному руслі тканин. Тому, перш за все, ми досліджували зміни мікроциркуляторних показників, прямих або опосередкованих (непрямих), залежно від технічних можливостей.

Всім хворим з рефрактерною до лікування терапевтичною патологією, асоційованою з захворюваннями хребта, проводилось загальноклінічне, лабораторне дослідження, фізикальна діагностика хребта, органів та систем, а також інструментальні методи обстеження залежно від терапевтичної патології: електрокардіографія, ритмографія, центральна і регіональна гемодинаміка, спірографія, електрогастрографія, рН-метрія, ультразвукове дослідження жовчного міхура та підшлункової залози. Для вивчення регіональної гемодинаміки та деяких мікрогемодинамічних показників застосовувався реографічний метод.

Електрокардіограма (ЕКГ) записувалась у дванадцяти загальноприйнятих відведеннях, а також у вигляді ритмограми. Детально оцінювали ЕКГ показники, які залежать від коронарної гемодинаміки та мікроциркуляції. Найбільш інформативними показниками зміни коронарної гемодинаміки та мікроциркуляції за даними ЕКГ є порушення ритму, провідності, амплітуда зубців R і T, а також інтервал S-T.

Крім прямих та непрямих показників мікрогемодинаміки для оцінки сегментарних вегетативних впливів на трофіку тканин використовували функціональні дослідження внутрішніх органів, які відображають зміни тонуусу та моторики органа, електричну активність, секрецію.

Для вивчення впливу сегментарних вегетативних структур в період їх подразнення та блокування імпульсу,

безпосередньо на мікроциркуляторну систему були проведені досліди на щурах, наркотизованих нембуталом (40 мг/кг). Догляд за тваринами в умовах виварію та метод їх умертвіння проводились згідно з "Правилами проведення робіт з використанням експериментальних тварин".

Дослідження мікроциркуляції під час стимуляції вегетативних гангліїв симпатичного стовбура, а також блокуванні імпульсів, проводили за допомогою оптичного мікроскопа при збільшенні в 40-150 разів. Об'єктом спостереження була вибрана брижа, оскільки тут представлені всі структурні елементи мікроциркуляторного русла.

Всі цифрові показники, отримані під час виконання інструментальних досліджень і в експериментах, статистично опрацьовані за загальноновизнаними методиками.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ДОСЛІДЖЕННЯ

За даними кон'юнктивальної біомікроскопії у пацієнтів з ознаками подразнення на рівні шийних сегментів переважали такі мікроциркуляторні зміни як спазм артеріол, збільшення кількості відкритих артеріоловеноулярних анастомозів, зменшення кількості функціонуючих капілярів. При компресії сегментарних вегетативних структур виявляли периваскулярний набряк, сладж-синдром, мікротромбози, зменшення кількості функціонуючих капілярів.

Після вертебрологічного лікування сладж-синдром практично зникав, значно зменшувався периваскулярний набряк, зростала кількість функціонуючих капілярів.

Результати статистичного аналізу динамічних мікроциркуляторних показників (таблиця 2) підтверджують значний вплив сегментарних вегетативних нервових структур на мікроциркуляцію органів, а отже і на їх трофіку та функціональний стан.

За показниками реоенцефалографії (РЕГ) у хворих після вертебротерапії значно збільшувалась амплітуда швидкого (A₁) та максимального (A₂) кровонаповнення артеріаль-

Таблиця 2. Зміна динамічних показників кон'юнктивальної мікроциркуляції під впливом вертебротерапії

Показники	До лікування		Після лікування	p(t) p(χ ²)
	n	M±m	M±m	
Співвідношення діаметрів артеріол і венул (бали)	42	2,571 ± 0,128	0,610 ± 0,115	<0,001
Кількість функціонуючих капілярів (бали)	42	3,000 ± 0,000	0,000 ± 0,000	- <0,001
Функціонуючі артеріоловеноулярні анастомози (бали)	42	2,000 ± 0,000	0,732 ± 0,152	<0,001
Сладж-синдром (бали)	42	4,810 ± 0,241	1,390 ± 0,187	<0,001
Сумарний показник (бали)	42	20,548 ± 0,913	9,220 ± 0,904	<0,001

них судин. Співвідношення артеріального притоку та венозного відтоку (A_2/A_4) у всіх пацієнтів було на користь першого ($p < 0,001$), збільшувалась максимальна швидкість ($V_{\text{макс}}$) кровонаповнення ($p < 0,001$) та значно зростала середня швидкість ($V_{\text{ср}}$) кровонаповнення артеріальних судин ($p < 0,001$), що свідчить про покращення мікроциркуляторних процесів у тканинах головного мозку.

Встановлено кореляційний зв'язок між $V_{\text{ср}}$ та артеріальним тиском (АТ) ($r = 0,78$). З чого можна зробити висновок, що рівень АТ залежить від мікрогемодинамічних процесів у тканинах головного мозку. Оскільки мікроциркуляція кон'юнктиви та головного мозку залежить від одних і тих же артеріальних судин, було проаналізовано кореляційний зв'язок між показниками кон'юнктивальної мікроциркуляції з цифрами АТ. Коефіцієнт кореляції сумарного бального показника мікроциркуляції з систолічним АТ становив 0,88, а діастолічним АТ – 0,67.

Динаміку рефрактерних до лікування аритмій серця ми вивчали до і після вертебротерапії у 121 пацієнта. Для спрощення розрахунків і виявлення достовірності змін оцінку вели, виходячи з бальної системи. Загальний показник у балах до лікування складав $2,041 \pm 0,085$, після лікування – $0,116 \pm 0,05$ ($p < 0,001$). Достовірне зменшення інтенсивності болю в ділянці серця ($p < 0,001$) та нормалізація ритму можуть свідчити про покращення мікроциркулятор-

них і гемодинамічних процесів у міокарді, що призводило до збільшення зубців R і T ($p < 0,01$ та $p < 0,001$), а також депресії сегмента S–T ($p < 0,001$).

Вивчались також вертеброгенні впливи на інші органи, наприклад, стравохід. Ендоскопічна картина у хворих на гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу (ГЕРХ) при супутній патології хребта відрізнялась більш глибоким ступенем ураження слизової оболонки стравоходу (табл. 3). Такий факт можна пояснити погіршенням трофіки тканин стравоходу.

Про це свідчать наведені в таблиці 2 показники: гіперімпульсація з сегментів хребта призводить до суттєвого спазму артеріол ($p < 0,001$), зменшення кількості функціонуючих капілярів (за критерієм $r(\chi^2)$ $p < 0,001$), відкриття артеріоловеноулярних анастомозів ($p < 0,001$), значного ($p < 0,001$) збільшення сумарного показника патології в мікроциркуляторному руслі. Дані показники підтверджені експериментально.

Блокування потоку імпульсів з сегментів на брижу також призводило до значних змін мікроциркуляторних показників (рис. 1, 2, 3). Відносно вихідних цифр достовірно зростали ознаки периваскулярного набряку, сладж-синдрому ($p < 0,001$), тромбування мікросудин ($p < 0,001$), зменшувалась кількість функціонуючих капілярів ($p < 0,001$), відкривались артеріоловеноулярні анастомози ($p < 0,001$), зростав сумарний показник ($p < 0,001$).

Таблиця 3. Порівняння частоти морфологічних ознак ГЕРХ при супутній патології хребта за даними ендоскопії

Гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба	Без супутньої патології хребта		З супутньою патологією хребта	
	п	%	п	%
Ендоскопічно негативна	26	92,86	40	48,78
Ерозивна	2	7,14	42	51,22
Стравохід Барретта	0	0,00	7	8,50

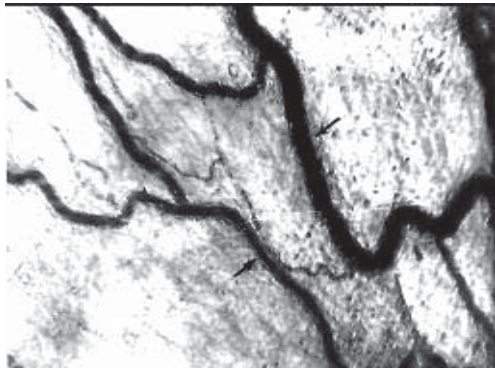


Рис. 1. Ділянка брижі шкура на початку дослідження, $\times 150$.

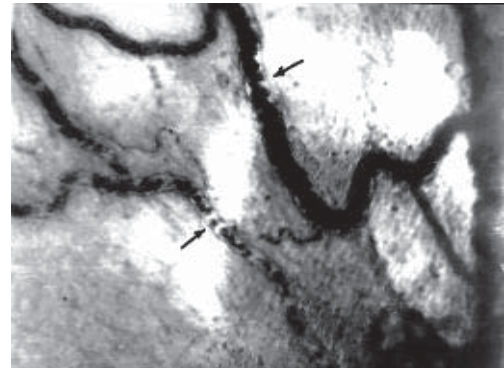


Рис. 2. Та ж ділянка брижі шкура в період блокування сегментарних вегетативних імпульсів. Сладж-синдром в артеріолах, капілярах і венах, $\times 150$.



Рис. 3. Ділянка брижі шкура в період блокування сегментарних вегетативних імпульсів. Виразений сладж-синдром в артеріолах, капілярах і венах, тромбування мікросудин, зменшення кількості капілярів, набряк, $\times 150$.

Вірогідно, що блокування імпульсу викликає суттєвіші патологічні зміни мікроциркуляторного русла, оскільки сумарний показник у цей період експерименту був значно ($p < 0,001$) вищим, ніж у період стимуляції сегментарних вегетативних структур. Мабуть тому, у хворих з ознаками компресії вегетативних структур динаміка функціональних показників після вертебротерапії була меншою ніж у групі з ознаками подразнення.

ВИСНОВКИ 1. Формування структурних змін у тканинах органів при патологічних імпульсаціях з сегментарних вегетативних нервових структур відбувається за рахунок порушень мікроциркуляції тканин. Мікрогемодинамічні показники суттєво погіршуються як при подразненні, так і блокуванні сегментарних вегетативних струк-

тур. 2. Існує тісний зв'язок сегментарних вегетативних нервових структур з внутрішніми органами, тому при проведених вертебрологічних лікуваннях відновлюється мікроциркуляція тканин та покращуються показники діяльності внутрішніх органів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вегетативные расстройства: Клиника, лечение, диагностика / Под ред. А.М. Вейна. – М.: Мед. информ. агентство, 1998. – 752с.
2. Верещагин Н.В. Патология вертебробазиллярной системы и нарушения мозгового кровообращения. – М.: Медицина, 1998. – 308с.

3. Веселовский В.П. Практическая вертеброневрология и мануальная терапия. – Рига, 1991. – 344с.
4. Иваничев Г.А. Мануальная медицина. – М.: ООО «МЕД пресса», 1998. – 470с.
5. Колісник П.Ф. Особливості патогенезу та лікування вертеброгенних аритмій серця // Вісник Вінницького державного медичного університету. – 2000. – №2. – С. 475-477.
6. Кузнецов В.Ф. Справочник по вертеброневрологии: клиника, диагностика. – Мн.: Беларусь, 2000. – 351с.
7. Проскурин В.В. Мануальная терапия висцеральных проявлений остеохондроза позвоночника. – М.: Изд-во РУДН, 1993. – 148с.
8. Шахламов В.А. Капилляры (электронно-микроскопическое исследование). – М.: Медицина, 1971. – 200с.

Мицкан Богдан, Попель Сергій, Файчак Роман

ВПЛИВ ПСИХОЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ НА МОРФОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БУКАЛЬНОГО ЕПІТЕЛІУ

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника

ВПЛИВ ПСИХОЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ НА МОРФОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БУКАЛЬНОГО ЕПІТЕЛІУ – В статті зазначається, що для оцінки функціонального стану організму рекомендується використовувати простий і об'єктивний метод аналізу структури клітин слизової оболонки порожнини рота та кількісне співвідношення ядер різної форми. Фізичні і дихальні вправи позитивно впливають на морфологічні показники букального епітелію і перерозподіл кількості ядер різної форми.

ВЛИЯНИЕ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БУКАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ – В статье отмечается, что для оценки функционального состояния организма рекомендуется использовать простой и объективный метод анализа структуры клеток слизистой оболочки полости рта и количественное соотношение ядер различной формы. Физические и дыхательные упражнения положительно влияют на морфологические показатели букального эпителия и перераспределение количества ядер различной формы.

INFLUENCE OF PSYCHOEMOTIONAL STRESS ON MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF BUCCAL EPITHELIUM – In the article it is marked, that for an assessment of functional state of the organism it is recommended to use a simple and objective method of analysis of structure of cells of oral cavity mucosa and quantitative interrelation of nuclei of the various form. The physical and respiratory exercises positively influence morphological parameters of buccal epithelium and redistribution of quantity of nuclei of the various form.

Ключові слова: букальний епітелій, фізичні і дихальні вправи, неспецифічна резистентність, реактивна тривожність.

Ключевые слова: буккальный эпителий, физические и дыхательные упражнения, неспецифическая резистентность, реактивная тревожность.

Key words: buccal epithelium, physical and respiratory exercises, nonspecific resistance, reactive uneasiness.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ Пристосування організму до впливу будь-яких факторів довкілля, в тому числі, і до психоемоційних навантажень реакцією цілісного організму спрямованої на вирішення двох завдань: забезпечення ефективності діяльності та підтримки або відновлення сталості внутрішнього середовища.

Ці завдання реалізуються шляхом мобілізації неспецифічних стрес-реакцій організму, які запускаються і реалізуються центральними (нейрогенна і гуморальна) механізмами управління.

Психоемоційний стрес під час екзаменів має певні особливості перебігу, які характеризуються, в першу чергу знанням резистентності організму до впливу патогенних чинників зовнішнього середовища, що вимагає пошуку маніфестуючих інформативних показників та експрес-методів оцінки імунобіологічного статусу.

Аналіз останніх досліджень: Рядом досліджень [8,10,11,16] виявлено, що надмірні психоемоційні напруження призводять до гіперактивізації стрес-реалізуючих систем (гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної і сим-

патику-адреналової), негативно впливає на стан фізіологічних систем організму, в тому числі на його неспецифічну резистентність [3,5,18,19].

Слизова оболонка порожнини рота є унікальною біологічною системою для багатьох видів факультативних мікроорганізмів. Підтримка балансу між системою "мікромакроорганізм" забезпечує належний рівень неспецифічної резистентності слизової оболонки порожнини рота, яка залежить від функціональної активності клітин букального епітелію. Однак, під впливом певних факторів цей баланс може порушуватись. Таким чинником може бути психоемоційний стрес під час екзаменів. Методика оцінки даного стану, крім адекватності, повинна забезпечувати експрес-аналіз резистентності організму. Як показано в ряді робіт [3, 6, 7], методика дослідження морфології ядер клітин слизової оболонки порожнини рота є достатньо проста і об'єктивна в оцінці неспецифічної резистентності організму до впливу патогенних чинників. Проте даних, присвячених вивченню реактивності букального епітелію під впливом психоемоційних чинників, в доступній літературі ми не знайшли.

Мета роботи. Виявити вплив психоемоційного стресу, фізичних навантажень і дихальних вправ на неспецифічну резистентність організму підлітків.

МЕТОДИ І МАТЕРІАЛИ З метою профілактики психоемоційного стресу під час екзаменів учням ліцею була запропонована спортивно-оздоровча програма, яка включала в себе аеробні фізичні вправи середньої потужності та дихальну гімнастику.

Обстежено 60 практично здорових юнаків і дівчат у віці 14-16 років, розподілених на 3 групи. За допомогою крокоміра учні були поділені на три групи: ліцеїсти з високим (20 чол.), середнім (20 чол.) і низьким рівнем рухової активності (20 чол.).

Рівень особистісної та реактивної тривожності визначали за допомогою психодіагностичного опитувальника Спілберга-Ханіна, самопочуття, активність, настрої за тестом САН, рівень нейротизму за Айзенком [10].

Перед екзаменами, відразу після їх закінчення і через добу у ліцеїстів визначали ЧСС, артеріальний тиск і брали мазки зі слизової оболонки порожнини рота.

Мазок-відбиток після фіксації в спирт-ефірі фарбували гематоксилін-еозином та метиленовим синім [14,15]. На забарвлених препаратах проводили морфологічні і цитоморфологічні дослідження, які здійснювали під мікроскопом. Окулярмікрометром вимірювали великий і малий діаметр епітеліальних клітин і за формою еліпсоїда розраховували об'єм клітин, кількість гранулярних включень (більші за 2 мкм) в цитоплазмі різних клітин, а також виявляли різні типи ядер з еухроматином, з одним, двома і

трьома ядерцями, гетерохроматинізовані, вакуолізовані, частково uszkodженою оболонкою, зруйновані.

За первинними цитоморфометричними показниками обчислювали різні коефіцієнти форми і об'єму цитоплазми та ядра.

Частину препаратів забарвлювали уніфікованим методом за Пепенгейном [9]. Серед 100 клітин визначали процентне співвідношення нейтрофілів, моноцитів, макрофагів, лімфоцитів, плазмоцитів, десквамованих, ядровмісних та без'ядерних епітеліоцитів. На основі цих даних розраховували лейкоцитарно-епітеліальний індекс (ЛЕІ) за формулою:

$$LEI = \frac{\sum \text{лейкоцитів}}{\sum \text{епітеліоцитів}} \times 100(\%)$$

Для визначення ступеня адгезивної здатності епітелію розраховували відповідний індекс (ІА) за формулою:

$$IA = \frac{\sum \text{бактеріальних елементів}}{\sum \text{епітеліальних клітин}} \times 100(\%)$$

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У всіх ліцеїстів ситуація пов'язана зі складанням екзаменів викликала підвищення артеріального тиску і ЧСС, що є свідченням виникнення стрес-реакції (табл.1).

У всіх обстежених виявлено високий рівень тривожності і нейротизму.

Дані щодо реактивності букального епітелію подані в табл. 2.

Таблиця 1. Реакція серцево-судинної системи на психоемоційний

Показники	До екзаменів	Після закінчення екзамену (10 хв)	Після закінчення екзамену (1 доба)
ЧСС, уд/хв	92 ±4,5	157 ±7,5	90 ±5
АТ сист., мм.рт.ст	113 ±5,5	128 ±6,7	115 ±5,0
АТ діаст., мм.рт.ст.	77 ±4,1	95 ±6,4	80 ±2

Таблиця 2. Динаміка співвідношення різних типів ядер букального епітелію у ліцеїстів та зміни ЛЕІ й адгезивності клітин під впливом екзаменаційного стресу, % (n=10)

Види ядер	До екзаменів M±m	Під час екзаменів M±m	P _{1,2}	Після екзаменів M±m	P _{1,3}
1-а група					
1	12,9±1,4	22,6±1,2	<0,05	16,1±0,5	>0,1
2	15,8±1,2	10,2±1,3	<0,05	12,1±1,2	>0,1
3	23,2±1,7	14,0±1,6	<0,01	20,4±1,1	>0,1
4	34,8±1,6	17,2±2,2	<0,05	32,8±0,2	>0,1
5	1,0±0,1	5,5±0,2	<0,01	1,7±0,1	>0,1
6	10,9±1,1	25,9±1,4	<0,01	15,4±0,5	<0,05
7	-	1,4±0,2	-	-	-
8	0,1±0,002	0,6±0,03	<0,02	-	-
ЛЕІ	0,11±0,02	17,8±3,7	<0,05	4,2±1,3	<0,05
ІА	28,2±2,02	24,1±2,3	<0,02	27,3±2,3	<0,02
2-а група					
1	15,8±0,8	20,0±1,4	<0,05	16,5±0,7	>0,1
2	9,8±1,9	6,0±0,6	<0,05	8,5±1,5	>0,1
3	15,1±1,1	10,5±0,9	<0,01	15,5±1,3	>0,1
4	35,0±2,0	18,6±2,0	<0,001	30,4±1,6	>0,1
5	3,0±0,3	4,1±0,4	<0,01	2,3±0,3	>0,1
6	17,6±1,1	31,3±2,1	<0,01	20,6±1,6	>0,1
7	0,7±0,2	1,3±0,3	>0,1	0,3±0,15	>0,1
8	2,3±0,6	7,1±1,3	<0,01	3,4±1,04	>0,1
ЛЕІ	1,2±0,01	22,3±2,1	<0,05	5,6±1,1	<0,02
ІА	16,0±1,6	14,5±1,2	<0,05	15,1±1,3	<0,05
3-а група					
1	17,2±1,7	18,5±1,1	<0,01	17,5±1,3	>0,1
2	7,6±1,1	4,1±0,7	<0,02	6,2±1,1	>0,1
3	12,2±1,3	8,6±0,5	<0,01	12,7±1,2	>0,1
4	33,9±1,8	21,3±2,1	<0,001	28,9±1,4	>0,1
5	5,1±0,4	3,7±0,5	<0,01	3,4±0,3	>0,1
6	19,7±1,2	35,2±2,0	<0,05	25,6±1,2	>0,1
7	1,6±0,4	2,9±0,2	>0,1	0,9±0,08	>0,1
8	3,5±0,4	9,3±1,2	<0,02	5,4±1,04	>0,1
ЛЕІ	1,1±0,02	28,6±5,3	<0,05	6,2±1,3	<0,05
ІА	15,3±1,1	12,4±1,9	<0,05	14,2±1,4	<0,05

Як видно з таблиці 2, у ліцеїстів 1 групи під час екзаменів збільшилася кількість епітеліоцитів з ядрами, які містять конденсований хроматин, мають вакуолізовану каріоплазму. При цьому зменшилося число ядер з одним, двома і трьома ядерцями.

Після екзаменів цитологічна картина зазнавала повного відновлення через 12 діб.

Застосування експериментальної програми з фізичного виховання забезпечувало підвищення показників тесту САН та стабілізацію рівня систолічного артеріального тиску

(АТс) і ЧСС. Цитологічна картина була такою ж, як і до екзаменів.

Динаміка змін співвідношення ядер різної форми у ліцеїстів 2-ї групи змінювалася значно інтенсивніше, а відсоток зруйнованих ядер вірогідно зростав на 7,2 % (P<0,05).

Цитологічна реакція на психоемоційні навантаження в 3 групі виражалася у зростанні кількості ядер з конденсованим хроматином, та з одним і двома ядерцями. При цьому виявлений високий відсоток зруйнованих ядер. Слід заз-

начити, що і до екзаменів у них спостерігався каріорексис, інтенсивність якого зростала під час екзаменів вдвічі ($P < 0,05$).

Цікаво, що зміна співвідношення різних форм ядер у ліцеїстів із гетерогенними психосоматичними типами мала дві особливості. По-перше у ліцеїстів 3 групи навіть через добу кількість зруйнованих ядер залишалась підвищеною. По-друге спостерігалось зниження показників тесту САН та підвищення АТс (10,3 %) і ЧСС (12,4 %).

Оскільки критерієм незворотності змін в клітинах є каріорексис ядер [1], можна думати, що для ліцеїстів із високим рівнем особистісної і реактивної тривожності екзаменаційне психоемоційне навантаження призвело до надмірної активізації стрес-реалізуючих систем, що й стало причиною пошкодження мембран з усіма впливаючими наслідками [11].

Що стосується ліцеїстів 2-ої групи, то у них під час екзаменів, так само як і після відпочинку, помітного погіршення самопочуття не спостерігалось, і у всіх виявлена повторна деконденсація хроматину, що пов'язують з активацією процесів транскрипції і трансляції генетичних матриць для синтезу білків в цитоплазмі [10, 11, 12].

Морфологічні зміни епітеліоцитів слизової оболонки порожнини рота вказують на те, що психоемоційний стрес під час екзаменів викликає репресію раніше активованих генів і пригнічує синтетичні процеси в клітинах, що має важливе значення для розширення уявлення про негативний вплив стресогенних чинників на організм людини.

ВИСНОВКИ 1. Під впливом психоемоційного стресу у ліцеїстів всіх трьох груп змінюється відсоток структурно змінених ядер букального епітелію, співвідношення між якими залежить від рівня тривожності і нейротизму. 2. У ліцеїстів із низьким рівнем тривожності психоемоційний стрес викликає деконденсацію хроматину, тоді, як у ліцеїстів 3-ї групи із високим рівнем тривожності різко зростає каріорексис, що свідчить про зниження рівня резистентності слизової оболонки порожнини рота. 3. За морфологічними показниками епітеліальних клітин слизової оболонки порожнини рота можна дати опосередковану оцінку зміни рівня імунобіологічних властивостей організму під впливом стресогенних чинників. 4. Збільшення кількості зруйнованих ядер епітеліоцитів у два і більше рази, вимагає ефективних засобів корекції, якими є аеробні фізичні впра-

ви середньої інтенсивності та корекційна гімнастика. При цьому критерієм ефективності корекційного впливу фізичних навантажень і дихальних вправ є збільшення частки ядер з еухроматином на фоні його деконденсації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Амосов А.А. Раздуми про здоров'я. – К.: Здоров'я, 1990. - 166 с.
2. Апанасенко Г. Л. Эволюция биоэнергетики и здоровье человека. - С.Пб.: Петрополис. 1992. - 120 с.
3. Бабій І.Л., Зубаренко О.В. Морфофункціональна характеристика ядерцевого апарату лімфоцитів периферійної крові у здорових дітей // Педіатрія, акушерство і гінекологія. – 1985. – № 5. – С. 9–11.
4. Бальсевич В.К. Физическая культура для всех и для каждого. – М.: Физкультура и спорт. 1988. - 202 с.
5. Бородай Н.В., Ганина К.П., Глушенко Н.С. Влияние отдаленной опухоли на содержание ДНК в эпителиоцитах слизистой оболочки полости рта // Цитология и генетика. – 1994. – Т.28, №1. – С. 73–77.
6. Висоцький В., Савицький Г. Критерії оцінювання з предмета фізичної культури за дванадцятибальною системою // Директор школи. – 2001. - №11. – С. 2 – 28.
7. Волков Л.В. Физические способности детей и подростков. – К.: Здоров'я, 1981. – 120 с.
8. Громбах С.М. Школа и психическое здоровье учащихся. – М.: Медицина, 1988. - 282 с.
9. Дышловой В.Д. Методика исследования ядер эпителиальных клеток слизистой оболочки щеки человека. – К.: Изд-во ВИНТИ, 1975. – 22 с.
10. Корольчук М.С., Осьодло В.І. Психодіагностика. – К.; Ельга Ніка-Центр, 2004. – 398 с.
11. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессовым ситуациям и физическим нагрузкам. – М.: Медицина, 1988. – 256 с.
12. Рогов И.Е. Настольная книга практического психолога. - М.: Владос – Пресс, 2001. – 381 с.
13. Сергієнко Л.П. Тестування рухових здібностей школярів. – К.: Олімпійська література, 2001. - 428 с.
14. Синица М.Г. Влияние физических факторов на организацию хроматина интерфазных ядер клеток букального эпителия in vitro // Тез. докл. VI съезда Укр. об-ва генетиков и селекционеров им. Н.Вавилова. – К., 1992. – Т.1. – С.32-33.
15. Случик В.М., Мотуляк А.П. Уніфікований цитохімічний метод ідентифікації основних клітинних компонентів в екзофіліативному матеріалі слизової оболонки порожнини рота. – Рац. пропозиція № 52/2212 від 21.11.1994. – Івано-Франківськ, 1994.
16. Смирнов В.Г. Цитогенетика – М.: Высшая школа, 1991. – 247 с.
17. Тревога и тревожность / Сост. и общ. ред. В.М.Астапова. – С.Пб.: Питер, 2001. – 256 с.
18. Філіпов М.М. Психофізіологія людини. - К.: МАУП, 2003. - 133 с.
19. Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека – М.: Мир, 1998. – 391 с.
20. Joffe M. Detection of agents causing genetic or reproductive damage // Brit. J. ing. Ved. – 1992. – Vol. 47, № 1. – P. 1-4.

Козлов В.О., Жаріков М.Ю.

ГІСТОТОПОГРАФІЧНЕ ВЗАЄМОВІДНОШЕННЯ КОМПОНЕНТІВ МІОКАРДА У РІЗНИХ ВІДДІЛАХ СЕРЦЕВОЇ СТІНКИ

Дніпропетровська державна медична академія

ГІСТОТОПОГРАФІЧНЕ ВЗАЄМОВІДНОШЕННЯ КОМПОНЕНТІВ МІОКАРДА У РІЗНИХ ВІДДІЛАХ СЕРЦЕВОЇ СТІНКИ – Було досліджено компоненти міокарда різних відділів серця у людей віком 27-82 роки. Встановлені вікові та топографічні відмінності м'язової та сполучної тканини, тканинних базофілів та специфічних секреторних гранул.

ГІСТОТОПОГРАФИЧЕСКОЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ МИОКАРДА В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ СЕРДЕЧНОЙ СТЕНКИ – Были исследованы компоненты миокарда разных отделов сердца у людей возрастом 27-82 года. Установленные возрастные и топографические отличия мышечной и соединительной ткани, тканевых базофилов и специфических секреторных гранул.

HISTOTOPOGRAPHICAL INTERRELATION OF COMPONENTS OF MYOCARDIUM IN DIFFERENT DEPARTMENTS OF CARDIAC WALL – The components of myocardium of different departments of heart at people age from 27 to 82 years were investigated. Age and topographical differences of muscular and connecting tissue, tissue basophil cells and specific secretory granules were revealed

Ключові слова: міокард, тканинні базофіли, секреторні гранули, кардіоміоцити.

Ключевые слова: миокард, тканевые базофилы, секреторные гранулы, кардиомиоциты.

Key words: myocardium, tissue basophil cells, secretory granules, cardiomyocytes.

ВСТУП Міокард – це складна багатофункціональна система, що містить значну кількість високоспеціалізованих компонентів, що виконують багато різноманітних функцій. Останнім часом, окрім основної функції – скоротливої, яка здійснюється “робочими” кардіоміоцитами, значну увагу приділяють секреторній складовій функціонування міокарда, що забезпечується спеціалізованими секреторними кардіоміоцитами, які містять специфічні секреторні гранули (СГГ), вміст яких може

впливати на регулювання водно-сольового гомеостазу та тканинними базофілами (ТБ). Тісна взаємодія між усіма структурними компонентами міокарда забезпечує гармонійне функціонування серця в цілому. Тому вивчення цих компонентів у аспекті їх внутрішньотканинного взаєморозташування та взаємодії є актуальним, що сприятиме розумінню в подальшому ролі кожного компонента у системі міокарда як у нормі, так і при різноманітній серцевій патології.

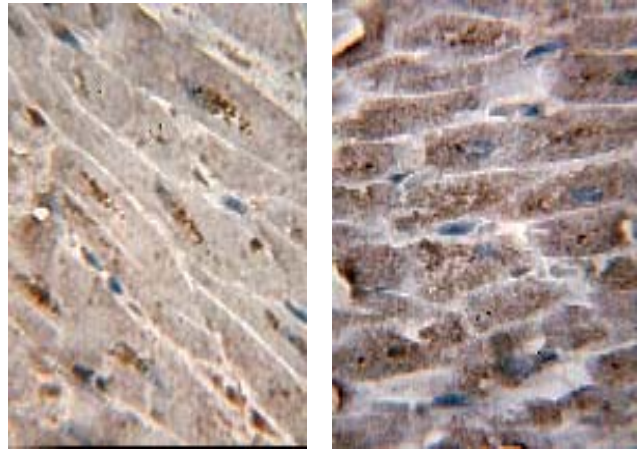
МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Матеріалом для даного дослідження послужили серця 24 людей різної статі віком від 27 до 82 років постнатального періоду, які померли від захворювань, патогенетично не пов'язаних з патологією серцево-судинної системи.

Забір шматочків для гістологічного дослідження проводили з правих і лівих відділів серцевої стінки: вушок, передсердь, шлуночків, а також з міжпередсердної та міжшлуночкової перегородок. Гістологічні препарати виготовляли за класичною методикою приготування парафінових та напівтонких зрізів з фарбуванням гематоксилін-еозином та толюїдиновим синім. Для візуалізації ССГ використовували імуногістохімічний метод із застосуванням специфічних моноклональних антитіл фірми DAKO (клон N1535) до хромограніну А, що міститься в ССГ. Візуалізацію гістологічних препаратів проводили під мікроскопом Leica- (зб. 10X100) з наступним фотграфуванням цифровим фотоапаратом Canon.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ При мікроскопії виготовлених зрізів міокарда окремих відділів стінки серця було візуалізовано кардіоміоцити, ССГ, елементи сполучної тканини (волокна і клітини), судини різного калібру. Нами було встановлено ряд особливостей гістотопографії окремих компонентів міокарда шлуночків, передсердь та вушок серця в обох досліджуваних групах. За визначні критерії ми взяли співвідношення м'язового та сполучнотканинного компонента, співвідношення окремих типів ТБ, та відносну кількість кардіоміоцитів (КМЦ), що містили ССГ.

Так у міокарді шлуночків у людей зрілого віку кардіоміоцити розташовані пучками по 4-16, мають чітку впорядкованість, між пучками розташовані прошарки сполучної тканини. Зустрічаються окремі фібробласти з відростками та ТБ переважно III типу (до 95 % від всіх ТБ) [1]. М'язовий компонент складає 72-80 %, сполучнотканинний – 20-28 %. Подібна картина характерна для обох шлуночків, але відносна кількість КМЦ, що містили ССГ, дещо відрізняється і складає в правому 48-62 %, в лівому – 42-48 %. У кардіоміоцитах ССГ розташовуються групами по 7-22 переважно в перинуклеарній зоні. Таких груп у КМЦ шлуночків може бути 3-7. На відміну від людей зрілого віку у шлуночках людей похилого та старечого віку збільшується відсоток сполучної тканини і складає 24-31 %, також дещо зростає кількість КМЦ, що містять ССГ до 51-67 % у правому і до 46-54 % у лівому шлуночку (рис. 1А).

У міокарді передсердь вищезазначені показники дещо відрізняються. Сполучна тканина розташована "острівцями" поміж пучків КМЦ, що не мають такої чіткої впорядкованості. Відмічається більша кількість фібробластів, переважають ТБ II (до 55 %) і III (до 40 %) типів. Кількість сполучної тканини зростає порівняно із шлуночками і складає у людей зрілого віку 30-42 %, у людей похилого та старечого віку 35-44 %. Кількість КМЦ, що містять ССГ значно зростає і становить у людей зрілого віку 94-96 % в правому передсерді і 90-93 % у лівому, у людей похилого та старечого віку відповідно 94-98 і 93-95 %. (рис. 1Б).



А

Б

Рисунок 1. Гістотопографічні взаємовідносини структурних компонентів в стінці лівого шлуночка (А) та правого передсердя (Б). Гістохімічна обробка зрізів моноклональними антитілами до хромограніну А (клон N1535). Зб. 10X100.

Морфологічна картина вушок серця подібна до морфології передсердь у обох групах. Але можна відмітити трохи більшу кількість фібробластів, і зростання кількості сполучної тканини на 2-4 %. Дещо відрізняються кількісні характеристики КМЦ, що містять ССГ: у людей зрілого віку у правому вушку їх кількість 95-98 %, у лівому – 93-95 %, у людей похилого та старечого віку відповідно 98-100 та 95-99 %.

ВИСНОВКИ 1. Міокард різних відділів серцевої стінки не є однорідним і відрізняється за співвідношенням м'язового і сполучнотканинного компонентів. Останній зростає у напрямку від шлуночків до вушок. Відрізняється і морфологія тканинних базофілів. 2. Кількість КМЦ, що містять ССГ у вушках і передсердях у 1,5-2 рази більша ніж у шлуночках, причому у правих відділах більше ніж у лівих. 3. Порівнюючи морфологічну картину міокарда усіх відділів досліджених вікових груп, можна констатувати, що з віком у міокарді відбуваються зміни у напрямку збільшення кількості сполучної тканини та КМЦ, що містять специфічні секреторні гранули.

Перспективи подальшого розвитку.

Зважаючи на те, що компоненти міокарда, виконують ряд важливих функцій і їх морфологія може змінюватись при ряді серцево-судинних захворювань, подальші дослідження буде доцільно проводити у напрямку моделювання на експериментальних тваринах подібних захворювань з метою визначення характеру функціонування цих компонентів у змінених умовах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Козлов В.О., Жаріков М.Ю. Морфофункціональний стан тканинних базофілів серця людей зрілого віку в нормі // Вісник морфології.-2005.- Т.11, №2.- С.162-164.
2. Гениатулина М.С. Морфология предсердных гранул и их количественная характеристика // Цитология.- 1991.- Т. 33, №9.- С.64.
3. De Bold A.J., Bencosme S.A. Selective light microscopic demonstration of the specific granulation of the rat atrial myocardium by lead-hematoxylin-tartrazine // Stain Technol. – 1975. – Vol. 50, № 3. – P. 203-205.

Захарова В.П. *, Федонюк Л.Я. **, Руденко О.В. *

КЛАПАННІ ВАДИ СЕРЦЯ: МЕХАНІЗМИ АЛЬТЕРАЦІЇ, ЩО ВИЗНАЧАЮТЬ РОЗВИТОК РІЗНИХ ПАТОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ (ЗА МАТЕРІАЛАМИ ГІСТОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ)

* Інститут серцево-судинної хірургії ім. Н.М.Амосова АМН України, ** Буковинський державний медичний університет

КЛАПАННІ ВАДИ СЕРЦЯ: МЕХАНІЗМИ АЛЬТЕРАЦІЇ, ЩО ВИЗНАЧАЮТЬ РОЗВИТОК РІЗНИХ ПАТОЛОГІЧНИХ ПРОЦЕСІВ (ЗА МАТЕРІАЛАМИ ГІСТОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ) – Було проведено морфологічне вивчення 937 клапанів, які видалені з приводу клапанних хвороб серця. Їх детальне дослідження дозволило виділити 5 основних механізмів альтерації: 1 – спадкова неспроможність сполучної тканини; 2 – гемодинамічна травма структур клапана; 3 – імунотоксичне ураження колагенових волокон; 4 – ферментативний та бактеріальний лізис клапанних структур; 5 – жирова дегенерація.

КЛАПАННІ ПОРОКИ СЕРЦЯ: МЕХАНІЗМИ АЛЬТЕРАЦІЇ, ОПРЕДЕЛЯЮЩІЕ РАЗВИТИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ (ПО МАТЕРИАЛАМ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ) – Было проведено морфологическое изучение 937 клапанов, удаленных по поводу клапанной болезни сердца. Их детальное исследование позволило выделить 5 основных механизмов альтерации: 1 – наследственная несостоятельность соединительной ткани; 2 – гемодинамическая травма структур клапана; 3 – иммунокомплексное поражение коллагеновых волокон; 4 – ферментативный и бактериальный лизис клапанных структур; 5 – жировая дегенерация.

VALVULAR HEART FAILURE: MECHANISMS OF ALTERATION, WHICH DETERMINE THE DEVELOPMENT OF DIFFERENT PATHOLOGICAL PROCESSES (BY THE MATERIALS OF HISTOLOGICAL INVESTIGATIONS) – The morphological examination of 937 valves has been performed. The valves were removed due to various heart disorders of the valves. Their precise examination allowed to define 5 main mechanisms of alteration: 1 – hereditary failure of the connective tissue; 2 – hemodynamic trauma of the valve structures; 3 – immunocomplex lesion of the collagen fibers; 4 – enzymatic and bacterial lysis of the valve structures; 5 – fat degeneration.

Ключові слова: вади серця, альтерація, генез.

Ключевые слова: пороки сердца, альтерация, генез.

Key words: heart failure, alteration, genesis.

ВСТУП Поняття клапанні вади або, як тепер прийнято називати, клапанні хвороби серця, містить у собі досить широкий спектр нозологічних форм. У 1994 році Н. Boudoulas і співавтори запропонували класифікацію, що передбачає 7 груп захворювань, пов'язаних із патологією клапанів серця: I – спадково-вроджені (спадкова патологія сполучної тканини, набуті вади серця); II – запально-імунотоксичні (ревматизм, СНІД, кардіоваскулярний сифіліс, хвороба Кавасаки, інфекційний ендокардит, небактеріальний тромботичний ендокардит, хвороби, які об'єднують в групу аутоімунних колагенезів); III – дисфункція міокарда (ІХС, делятаційна кардіоміопатія, гіпертрофічна кардіоміопатія); IV – хвороби та порушення інших органів (хронічна ниркова недостатність, карциноїдна хвороба серця); V – вікова патологія (стенозуючий кальциноз аортального клапана, мітральна анулярна кальцифікація); VI – постхірургічні ураження клапанів (при вальвулотомії, клапанозберігаючих операціях і протезуванні клапанів); VII – ушкодження, що пов'язані з терапевтичними методами лікування та фізичним впливом (хронічне використання продуктів ерготаміну, клапанна хвороба, яка викликана радіацією, травматичне ушкодження клапанів) [1]. Дана класифікація із всіх сучасних є найбільш повною. Однак, багаторічний досвід морфологічного вивчення клапанів серця на операційному та секційному матеріалі кардіохірургічних клінік показав, що поряд із ознаками, які характерні для певних нозологічних форм, у гістологічних препаратах часто можна спостерігати зміни, що повторюються при різних хворобах [2]. Це примушує думати про існування факторів ушкодження, що включаються в патогенез клапанної хвороби серця різного походження, а також про можливе поєднання двох і більше нозологічних форм. Дана обставина часто ускладнює гістологічну діагностику клапанних вад серця.

Тому метою даної роботи було визначити спектр ушкоджуючих факторів, що відіграють етіологічну та патогенетичну роль при основних формах клапанної патології серця, а також виявити морфологічні еквіваленти різних механізмів альтерації.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Робота побудована на морфологічному аналізі 937 клапанів серця, що були видалені при операціях із приводу вальвулярної патології. Аортальних клапанів (АК) було – 479, мітральних (МК) – 448, тристулкових (ТК) – 10. Середній вік хворих складав $41,5 \pm 11,3$ років. Осіб чоловічої статі було 540, жіночої – 397. Матеріал фіксували в 10 % нейтральному формаліні. Описували макроскопічну будову, після чого вирізували шматочки клапанів і згідно із загальноприйнятими методами готували заморожені та парафінові гістологічні зрізи. Заморожені зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином, а також суданом III-IV для виявлення жирів; парафінові зрізи – гематоксиліном і еозином, пікрофуксином за Ван-Гізона для диференціювання колагенових і м'язових волокон і фукселіном за Вейгертом на еластику.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Група вад клапанів, що пов'язані із спадковою патологією сполучної тканини, була представлена спостереженнями 14 хворих із синдромом Марфана, яким було виконано операцію Бентала, що передбачала протезування висхідного відділу аорти та АК. Макроскопічно стулки виглядали атонічними, витонченими, зазвичай зі злегка набряклим краєм і тонкими ребристими рельєфами поверхні. При мікроскопії відзначалося різке потоншення всіх шарів стулок зі стиранням їхніх меж і з майже повною відсутністю еластичних волокон. У поверхневих шарах стулок сполучна тканина проявляла тенденцію до пікрінофілії та втрачала волокнистий малюнок. У 8 спостереженнях зони некрозу давали позитивну реакцію на жири. В ділянці описаних вище ребристих потовщень поверхні відзначалося пошкодження ендотеліального шару із накладанням фібрину, в якому проліферували елементи гістіоцитарного та фіброцитарного рядів. Процес фіброгенезу відзначався й по краю стулок.

Вади клапанів уродженого характеру найчастіше асоціюються з іншою вродженою патологією серця (первинний дефект міжпередсердної перегородки, атріовентрикулярне з'єднання, тетрада Фалло, аномалія Ебштейна та ін.), що у ранньому віці проявляється значними гемодинамічними змінами й потребує своєчасної хірургічної корекції. Однак, існує група менш виражених, ізольованих аномалій клапанних структур (двостулкового аортального клапана, різні варіанти помірно вираженої дисплазії папілярно-хордального апарату МК), які досить довго не викликають істотних, клінічно значущих порушень функції серця, і починають проявлятися зазвичай лише в дорослому віці: в АК – кальцинозом і стенозуванням, у МК з'являється ефект «хлопаючих стулок», що переходить у пролапс із систолічною регургітацією крові.

При мікроскопії у двостулковому АК завжди відзначається розширення спонгіозного шару із набряком і нагромадженням у ньому глікозаміногліканів, що надає стулкам міксоматозного вигляду. У поверхневих шарах відзначається дезорганізація, дезорієнтація та фрагментація колагенових пучків із заповненням простору між ними тонковолокнистою, дуже пухкою та набряклою сполучною тканиною із рідко розташованими зірчастими фібробластами. В окремих ділянках відзначається гомогенізація поверх-

невих шарів з подальшим кальцинозом. На поверхні та по краю стулок формуються горбки молоді сполучної тканини такі ж самі, як і при синдромі Марфана, але в більш вираженій мірі. З віком вони перетворюються в зрілу фіброзну тканину.

Поширеність, локалізація та вираженість прояву змін у МК залежать від характеру дисплазії папілярно-хордального апарату. Хорди можуть бути нечисельними, розташовуватись асиметрично, що позбавляє значну частину стулок їх механічної підтримки. В інших випадках хорди відрізняються одна від одної по довжині, у результаті чого деякі частини стулок виявляються втягненими у бік шлуночка, а інші відрізняються аневризматичними випинаннями у бік передсердя. В 17 спостереженнях багато хорд орієнтовані в різних напрямках, обома кінцями, а іноді й по довжині, прикріплювалися до шлуночкової поверхні стулок, створюючи на ній густу трабекулярну сітку, від якої відходили нечисельні, зазвичай короткі, набряклі та фіброзовані хорди, що прикріплювалися до верхівок сосочкових м'язів. Стулки МК при цьому були потовщені, набряклі, нагадували варене тісто. При мікроскопії в них так само, як у двостулковому АК клапані, відзначалося розширення спонгіозного шару, яке було найбільш вираженим в основі хорд, що несуть максимальне механічне навантаження. У щільних шарах також були ознаки фрагментації колагенових і еластичних волокон з вогнищами гомогенізації, більшість із яких були імбібовані судан-позитивним матеріалом і макроскопічно мали вигляд холестеринних бляшок. У спонгіозному шарі, особливо в основі хорд, судан-позитивні об'єкти були представлені окремими жировими клітинами та краплями вільного жиру. В 3 спостереженнях пухка сполучна тканина спонгіозного шару трансформувалася в жирову клітковину.

Практично у всіх клапанах з ознаками дисплазії в субендотеліальних шарах можна було знайти пласти гіперплазованих гладком'язових клітин, які, можливо, слід розцінювати як структури, що компенсують механічну неспроможність клапана.

Описані вище зміни очевидно є наслідком порушення компліментарності архітекtonіки клапанних структур і напрямків потоків крові, внаслідок чого весь клапан або певні його частини піддаються постійному надлишковому гемодинамічному впливу, що призводить до поступового пошкодження клапанних структур із наростаючим порушенням функції. Часто незначним проявам дисплазії, особливо в МК, не надають належного значення, і патологія розцінюється як ідіопатичний, або дегенеративний, пролапс клапана [3]. Цьому сприяє приєднання до первинних змін структур клапана описаної вище жирової дегенерації сполучної тканини.

Найбільшу групу (415) склали клапани, що були видалені із приводу ревматологічного. У них в 65,3 % процес кваліфікувався як неактивний, в 34,2 % ознаки активності були слабовиражені і лише в 0,5 % гістологічних препаратів було виявлено поширені прояви гострого ревмопроцесу на фоні вже існуючого фіброзу та кальцинозу клапана. Як відомо, запалення при ревматизмі та інших колагенозах носить аутоімунний характер. Тобто, антитіла, що виробились у відповідь на інвазію чужорідного агента, з'єднуються з антигенними детермінантами молекул колагену. Класичною ознакою колагенозу є мукоїдне набрякання та фібриноїдний некроз сполучної тканини. Розвиток їх можна представити як наслідок значного збільшення молекулярної маси білків сполучної тканини при приєднанні до них важких молекул імуноглобулінів з порушенням онкотичної рівноваги і, як наслідок – скупченням у пучках колагенових волокон надлишкової кількості води. При цьому завжди збільшується об'єм клапанних структур. Клітинні реакції на цей вид ушкодження, як відомо, виражаються в макрофагальній інфільтрації. У випадку невеликих вогнищ

фібриноїдного некрозу формуються класичні гранульоми Ашоффа - Талалаєва, що завершуються зазвичай фіброзом. Більші фокуси некрозу, також оточені макрофагами по периферії, можуть інкапсулюватись, а по центру - кальцинуються. Тривалий розвиток ревмозапалення сприяє вросанню в стулки та навіть в хорду великої кількості судин, стінки яких згодом фіброзуються, але при черговому загостренні процесу самі можуть бути піддані фібриноїдному некрозу. Разом з тим, по цих судинах у вогнище аутоімунного конфлікту надходять лімфоїдні елементи та протизапальні біологічно активні речовини. Слід зазначити, що найбільш виражені та найбільш мірою ревматичним процесом вражаються клапани лівих відділів серця, де тиск крові значно перевищує тиск правих камер серця. Крім того, найбільш уразливими ділянками як МК, так і АК є зони, що піддаються найбільшому механічному впливу: комісури та стулки по лінії змикання. Очевидно, ушкодження ендотелію в цих зонах відкриває доступ антитілам, що циркулюють із кров'ю, до сполучнотканинних структур, що перехресно реагують із ними.

Над деформованими фіброзом і кальцинозом структурами клапанів зазвичай відзначається вираження поверхні із накладанням фібрину, організація якого посилює деформацію клапана. При забарвленні суданом III-IV у зонах ерозій та виразок зазвичай виявляються жировмісні структури. Крім того, слід зазначити, що при локальному постревматичному фіброзі в ділянках, неущкоджених ревмопроцесом, макроскопічно можна спостерігати аневризмоподібні випинання стулок із гістологічними змінами, що описані вище, у групі вродженої патології.

Із сказаного випливає, що зміни в клапанах при ревматології, обумовлені в основному імунокомплексним ураженням, пов'язані також із гемодинамічною травмою клапанних структур як на ранньому етапі процесу, так і після його розриву фіброзом і кальцинозом. Певну роль у морфогенезі грають також дегенеративні зміни, які, за нашими даними, підсилюють гемодинамічні прояви клапанної ревматичної вади в дорослих людей навіть без рецидиву аутоімунної агресії. Це підтверджується спостереженнями клініцистів, які відзначають, що часто єдиним проявом прогресування вади серця є наростання гемодинамічних змін без інших клінічних ознак загострення процесу.

У 132 хворих вади клапанів (41 МК і 91 АК) носили суцільно дегенеративний характер. В 59,6 % хворих домінуючим проявом патології був кальциноз. В 24 спостереженнях (26,5 %) дегенеративні зміни макроскопічно проявлялися бляшками яскраво-жовтого або оранжевого кольору, які так само, як і кальцинати, в АК найчастіше локалізувалися поблизу вільних країв стулок або біля основи синуса Вальсальви, у МК – на стулках уздовж фіброзного кільця, біля основи хорд і в ділянці комісур. Вільна від бляшок частина стулок часто була стоншена, по краю формувалися напівпрозорі бородавки. У клапанах з кальцинатами відзначалися помірно виражені фіброзні зміни у вигляді капсул кальцинатів. На заморожених зрізах, забарвлених суданом, у всіх випадках цих двох груп виявлялися ознаки суданофільного некрозу, ліпофаги, іноді – кристали холестерину, що дозволяє віднести дану патологію до категорії ліпоїдозу. Навколо вогнищ некрозу та, особливо, кальцинатів в 32 % випадках відзначалися помірно виражені лейкоцитарні інфільтрати, що складаються переважно з елементів макрофагального та лімфоїдного рядів. Серійні зрізи дозволяли виявити мікровогнища руйнування поверхні стулки, що з'єднуються із зонами ліпідного некрозу.

В 12 клапанах макроскопічних проявів жирової дегенерації сполучної тканини виявити не вдалося. Стулки були тонкими, нерівномірно набряклими, атонічними, іноді із щілеподібним або точковим розшаруванням біля вільного краю. У 3 випадках цієї групи в препаратах АК виявлялися

округлі перфорації, що локалізовані в центральних частинах розтягнутих стулок. Клінічно ці зміни зазвичай трактувалися як наслідок інфекційного ендокартиту (ІЕ) або хвороба Барлоу. Однак дійсну їх природу можна було визначити лише при гістологічному дослідженні препаратів: сполучна тканина стулок (зокрема - по краях перфорацій) була гомогенізована, стоншена та давала позитивну реакцію на жири, місцями мала будову жирової клітковини. Середній вік хворих цієї групи ($51,5 \pm 8,7$ років) не дозволяє віднести дану патологію до категорії сенильних. Деякі автори зв'язують можливість появи синдрому клапанної регургітації з первинним антифосфоліпідним синдромом [4,5]. Наведені дані дають підставу вважати, що жирова дегенерація сполучнотканинних структур стулок є основою єдиного патоморфологічного процесу, який на ранніх стадіях може перебігати латентно або проявлятися недостатністю клапанів, а в подальшому приводити до кальцинозу з ефектом клапанного стенозу. На користь такої динаміки розвитку свідчить той факт, що середній вік хворих з ліпоїдозом без макроскопічних проявів становив $51,5 \pm 8,7$ року. Пацієнтів, у клапанах яких відрізнялися ліпідні бляшки - $61,4 \pm 11,5$ року, у спостереженнях класичної кальцинозної хвороби клапана - $63,7 \pm 14,3$ року.

В 149 хворих був діагностований ІЕ. В 68,5 % випадків (102 клапани) він нашаровувався на вроджену патологію, зміни, що були викликані ревматизмом, або дегенеративні зміни клапанів. У 31,1% випадку (47 клапанів) процес розцінювався як первинний ІЕ. У препаратах цієї групи були прояви механізмів альтерації, звичайні для інфекційного процесу - лізис тканин і клітин, пов'язаний із лізосомальними ферментами нейтрофілів, удосталь присутніх у вогнищах ушкодження. Крім того, у фібрині, що відкладається на уражених поверхнях клапанних структур, розмножувалися мікроорганізми, продукти життєдіяльності яких також відігравали роль пошкоджуючого фактора. При підгострому перебігу захворювання в стороні від основного вогнища ураження в грануляційній тканині можна було спостерігати дрібні вогнища периваскулярного фібриноїдного некрозу з макрофагальною реакцією, що говорить про приєднання імунікомплексного компонента запалення. При вторин-

ному ІЕ в препаратах були присутні ознаки вихідного захворювання, які створювали умови для ушкодження ендотеліального покриву клапанних структур і проникнення в них інфекційного агента.

ВИСНОВОК Аналіз морфологічного вивчення 937 клапанів, вилучених із приводу клапанних хвороб серця, у зіставленні із клінічними даними, а також із результатами досліджень інших авторів, дозволяє виділити 5 основних механізмів альтерації, присутніх у різних співвідношеннях при вадах клапанів різного генезу. До них відносяться: 1 - спадкова неспроможність сполучної тканини, 2 - гемодинамічна травма структур клапана, що виникає при вродженому або набутому порушенні фізіологічної відповідності напрямків внутрішньосерцевих потоків крові та структур клапана, 3 - імунікомплексне ураження колагенових волокон, що призводить до фібриноїдного некрозу, 4 - ферментативний та бактеріальний лізис клапанних структур, 5 - жирова дегенерація з результатом кальцинозу. Дуже істотним моментом для розвитку будь-якого патологічного процесу в клапанах є ушкодження ендотеліального шару.

Перспективи подальших досліджень Подальші дослідження у цьому напрямку дозволять розширити уявлення про механізми альтерації при вадах клапанів різного генезу. Дані, наведені в даній роботі, можуть сприяти розумінню патогенезу різних нозологічних форм хвороб серця, а також їхньої морфологічної верифікації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Boudoulas H., Vavuranakis M., Wooley C.F. Valvular heart disease: the influence of changing etiology on nosology // J. Heart Valv. Dis. - 1994. - № 3. - P. 516-526.
2. Захарова В.П. Морфологічний аналіз природи придбаних пороків серця // Серцево-судинна хірургія: Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України. Вип. 7. -К., 1999. - 340 с.
3. Barlow J.B. Idiopathic(degenerative) and rheumatic mitral prolapse: historical aspects and an overview // J. Heart Valv. Dis. - 1992. - № 1. - P. 163-174.
4. Galve, J. Ordi, J. Barguiner, A. Evngelista, M. Vilardell, J. Soler-Soler // Valvular heart disease in the primary antiphospholipid syndrome // Ann. Intern. Med. - 1992. - № 116. - P. 293-298.
5. Hughes G.R.V. The antiphospholipid syndrome: ten years on // Lancet. - 1993. - № 342. - P. 341-344.

Куц О.Г., Волошин М.А.

КІЛЬКІСНИЙ ТА ЯКІСНИЙ СКЛАД ЛІМФОЦИТІВ ДЕЦИДУАЛЬНОЇ ТКАНИНИ МАТКИ ПОРОДІЛЬ ПРИ ФІЗІОЛОГІЧНО ПЕРЕБІГАЮЧІЙ ВАГІТНОСТІ ТА ПРИ ПІЗНІХ ГЕСТОЗАХ

Запорізький державний медичний університет

КІЛЬКІСНИЙ ТА ЯКІСНИЙ СКЛАД ЛІМФОЦИТІВ ДЕЦИДУАЛЬНОЇ ТКАНИНИ МАТКИ ПОРОДІЛЬ ПРИ ФІЗІОЛОГІЧНО ПЕРЕБІГАЮЧІЙ ВАГІТНОСТІ ТА ПРИ ПІЗНІХ ГЕСТОЗАХ - Лімфоїдна тканина, асоційована з децидуальною тканиною матки, представлена лімфоцитами, що дифузно розташовані в децидуальній тканині матки та невеликими скупченнями з 4-7 лімфоцитів навколо судин. Кількість лімфоцитів на умовну одиницю площі децидуальної тканини у породіль з фізіологічним перебігом вагітності становить $9,8 \pm 1,13$ лімфоцитів. Застосовуючи лектингістохімічний метод дослідження встановлено, що у породіль кількість цитотоксичних лімфоцитів (НРА⁺) в децидуальній тканині матки на умовній одиниці площі становить $5,67 \pm 1,19$ лімфоцитів, а кількість В-лімфоцитів (SBA⁺) $2,08 \pm 0,99$. У породіль з обтяжливим діагнозом - пізній гестоз, загальна кількість лімфоцитів в децидуальній тканині вдвічі більша, порівняно з фізіологічним перебігом вагітності, кількість НРА⁺-цитотоксичних лімфоцитів більша в два рази, ніж в нормі, а чисельність SBA⁺ зростає на 50 %.

КОЛИЧЕСТВЕННИЙ І КАЧЕСТВЕННИЙ СОСТАВ ЛІМФОЦИТІВ ДЕЦИДУАЛЬНОЇ ТКАНИ МАТКИ РОЖЕНИЦЬ ПРИ ФІЗІОЛОГІЧЕСКО ПРТЕКАВШЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ И ПОСЛЕ ПОЗДНИХ ГЕСТОЗОВ - Лімфоїдна ткань, ассоциированная с децидуальной оболочкой матки, представле-

на лимфоцитами, диффузно расположенными в децидуальной ткани матки и образующими небольшие скопления из 4-7 лимфоцитов вокруг сосудов. Количество лимфоцитов на условную единицу площади у рожениц с физиологически протекавшей беременностью составляет $9,8 \pm 1,13$ лимфоцитов. Применяя лектингистохимический метод исследования установлено, что у рожениц количество цитотоксических лимфоцитов (НРА⁺) в децидуальной ткани матки на условной единице площади составляет $5,67 \pm 1,19$ лимфоцитов, а количество В-лимфоцитов (SBA⁺) - $2,08 \pm 0,99$. У рожениц с обтяжленным диагнозом - поздний гестоз, общее количество лимфоцитов в децидуальной ткани матки вдвое больше, в сравнении с физиологически протекавшей беременностью, количество цитотоксических НРА⁺ - в два раза больше, чем при норме, а число SBA⁺-лимфоцитов возрастает на 50 %.

QUANTITATIVE AND QUALITATIVE CLASSIFICATION OF LYMPHOCYTES IN UTERUS DECIDUAL TISSUE DURING PHYSIOLOGICAL PREGNANCY AND AT LATE GESTOSIS - Lymphoid tissue associated with uterus decidua tissue consists of lymphocytes which are situated in the uterus decidua tissue, these lymphocytes form small groups, which consists of 4-7 lymphocytes, situated around vessels. Amount of lymphocytes in decidua tissue during normal pregnancy is $9,8 \pm 1,13$. With the help of lectin histochemical method

it was established that the amount of cytotoxic (HPA⁺) lymphocytes in decidual tissue is $5,67 \pm 1,19$ lymphocytes, and amount of B-cells with receptors for Soya steam lectin (SBA⁺) is $2,08 \pm 0,99$. In the cases of late gestosis the total amount of lymphocytes in uterine decidual tissue is twice larger in comparison with normal pregnancy, amount of HPA⁺-cytotoxic lymphocytes and B-lymphocytes in normal condition increases by 50 %.

Ключові слова: плацента, децидуальна тканина, лімфоцити.

Ключевые слова: плацента, децидуальная ткань, лимфоциты.

Key words: placenta, decidual tissue, lymphocytes.

АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ Вплив несприятливих факторів навколишнього середовища і соціально-економічні умови, що змінилися, спричинили останнім часом значне погіршення стану здоров'я населення України, зниження народжуваності. [5]. Пізній гестоз вагітних досить поширене ускладнення вагітності і за даними різних авторів складає 7-16,6 %. Не зважаючи на певні досягнення в діагностиці, профілактиці та лікуванні пізніх гестозів вагітних, вони і досі складають одну з найменш вивчених проблем сучасної медицини [10]. В більшості літературних джерел висвітлюються суперечливі питання етіопатогенезу пізніх гестозів вагітних, особливості структурних змін плацентарного бар'єру, децидуального шару і плацентарного ложа при пізніх гестозах [2]. Разом з цим, недостатньо представлена морфологія лімфоїдної тканини, асоційованої з децидуальною тканиною матки. Недостатньо вивчено кількісний та якісний склад лімфоцитів різних популяцій в децидуальній тканині у породіль при фізіологічному перебізі вагітності та з діагнозом – пізній гестоз.

Мета дослідження Вивчити кількісний та якісний склад лімфоцитів децидуальної тканини матки у породіль в нормі та після пізніх гестозів і обґрунтувати вплив лімфоїдної тканини, асоційованої з децидуальною тканиною, на систему плацентарно-плодових взаємовідносин.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Проведене морфологічне дослідження 64 плацент породіль, одержаних від своєчасних пологів живим плодом. Плаценти поділено на дві групи. До першої групи ввійшли 24 плаценти породіль віком 16-26 років з неускладненим перебігом вагітності. До другої групи – 40 плацент породіль віком 18-38 років, вагітність яких була ускладнена пізнім гестозом. Плаценти забиралися після пологів. Для гістологічного дослідження кусочки плаценти забиралися з центральної, парацентральної та периферійної зони і фіксувалися в 10 % розчині нейтрального формаліну. Гістологічні зрізи фарбували гематоксином і еозином, ставили ШІК-реакцію з контролями. Ставили гістохімічну реакцію з виявлення рецепторів на поверхні цитоплазматичної мембрани лімфоцитів до лектину сої (SBA) та до лектину слимака (HPA) із застосуванням комерційного набору „Лектінтест” (м. Львів). На умовній одиниці площі децидуальної тканини матки 10000 мкм^2 підраховували загальну кількість лімфоцитів, кількість SBA⁺-лімфоцитів та чисельність HPA⁺-лімфоцитів (Стефанов С.Б., 1988). Результати обробляли методом варіаційної статистики. Результати вважали статистично вірогідними при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ У породіль першої групи лімфоїдна тканина, асоційована з децидуальною тканиною представлена лімфоцитами, дифузно розташованими в базальній пластинці, та невеликими скупченнями з 4-7 лімфоцитів, що розташовані, переважно, біля судин та на межі базальної пластинки і хоріальної частини плаценти. Серед лімфоцитів децидуальної тканини зустрічаються клітини малого, середнього та великого діаметру, але, візуально, переважають лімфоцити малого та великого діаметру. Лімфоцити з ШІК-позитивною зернистістю в цитоплазмі зустрічаються, переважно, на межі відокремлення децидуальної тканини від тканин матки. Загальна кількість лімфоцитів на умовній одиниці площі в децидуальній тканині матки складає $9,8 \pm 1,13$ лімфоцитів.

HPA⁺-лімфоцити, які ідентифікуються як цитотоксичні [9] мають середній діаметр і розташовані дифузно в товщі децидуальної тканини, на межі децидуальної тканини і хоральної частини плаценти. Їх загальна кількість на умовну одиницю площі становить $5,67 \pm 1,19$ лімфоцитів.

SBA⁺-лімфоцити, які відповідають популяції В-лімфоцитів [10], мають малий та середній діаметр і локалізовані в децидуальній тканині ближче до її плодової частини. Загальна кількість SBA⁺-лімфоцитів становить $2,08 \pm 0,99$ клітин на умовну одиницю площі.

У породіль другої групи, загальна кількість лімфоцитів зростає до $15,96 \pm 2,33$ лімфоцитів на умовну одиницю площі. Візуально, переважають лімфоцити середнього і великого діаметру. Збільшується кількість скупчень лімфоцитів в товщі децидуальної тканини та кількість лімфоцитів в скупченнях.

Кількість HPA⁺-лімфоцитів зростає до $9,05 \pm 1,56$ клітин, порівняно з першою групою. Цитотоксичні лімфоцити розташовані по всій товщі децидуальної тканини.

Чисельність SBA⁺-лімфоцитів зростає, порівняно з першою групою, та становить $5,98 \pm 2,09$ лімфоцитів на умовну одиницю площі. SBA⁺-лімфоцити скупчуються ближче до хоральної пластинки.

Таким чином, аналізуючи кількісний та якісний склад лімфоцитів децидуальної оболонки матки плацент двох груп породіль, спостерігаються певні зміни в будові лімфоїдної тканини плаценти у породіль з обтяжливим діагнозом. У групі з діагнозом пізній гестоз зростає кількість цитотоксичних лімфоцитів, що може бути однією з причин зриву імунологічної толерантності материнського організму до плода. Певно тому, у породіль другої групи пологи наступали на тиждень раніше, ніж при фізіологічному перебізі вагітності. І навпаки дослідженнями Алексеевої та Федорової із співавторами (1981), було встановлено, що в організмі жінок з перенесеною вагітністю, на відміну від жінок з фізіологічним перебігом вагітності, в крові повністю відсутні цитотоксичні Т-лімфоцити, активність яких мала бути направлена проти клітин трофобласту [1]. З наших попередніх експериментальних робіт відомо, що імунізація вагітних стафілококовим анатоксином призводить до зростання загальної кількості лімфоцитів та кількості цитотоксичних лімфоцитів в децидуальній тканині матки [3].

Зростання загальної кількості лімфоцитів можливе не тільки за рахунок цитотоксичних лімфоцитів, а також за рахунок лімфоцитів з хелперною активністю. З літературних джерел відомо, що у вагітних з пізнім гестозом зростає кількість CD4⁺-лімфоцитів, що призводить до підвищеного продукування В-лімфоцитами антитіл та є сприятливим фоном для розвитку аутоімунних реакцій і збільшення частоти ускладнень вагітності та пологів [7]. У вагітних з наявністю антигенної стимуляції, здебільшого інфекційної етіології зростає рівень CD19⁺-лімфоцитів в крові та достовірно збільшується рівень IgM та IgG [6]. Гіперергічна імунна відповідь сприяє зриву у таких вагітних адаптаційних можливостей системи мати-плацента-плід. В катамнезі у жінок другої групи було встановлено, що для них характерна висока частота інфекційно-запальних ускладнень (кольпіт, гострі респіраторні захворювання, гестаційний пієлонефрит, а також загострення існуючої хронічної патології), що відповідає отриманим даним збільшення кількості SBA⁺-лімфоцитів. В попередніх експериментальних роботах показано збільшення кількості В-лімфоцитів після імунізації вагітних стафілококовим анатоксином [4].

Тому збільшення SBA⁺-лімфоцитів в плаценті відображає наявність в організмі вагітної інфекційного процесу.

ВИСНОВКИ 1. Загальна кількість лімфоцитів в децидуальній тканині матки у породіль з фізіологічним перебігом вагітності становить $9,8 \pm 1,13$ лімфоцитів на умовну одиницю площі. Кількість HPA⁺-лімфоцитів - $5,67 \pm 1,19$ і SBA⁺-лімфоцитів - $2,08 \pm 0,99$, відповідно.

2. Ускладнення вагітності наявністю пізнього гестозу супроводжується зростанням загальної кількості лімфоцитів в децидуальній тканині матки, а також зростанням чисельності цитотоксичних та В-лімфоцитів.

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку Передбачається, застосовуючи, імуногістохімічний метод дослідження для вивчення розподілу лімфоцитів різних популяцій в децидуальній тканині матки при фізіологічному перебізі вагітності та при ускладненому діагнозі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Алексеев Л.П., Федорова О. Иммунологические основы патологии беременности // Иммунология. - 1981. - №4. - С. 13-16.
2. Венцовский Б.М., Дранник Г.М., Вороненко О.Ю. Сучасні погляди на імунологію вагітності // М.Р.Ж. – 1997. – Р. 4. (Педіатрія, акушерство та гінекологія), № 1-2. – С. 31-37.
3. Волошин М.А., Куц О.Г. Динаміка лімфоцитів в децидуальній оболонці протягом третього триместру вагітності в нормі і при зміні імунореактивності материнського і плодового організмів // Збірник наукових статей „Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики”. - Запоріжжя: Видавництво ЗДМУ, 2005.-С.171-177.
4. Волошин М.А., Куц О.Г. Особливості розподілу В-лімфоцитів в

децидуальній оболонці матки протягом третього періоду вагітності в нормі та після імунізації вагітних стафілококовим анатоксином // Світ медицини та біології. – 2006.-№ 1.- С. 14.

5. Гойда Н.Г. Стан та перспективи розвитку перинатальної допомоги на етапі реформування охорони здоров'я в Україні // Перинатологія та педіатрія.- 1999.- №1.-С. 3-4.

6. Романенко Т.Г. Особенности взаимодействия иммунной системы и системы свертывания крови у женщин репродуктивного возраста, проживающих в регионах загрязненных радионуклидами // Укр. медичний альманах. – 2001. –Т.4. -№5. – С. 129-131.

7. Тимошенко Л.В., Вдовиченко Ю.П., Романенко Т.Г., Матяш А.М. Особливості репродуктивного здоров'я жінок, що мешкають на територіях, забруднених радіонуклідами // Педіатрія, акушерство і гінекологія. – 2001. -№2. – С. 77-79.

8. Чайка В.К., Бабич Т.Ю., Белоусов Г.В. Программа охраны материнства в семье (безопасное материнство) - профилактика акушерских и перинатальных потерь // В кн.: 36. научных работ Ассоциация акушерів-гінекологів України.- К.,1999. -С. 460-463.

9. Paffaro V.A., Celina M., Haraguchi et al. Glycoconjugates containing N-acetyl-galactosamine expressed by mouse natural killer used as selective cell marker // 8th Meeting of European Placental Group. – IFPA, 1999.

10. Reisner Y. Chiao J.W., Sharon N. Separation of antibody helper and antibody suppressor human T cells by using soybean agglutinin // J. Natl. Acad. Sci. USA. – 1980. – Vol. 77, № 11. – P. 6778-6782.

**Шутка Б.В, Жураківська О.Я, Попадиць О.Г., Іваночко В.М., Гречин А.Б.
МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ МІОКАРДА ПЕРЕДСЕРДЬ НА ВИСОТІ ДІЇ ЗАГАЛЬНОЇ ГЛИБОКОЇ ГІПОТЕРМІЇ**

Івано-Франківський державний медичний університет

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ МІОКАРДА ПЕРЕДСЕРДЬ НА ВИСОТІ ДІЇ ЗАГАЛЬНОЇ ГЛИБОКОЇ ГІПОТЕРМІЇ – Робота присвячена питанням дослідження морфофункціональних змін міокарда передсердь відразу після дії загальної глибокої гіпотермії, яке проводилось в експерименті на щурах. Вивчено ультраструктурний стан кровеносних судин, кардіоміоцитів серця на висоті гіпотермії. Описані зміни різних типів секреторних гранул та секреторна активність міоендокринних клітин передсердь. Експеримент проводився на 20 дорослих білих безпородних статевозрілих щурах-самцях, масою 160-180 г. Тварин поділили на дві групи: експериментальну (10) і контрольну (10). Охолодження здійснювали по запатентованій нами методиці [9]. Застосовано ін'єкційний (ефірно-хлороформна суміш паризької синьої), гістологічний та електронно-мікроскопічний методи дослідження.

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИОКАРДА ПРЕДСЕРДИЙ НА ВЫСОТЕ ДЕЙСТВИЯ ОБЩЕЙ ГЛУБОКОЙ ГИПОТЕРМИИ – Работа посвящена проблемам изучения морфофункциональных изменений миокарда предсердий сразу после воздействия общей глубокой гипотермии, которое проводилось в эксперименте на крысах. Изучен ультраструктурный стан кровеносных сосудов, кардиомиоцитов сердца на высоте воздействия гипотермии. Описаны изменения разных типов секреторных гранул и секреторная активность миоэндокринных клеток предсердий. Эксперимент проведен на 20 взрослых белых беспородных половозрелых крысах-самцах, массой 160-180 г. Животных разделили на две группы: экспериментальную (10) и контрольную (10). Охлаждение осуществляли по запатентованной нами методике [9]. Применено инъекционный (эфирно-хлороформная смесь парижской синей), гистологический и электронно-микроскопический методы исследования.

MORPHOFUNCTIONAL CHANGES OF ATRIUM MYOCARDIUM ON HEIGHT OF ACTION OF GENERAL DEEP HYPOTHERMIA – The work is dedicated to questions of investigations of morphofunctional changes of atrium myocardium after general deep hypothermia influence, which was held in the experiment on the rats. Ultrastructural condition of blood vessels, heart cardiomyocytes on the altitude of hypothermia was studied. Changes of secretory activity of heart myoendocrinal cells were described and different types of secretory granules of the atrium. Experiment was conducted on 20 mature white bredless rats-males, body mass of which was 160-180 g. The animals were divided into two groups: experimental (10) and control (10). We performed cooling, using our patent method [9]. An injection (ether-chlo-roform mixture of parisian blue), histologic and electronic-microscopic methods of study were used.

Ключові слова: серце, геомікроциркуляторне русло, кардіоміоцити, міоендокринні клітини, загальна глибока гіпотермія, секреторні гранули.

Ключевые слова: сердце, гемомикроциркуляторное русло, кардиомиоциты, миоэндокринные клетки, общая глубокая гипотермия, секреторные гранулы.

Key words: heart, hemomicrocirculatory bed, cardiomyocytes, myoendocrine cells, general deep hypothermia, secretory granules.

Постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями. Дослідження виконано відповідно до плану Івано-Франківського державного медичного університету і є частиною науково-дослідної роботи кафедри анатомії людини “Морфофункціональний стан мікроциркуляторного русла (МЦР) і клітинних елементів органів і тканин після дії загальної глибокої гіпотермії” (номер держреєстрації 0103U00941), фрагмент якої реалізується за кошти гранту Президента України для обдарованої молоді № 4-13/320.

Вплив низьких температур обумовлює морфологічну перебудову та виникнення адаптаційно-приспосувальних процесів у гемомікроциркуляторному руслі (ГМЦР) та тканинних елементах [3, 5] і, як наслідок, значне зменшення споживання кисню клітинами, що підвищує стійкість організму до пошкоджуючої дії екстремальних умов, в тому числі і гіпоксії. Однак, довготривалий вплив гіпотермії може призвести до морфофункціональних змін незворотного характеру в різних органах і тканинах [6,8].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Як показав аналіз літературних джерел, питанню вивчення морфофункціональних змін кровеносних судин і кардіоміоцитів міокарда при дії загальної глибокої гіпотермії передсердь не приділено достатньо уваги. Робіт із впливу холоду на міоендокринні клітини серця виявити не вдалося.

Мета (постановка завдання). Виходячи із вищезазначеного, метою нашого дослідження було встановити за допомогою комплексних методів морфофункціональний стан міокарда передсердь серця на висоті дії загальної глибокої гіпотермії.

Виклад основного матеріалу досліджень з повним обґрунтуванням отриманих наукових результатів. На висоті гіпотермії при світлооптичному вивченні міокарда щурів спостерігається набряк м'язових волокон і інтерстицію, а це, в свою чергу, проявляється збільшенням міжклітинного і периваскулярного простору. Дрібні інтрамуральні артерії і артеріоли спазмовані, їх просвіт місцями звужений, тому кровоносне русло нерівномірно забарвлене ін'єкційною масою. На відміну від артеріального, венозне русло добре наповнюється паризькою синьою, за рахунок дилатаційних ділянок. Синусоїди та венули добре ін'єковані і чітко видимі на фоні нерівномірно наповненого артеріального русла.

Артеріоли спазмовані, просвіт їх нерівномірно звужений. В результаті зменшення просвіту судини ядра ендотеліальних клітин наближаються одне до одного, утворюючи невеликі скупчення. Внутрішня еластична мембрана при зафарбуванні фукселін-пікрофуксином утворює глибокі складки. В окремих випадках ендотеліоцит відшаровується від внутрішньої еластичної мембрани, утворюючи підендотеліальні щілини.

Посткапіляри і венули розширені, повнокровні. Стінка їх нерівномірно стоншена. Ендотеліоцити нерівномірно вистеляють внутрішній периметр судини. Ядра їх розміщені ланцюжком і щільно примикають один до одного. Середня оболонка витончена, розпушена. У деяких венулах спостерігаються варикозні випинання та аневризматичні розширення внаслідок витончення окремих сегментів венулярної стінки.

На висоті гіпотермії в гемокапілярах спостерігається стаза крові із сладжем еритроцитів, адгезія та агрегація тромбоцитів. При ультраструктурному дослідженні світлі і темні ендотеліоцити набряклі, цитоплазма периферійної їх зони містить велику кількість пухирців. Люменальна поверхня утворює глибокі випини у вигляді мікроворсинок і мікровиростів, що ще більше веде до звуження просвіту капілярів і порушення мікроциркуляції. Ядро набрякле, у каріоплазмі гранули хроматину подекуди зліплюються в грудки. Каріолема має звивисті контури та утворює інвагінації. У наволядерному просторі спостерігається набряк та дезорганізація складових компонентів апарату Гольджі. Канальці ендоплазматичної сітки розширені. Більшість з них мають нерівні контури і гублять прикріплені до їх мембран рибосоми. Останні вільно розміщуються у цитоплазмі або групуються у полісомальні розетки. Базальна мембрана нерівномірної товщини, шари її помірної електронно-оптичної щільності. У дублікатурі базальної мембрани розміщуються відростки перицитів. У загальному, в перицитах відмічаються такі ж набрякові зміни, як і в ендотеліоцитах.

Посткапіляри і венули розширені, повнокровні. Стінка їх нерівномірно стоншена. Ендотеліоцити нерівномірно вистеляють внутрішній периметр судини. Ядра їх розміщені ланцюжком і щільно примикають один до одного. Середня оболонка витончена, розпушена. У деяких венулах спостерігаються варикозні випинання та аневризматичні розширення внаслідок витончення окремих сегментів венулярної стінки. Зміни, які спостерігалися нами на висоті гіпотермії, описані і іншими дослідниками при стресових ситуаціях [7]. Вони проявлялись у змінах глікокаліксу ендотеліоцитів та тромбоцитів, що сприяє значному зниженню антиагрегаційних властивостей стінки судин та вивільненню біологічно-активних речовин, а як наслідок – тромбоутворення. При цьому інгібуються ферментні системи, які підтримують гомеостаз, зокрема, рівень біологічних амінів. Відбувається зниження пластичних процесів і посилення внутрішньоклітинного катаболізму, що обумовлює руйнування ендотеліоцитів з їх десквамацією і оголенням тромбогенної поверхні [12]. Прискорювати розвиток адгезії, очевидно, може і виділення в кров ендотеліну-1, який є сильним вазоконстриктором [13].

Характер морфофункціональних змін у кардіоміоцитах щурів на висоті дії загальної глибокої гіпотермії виражається у розвитку реактивних процесів, які пов'язані з активацією симпато-адреналової системи і збільшенням рівня катехоламінів [4], що, за даними наших досліджень, викликає сегментарні контрактири міофібрил, які характерні для метаболічного пошкодження міокарда. На ультраструктурному рівні це проявляється порушенням повздовжньої орієнтації міофібрил, відмічається потовщення Z-ліній, фрагментація їх із розщепленням міофібрил на багато тонких пучків. Частина саркомерів знаходиться в стані перескорочення (сегментарні контрактири I-II-ступеня), при цьому сусідні ділянки розтягнуті. В сусідніх саркомерах анізотропні та ізотропні диски різні за розмірами. Саркоплазма кардіоміоцитів має просвітлений матрикс. Міофібрили і міофіламенти набряклі. У ряді кардіоміоцитів відмічається вогнищева деструкція крист, фрагментація і руйнування внутрішньої мембрани мітохондрій. Плазматична мембрана сарколеми розпушена, місцями утворює інвагінації всередину клітини. В підсарколемальному просторі частково відсутній глікоген, деякі дослідники [3] пов'язують це з посиленням нескоротливого термогенезу, а саме, гіпотермія знижує інтенсивність тканинного дихання і фосфорилювання, посилюючи анаеробний гліколіз, що призводить до зменшення кількості глікогену в саркоплазмі.

Зміни ультраструктурного стану міоендокринних клітин різних відділів серця подібні до змін у кардіоміоцитах. Ядра набряклі, гетерохроматин згрупований у грудки і конденсується біля каріолеми. Остання має нерівні контури і утворює пальцеподібні випинання. Перинуклеарний простір розширений, спостерігається редукція апарату Гольджі. Довгі цистерни зустрічаються рідко, переважають їх розширені фрагменти, є дрібні пухирці. Практично у всіх міоендокринних клітинах навколо ядер з'являється невеликий об'єм "спустошеної саркоплазми". Біля ядра та між елементами апарату Гольджі спостерігається зменшення щільності розташування секреторних гранул (СГ). Зустрічається об'єднання секреторних гранул з лізосомами і мультивезикулярними тільцями. Змінюється і топографія СГ, які в нормі локалізуються, переважно, навколо ядра, а на висоті гіпотермії більшість їх знаходиться між міофібрилами та у підсарколемальному просторі. Об'ємна та поверхнева щільність секреторних гранул у міоендокринних клітинах передсердь на висоті гіпотермії зменшується в 1,5 раза порівняно з нормою. Деагрануляція міоендокринних клітин відбувається за рахунок зменшення СГ I-го, II-го, III-го типу.

Таким чином, враховуючи, що об'ємна і поверхнева щільність СГ зменшується, то можна передбачити, що секреторна активність клітин в умовах загальної глибокої гіпотермії частково загальмована. В міоендокринних клітинах переважають процеси дифузії СГ, тобто, виведення передсердного натрійуретичного пептиду (ПНУП) з клітини і, відповідно, збільшення його в плазмі крові. Подібні процеси спостерігаються при різних серцевих захворюваннях [11]. Однотипні зміни описані дослідниками при адреналіновому ушкодженні [2], в ініціальному періоді ендотоксичного шоку [1], при гострому інфаркті міокарда в перші 20 хв після ішемії [10].

Висновки і перспективи подальших розробок.

На висоті гіпотермії зміни кровоносного русла серця характеризуються спазмом артеріальних відділів та розширенням венозних. На ультраструктурному рівні найбільш виражених змін зазнають ендотеліоцити. Зміни кардіоміоцитів і міоендокринних клітин зразу після дії загальної глибокої гіпотермії морфологічно проявляються сегментарними контрактурами міофібрил, вогнищевим розпушенням міофіламентів та їх вогнищевим лізисом. Постгіпотермічні розлади у міоендокринних клітинах приводять до перебудови внутрішньоклітинних органел, які відповідають за синтез і секрецію ПНУП, що морфологічно проявляється

розширенням каналців гранулярної ендоплазматичної сітки, редукцією структурних компонентів апарату Гольджі, зменшення кількості СГ у клітинах та їх співвідношенням. Переважання дифундуючих форм останніх вказує на посилення процесів виведення ПНУП із клітини, що, ймовірно, призводить до зростання рівня його у плазмі крові. Перспективним є вивчення компенсаторно-відновних процесів в різні терміни після дії загальної глибокої гіпотермії для пошуку шляхів корекції та попередження розвитку серцевої недостатності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бардахчян Э.А., Харланова Н.П. Ультраструктурные изменения предсердных кардиомиоцитов в динамике эндотоксического шока // Кардиология. - 1993. - № 2. - С. 46-50.
2. Гнатюк М.С. Секреторная активность предсердных кардиомиоцитов при адреналовой миокардиодистрофии // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 1998. - № 2. - С. 36-37.
3. Даценко Т.В., Шаповал Е.Н. Морфофункциональные изменения в организме в ответ на общую и локальную гипотермию (обзор литературы) // Вісник морфології. - 2001. - № 2. - С. 305-307.
4. Иванов К.П. Проблема восстановления физиологических функций у человека при глубокой эксидентальной гипотермии (к вопросу о пределах физиологической адаптации) // Физиология человека. - 2002. - Т. 28, № 3. - С. 123-130.
5. Пашкова И.Г., Сорокина Л.В., Штанько С.А. Влияние предвари-

тельной острой гипо-термии на характеристику одиночного сокращения скелетной мышцы крысы // Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова. - 1996. - Т. 83, № 7. - С. 115-119.

6. Перцович В.М., Дмитренко А.С., Перцович Ю.В., Жураківська О.Я. Відновні процеси фільтраційного бар'єру нирки після дії холодного фактора в середні терміни постгіпотермічного періоду // Галицький лікарський вісник. - 2003. - Т. 10, № 2. - С. 162-165.

7. Хара М.Р., Денефиль О.В., Боднар Я.Я., Файфура В.В. Особенности структурного повреждения сердца при адреналиновой миокардиодистрофии у крыс с различными типами реактивности // Український медичний альманах. - 2000. - Т. 3, № 3. - С. 168-171.

8. Чудаков А.Ю. Судебно-медицинская и физиологическая характеристика острой общей глубокой акцидентальной гипотермии // Сб. научных работ военно-медицинской академии. - С.Пб., 1997. - С. 23.

9. Шутка Б.В., Попадинець О.Г., Жураківська О.Я. Спосіб моделювання загальної глибокої гіпотермії в експерименті. - 65225 А (UA) А61В5/01 - Бюл. №3 - 2004.

10. Яковцова А.Ф., Марковский В.Д. Ультраструктурный анализ предсердных гранул в норме и при инфаркте миокарда (стереологическое исследование) / Проблемы кардиологии, онкологии, инфекции: III съезд патологоанатомов Украины (Ивано-Франковск). - 1981. - С. 196-198.

11. Brand R.R., Wright R.S., Redfield N.M. Atrial natriuretic peptide in heart failure // J. American Coll. Cardiology. - 1993. - Vol. 22 (Supp. A). - P. 86-92.

12. Page C., Rose M., Yacoub M., Pigott R. Antigenic heterogeneity of vascular endothelium // Am. J. of Pathology. - 1992. - Vol. 141. - P. 673-683.

13. Vallet B., Weil E. Endothelial cell dysfunction and coagulation // Margaux Conference on Critical Illness. - Margaux, France. - 2000. - P. 75.

Горбенко В.М., Яковцова А.Ф.* , Масловський С.Ю.* , Кихтенко О.В.*

ЗМІНА МІТОТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ЕПІТЕЛІАЛЬНИХ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ПІД ВПЛИВОМ ЦИТОСТАТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ

Харківський науково-дослідний інститут загальної і невідкладної хірургії, Харківський державний медичний університет*

ЗМІНА МІТОТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ЕПІТЕЛІАЛЬНИХ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ ПІД ВПЛИВОМ ЦИТОСТАТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ – Під впливом цитостатика «Токсатер» в епітеліальних злоякісних пухлинах щитоподібної залози зменшується мітотична активність клітин, що свідчить про зниження ступеня їх проліферації.

ИЗМЕНЕНИЕ МИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЕПИТЕЛИАЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ – Под воздействием цитостатика «Токсатер» в эпителиальных злокачественных опухолях щитовидной железы уменьшается митотическая активность клеток, что свидетельствует о снижении степени их пролиферации.

CHANGE OF MITOTIC ACTIVITY OF EPITHELIAL MALIGNANT TUMOURS OF THYROID AS A RESULT OF CYTOSTATIC THERAPY INFLUENCE – The mitotic activity of epithelial malignant tumours of thyroid decreases as a result of influence of cytostatic therapy by "Toxater", that testifies to the lowering of their proliferation degree.

Ключові слова: рак щитоподібної залози, мітотична активність, цитостатична терапія.

Ключевые слова: рак щитовидной железы, митотическая активность, цитостатическая терапия.

Key words: thyroid carcinoma, mitotic activity, cytostatic therapy.

В умовах значного росту частоти виникнення злоякісних уражень щитоподібної залози (ЩЗ) [1, 3] особливо великого значення надають удосконалюванню методів як діагностики, так і лікування даної нозології. Також виникла необхідність пошуку нових морфологічних критеріїв оцінки ефективності того чи іншого методу лікування й уніфікації методологічних прийомів мікроскопічного дослідження [8].

Метою даної роботи є вивчення зміни мітотичної активності клітин різних гістологічних типів епітеліальних злоякісних уражень ЩЗ під впливом цитостатичного препарату «Токсатер».

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ Дослідження проведене на операційному матеріалі від 178 хворих з раком ЩЗ, яким проведено хірургічне лікування в Харківському обласному клінічному онкологічному диспансері і Харківській обласній клінічній лікарні за період 2000 – 2005 рр. Досліджувана група представлена 41 пацієнтом, що у передопераційному періоді в ході комплексної терапії піддавалися впливу цитостатичного препарату «Токсатер». Група порівняння включила 137 хворих, у яких на передопераційному етапі в комплексну терапію «Токсатер» не входив. Тип раку ЩЗ діагностували відповідно до класифікації ВОЗ [4].

Дослідження проведене на гістологічних препаратах, пофарбованих гематоксиліном з еозином. Визначалася середня мітотична активність пухлин шляхом підрахунку кількості мітозів на серійних зрізах в обмеженому полі зору – 360 x10⁻¹² м² (у кожному випадку вивчалася 5-7 полів зору). Також відзначалася середнє число патологічних мітозів в полі зору. Комплекс морфометричних досліджень проводився на мікроскопі Olympus BX-41 з використанням програм Olympus DP-Soft (Version 3:1) і Microsoft Excel [5]. Отриманий, у результаті проведеного дослідження цифровий масив даних оброблено сучасними методами математичної статистики [7].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Результати проведеного дослідження представлені в таблиці. При порівнянні мітотичної активності клітинної популяції папілярних раків хворих досліджуваної групи і групи порівняння встановлено, що загальне число мітозів після впливу «Токсатера» вірогідно не змінюється, тоді як кількість патологічних мітозів зменшується з достовірною оцінкою різниці двох середніх (табл.). Дослідження зміни мітотичної активності злоякісних пухлин фолікулярного типу при впливі «Токсатера» дозволило виявити аналогічні за-

Таблиця. Мітотична активність клітинних популяцій карцином хворих досліджуваної групи і групи порівняння

Тип карциноми	Кількість мітозів на $360 \times 10^{-6} \text{ м}^2$		Кількість патологічних мітозів на $360 \times 10^{-6} \text{ м}^2$	
	досліджувана група	група порівняння	досліджувана група	група порівняння
Папілярний рак	6,03±0,24	6,33±0,27	2,74±0,06*	3,01±0,07*
Фолікулярний рак	11,12±0,43	12,07±0,34	5,04±0,21*	8,36±0,35*
Медулярний рак	2,73±0,09*	3,75±0,14*	1,77±0,06*	2,25±0,07*
Анапластичний рак	12,18±0,51*	18,43±0,62*	8,52±0,32*	10,11±0,37*

* - різниця двох середніх достовірна (P>95%)

кономірності. Виявляється недостовірне зменшення мітозів взагалі і виражене достовірне зменшення числа патологічних мітозів на обмеженому полі зору. При підрахунку кількості мітозів на обмеженому полі зору в популяції медулярних карцином під впливом цитостатичної терапії «Токсатером» виявлене достовірне зменшення як загального числа мітозів, так і їхніх патологічних різновидів. При порівняльній оцінці мітотичної активності недиференційованих карцином встановлено різке зменшення як загального числа мітозів у цілому, так і кількості патологічних мітозів на обмеженому полі зору в зразках тканин від хворих, які мали «Токсатер» в комплексній терапії на доопераційному етапі.

Зменшення мітотичної активності клітин раку ЩЗ свідчить про зниження їхнього ступеня проліферації й уповільненні пухлинної прогресії під впливом даного цитостатичного препарату [2, 6]. Причому, число патологічних мітозів вірогідно знижується в клітках усіх гістологічних типів раків ЩЗ, тоді як загальна кількість мітозів зменшується тільки лише в клітинних популяціях медулярного й анапластичного раку. Останнє, можливо, обумовлено різним ступенем чутливості злоякісних епітеліальних пухлин ЩЗ до «Токсатеру».

Висновки і перспективи подальших досліджень

Під впливом «Токсатера» зменшується ступінь проліферативної активності пухлинних клітин раку ЩЗ. Для підтвердження і більш детального вивчення описаних процесів, які викликані в злоякісних епітеліальних пухлинах ЩЗ

цитостатичною терапією, планується провести імуногістохімічне дослідження з використанням моноклональних антитіл до PCNA, що є маркером клітинної проліферації [9].

ЛІТЕРАТУРА

1. Абросімов А.Ю., Лушніков Є.Ф., Франк Г.А. Радиогенний (Чернобыльський) рак щитовидної залози // Архів патології. – 2001, №4. – С. 3-8.
2. Андрусова Н.Г., Чарієва І.Г., Ладигіна Г.А., Пилаєв А.С. Роль сосуществования апоптоза и митотической активности клеток в гистогенезе / / Матеріали наукової конференції «Фундаментальные и прикладные проблемы гистологии. Гистогенез и регенерация тканей». – С.Пб., 2004. – С.18-19.
3. Богданова Т.І. Статистика и морфологическая характеристика рака щитовидной железы у детей и подростков Украины после аварии на Чернобыльской АЭС // Эндокринология. – 1996, №1. – С. 49-63.
4. ВОЗ. Гистологическая классификация опухолей щитовидной железы: Пер. с англ. – М., 1998. – 77 с.
5. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.:МОРИОН, 2001. – 408 с., С.144-155.
6. Свиридова Т.Є., Коган А.Є., Пальцев М.А., Середін В.П. Гистологические и молекулярно-биологические маркеры злокачественности в различных вариантах папиллярного рака щитовидной железы // Архів патології. – 2002, №6. – Т. 64. – С. 19-23.
7. Сергинко В.І., Бондарева І.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. – М.: ГЕОТАР, 2000. – 256 с.
8. Тулікіна О.Б., Степанов С.А., Богомолова Н.В., Амірова Н.М. Морфофункциональная характеристика клеточных и тканевых компонентов щитовидной железы при ее патологии // Архів патології. – 2000, №5. – С. 24-29.
9. Mason D. The 7th Workshop and Conference of Human Leucocyte Differentiation Antigens (HLDA7) // Tissue Antigens – 2000. – 55 p.

Раскалей Д.В., Стеченко Л.О.

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ ПОШКОДЖЕНОГО НЕРВА В УМОВАХ ДІЇ МАГНІТНОГО ПОЛЯ ТА ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЕННЯ З РІЗНОЮ ЧАСТОТОЮ МОДУЛЯЦІЇ

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ ПОШКОДЖЕНОГО НЕРВА В УМОВАХ ДІЇ МАГНІТНОГО ПОЛЯ ТА ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЕННЯ З РІЗНОЮ ЧАСТОТОЮ МОДУЛЯЦІЇ – Вивчалась ефективність впливу частотно модульованого магнітного поля і лазерного випромінювання на динаміку регенерації попередньо пошкоджених та зшитих сідничних нервів в експерименті на білих щурах. Було показано, що вплив магнітного поля і лазерного випромінювання в інфрачервоному діапазоні при частоті модуляції 37.5 Гц здійснює найбільш сприятливий вплив на регенерацію нервових волокон.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОВРЕЖДЕННОГО НЕРВА В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ МАГНИТНОГО ПОЛЯ И ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ С РАЗНОЙ ЧАСТОТОЙ МОДУЛЯЦИИ – Исследовалась эффективность влияния частотно-модулированного поля и лазерного излучения на динамику регенерации предварительно поврежденных и сшитых седалищных нервов в эксперименте на белых крысах. Было показано, что влияние магнитного поля и лазерного излучения в инфракрасном диапазоне при частоте модуляции 37.5 Гц оказывает наиболее благоприятное влияние на регенерацию нервных волокон.

ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN DAMAGED NERVE IN CONDITIONS OF INFLUENCE OF MAGNETIC FIELD AND LASER RADIATION WITH DIFFERENT FREQUENCY OF MODULATION – The effect of dynamics of repair processes in

preliminarily cut and sutured sciatic nerves was studied in experiments on white rats. It was shown that influence of magnetic field and laser radiation in the infrared diapason at the modulation frequency of 37.5 Hz tends to shorten the period of regeneration in the distal length of the nerve. Secondary regeneration of the nerve fibers proceeds more intensively.

Ключові слова: магнітолазерна терапія, дегенерація, регенерація, нервові волокна, інфрачервоний діапазон спектра.

Ключевые слова: магнитолазерная терапия, дегенерация, регенерация, нервные волокна, инфракрасный диапазон спектра.

Key words: magnetic-laser therapy, degeneration, regeneration, nerve fibers, infrared spectrum diapason.

ВСТУП Пошкодження периферійних нервів займають значне місце серед захворювань органів нервової системи і часто призводять до інвалідності [6,8]. Тому і зараз проблема вивчення відновлювальних процесів після травм нервових стовбурів залишається актуальною. Відомо, що для більш повної та якісної регенерації пошкодженого нерва

і прискорення відновлення втрачених функцій використовується електрична стимуляція [2], опромінення гелій – неоновим лазером [7,9] та дія імпульсним магнітним полем [2]. Однак ці методи не завжди можна використовувати з достатньою ефективністю. Звідси, досить перспективним є застосування у комплексному лікуванні пошкоджених нервів магнітолазерної терапії (МЛТ). Це пов'язано з тим, що останнім часом з'явилися фундаментальні праці, в яких показана можливість впливу магнітного поля (МП) і лазерного випромінювання (ЛВ) на структурні елементи мембран живих клітин зі зміною їх проникливості для найважливіших іонів [1]. В основі цієї взаємодії лежить принцип резонансу, тобто, при відповідній частоті зовнішнього МП і ЛВ можливий активний вплив на різні об'єкти, що отримало назву так званих резонансних циклотронних частот [5], а сам метод використання МП і ЛВ – „Іон параметрична магнітолазерна терапія” [4]. Однак практичне застосування слабких частотно модульованих факторів тільки починає використовуватись [3].

Метою даного дослідження було вивчення динаміки відновлення структурних змін, які відбуваються у пошкодженому нерві під впливом частотно модульованого МП та ЛВ.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ Експериментальні дослідження були проведені на білих щурах вагою 150-200 г. Всі тварини були розподілені на 3 групи. 1 група слугувала контролем. На тваринах інших 2 груп вивчалась дія частотно модульованого МП та оптичного потоку в інфрачервоному діапазоні спектра при частоті модуляції 9,4 Гц та 37,5 Гц на регенерацію пошкодженого периферійного нерва. Всі оперативні втручання проводили з дотриманням правил асептики та антисептики. Використовували тіопенталовий наркоз з попередньою премедикацією дроперидолом і анальгіном. Мікрохірургічна операція полягала у повній перерізці лівого сідничного нерва, відповідно до рекомендацій, з наступним периневральним його зшиванням. Нейрографію проводили за допомогою ниток 10/0 на атравматичній голці фірми „Ethicon”. Через добу після операції тваринам експериментальних груп протягом 10 діб проводилась МЛТ. З цією метою використовувався серійний прилад „МИТ-11” вітчизняного виробництва фірми НМЦ „Медінтех”. Особливістю цього приладу є те, що його магнітні індуктори поєднані з лазерним випромінювачем в одному терміналі. Це дозволяє одночасно впливати МП і ЛВ на необхідну ділянку.

Параметри, що передбачені в конструкції приладу:

- напруга МП- до 100 мТл;
- потужність ЛВ- до 100 мВт;
- довжина хвилі ЛВ:
- 0,67 мкм (червоний діапазон);
- 0,78 мкм (інфрачервоний діапазон);
- частота модуляції МП і ЛВ – від 1 до 100 Гц.

Необхідна доза для проведення 1 сеансу МЛТ розраховувалась за відомою формулою:

$$t = (ES / P) K,$$

де t- час впливу, с; E- необхідна енергія для опромінення зони, Дж/см²; S- площа зони впливу, см²; P- потужність лазерного випромінювання, Вт; K- коефіцієнт віддзеркалення.

Відповідно для ЛВ у червоному діапазоні спектра вона становила 4 хв, у інфрачервоному – 2 хв. МЛТ проводилась на ділянку пошкодження нерва та проксимальний і дистальний його відрізки. Тваринам контрольної групи після пересічення і зшивання нерва МЛТ не проводилось.

Для вивчення процесів дегенерації та регенерації у пошкоджених нервах матеріал забирали через 3, 6 та 12 тижнів після операції. Перед забором матеріалу тваринам вводили летальну дозу тіопенталу.

Для електронно-мікроскопічного дослідження невеликі фрагменти дистальних відрізків сідничного нерва обробляли за загально прийнятими методиками. Ультратонкі

зрізи одержували на ультратомі LKB-8800 (Швеція) у поздовжній та поперечній проекціях нерва, контрастували у 2 % розчині ураніацетату в 50-70 % етанолі протягом 15 хвилин і цитратом свинцю стільки ж часу. Потім зрізи вивчали та фотографували в електронному мікроскопі ПЕМ-125 К.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Електронно-мікроскопічне дослідження проведене через 3 тижні після операції в контрольній групі тварин показало, що у дистальному відрізку нерва спостерігаються фрагменти дегенерованих мієлінових волокон з повним пошкодженням мієлінової оболонки, залишки якої накопичуються в цитоплазмі клітин Швана. При цьому, у сполучній тканині ендоневрію відмічається набряк та дезорганізація колагенових волокон, а у фібробластих спостерігаються ділянки цитолізу, деструктивно змінені мітохондрії, розширені каналці ЕПС та комплексу Гольджі, скупчення ліпідних крапель (рис.1).

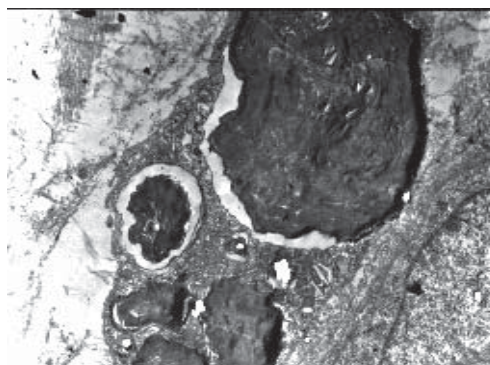


Рис. 1. Фрагмент дистального відрізка сідничного нерва через 3 тижні після операції в контрольній групі тварин. Дегенеровані мієлінові волокна з повним пошкодженням мієлінової оболонки, залишки якої та скупчення ліпідних крапель накопичуються в цитоплазмі клітин Швана. Зб.8000.

При дослідженні препаратів периферійних відрізків нервів через 3 тижні після операції і впливу магнітного поля (МП) і лазерного випромінювання (ЛВ) в інфрачервоному спектрі з частотою модуляції 9,4 Гц переважно спостерігаються дегенеративно змінені нервові волокна, в котрих виявляються залишки набряклої аксоплазми осьового циліндра та деструктивно пошкоджена мієлінова оболонка. Такі пошкоджені мієлінові волокна оточені нейрореміцитами та макрофагами. У цитоплазмі останніх міститься велика кількість ліпідних гранул та клітинного детриту, що свідчить про пошкодження мієлінових волокон і формування так званих «оводів». Слід зазначити, що в цей же період спостереження у сполучній тканині ендоневрію виявляються пошкодження клітинних і неклітинних елементів. Деякі фіброласти некротично змінені, локально ушкоджені їх плазматична мембрана, ядро пікноморфне. Як правило, навколо таких фіброblastів відмічається набряк структур міжклітинної речовини. У частині її колагенових волокон відсутня періодична смугастість, і вони розділені набряклими ділянками. Разом з цим, на фоні вищеописаних дегенеративних змін спостерігається невелика кількість новоутворених безмієлінових нервових волокон (рис.2).

При вивченні дистальних відрізків пошкоджених нервів у цей же термін після дії МП і ЛВ з частотою модуляції 37,5 Гц визначаються різні фази дегенерації мієлінових волокон. Цікавим є зростання кількості клітин Швана, що може свідчити про їх аутолітичну активність, яка проявляється поглинанням залишків мієлінової оболонки і трансформування їх у ліпідні краплі (рис.3). Разом з цим, на фоні таких дегенеративних змін звертає на себе увагу наявність новоутворених безмієлінових і окремих молодих

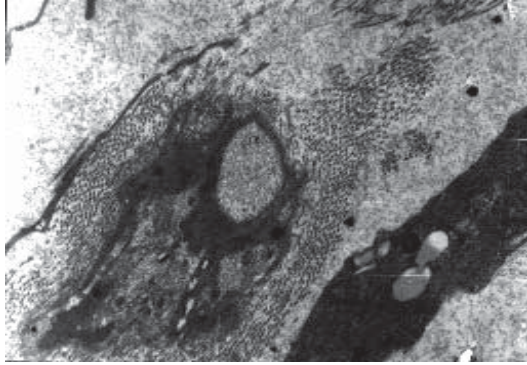


Рис.2. Фрагмент дистального відрізка сідничного нерва через 3 тижні після операції і впливу магнітного поля та лазерного випромінювання в інфрачервоному спектрі з частотою модуляції 9.4 Гц. Новоутворені безмієлінові нервові волокна. Зб. 12000.

мієлінових нервових волокон, які формуються функціонально активними клітинами Швана. Про останнє свідчить добре розвинута у їх цитоплазмі гранулярна ЕПС, комплекс Гольджі, велика кількість фіксованих і вільних рибосом (рис.4).

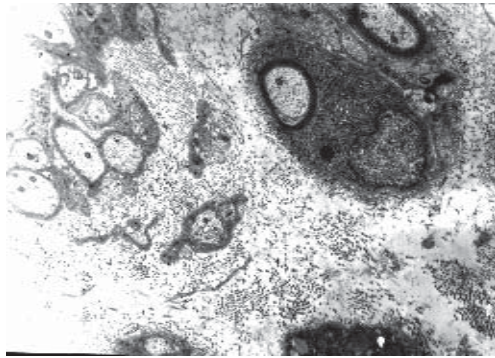


Рис.4. Фрагмент дистального відрізка сідничного нерва через 3 тижні після операції і впливу магнітного поля та лазерного випромінювання в інфрачервоному спектрі з частотою модуляції 37.5 Гц. Новоутворені безмієлінові та мієлінові нервові волокна, які формуються функціонально активними клітинами Швана. Зб. 10000.

Дослідження через 6 тижнів після операції периферійного відрізка пошкодженого нерва контрольної групи тварин показало наявність окремих дегенеративно змінених нервових волокон. Поява останніх пов'язана з руйнуванням мієлінової оболонки, її фрагментацією і поглинанням цих залишків макрофагами та нейролемоцитами. При цьому слід зазначити, що у переважній більшості новоутворених нервових волокон клітини Швана мають досить виражені пошкодження структурної організації, які пов'язані, в першу чергу, з різким розширенням каналців ЕПС та втратою ними рибосом. Відмічаються порушення структурної організації і в інших органелах та ядрі. Усі ці зміни в структурних компонентах клітин Швана свідчать про зниження їх білоксинтезуючої функції.

Через 6 тижнів після закінчення експерименту в групі тварин після дії МП і ЛВ з частотою модуляції 9.4 Гц спостерігались зміни, дуже подібні до тих, що відбувались під впливом МП та ЛВ з частотою модуляції 37.5 Гц через 3 тижні після операції.

Вивчаючи у цей же термін дослідження препарати дистальних відрізків пошкоджених нервів, на яких впливали МП та ЛВ з частотою модуляції 37.5 Гц, ми виявили поряд з волокнами, що формуються, мієлінові волокна з повністю сформованою мієліновою оболонкою та наяв-

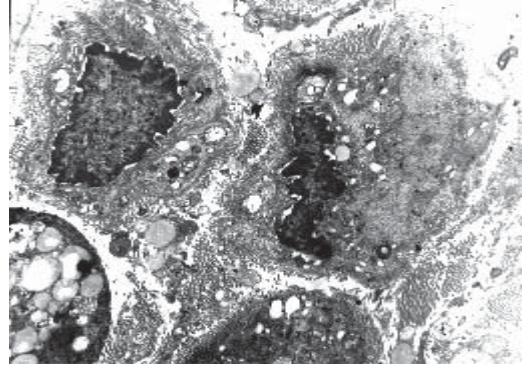


Рис.3. Фрагмент дистального відрізка сідничного нерва через 3 тижні після операції і впливу магнітного поля та лазерного випромінювання в інфрачервоному спектрі з частотою модуляції 37.5 Гц. Скупчення клітин Швана в цитоплазмі, в яких є велика кількість ліпідних включень. Зб. 11000.

істю чисельних мітохондрій, нейротрубочок, нейрофібрил у аксоплазмі цих волокон. Виникнення чисельних новоутворених мієлінових волокон, на нашу думку, є результатом активності метаболічного апарату клітин Швана (рис.5). Одночасно з цим, у ендоневрії дистального

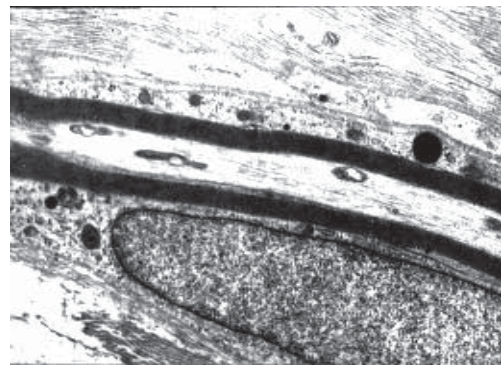


Рис.5. Фрагмент дистального відрізка сідничного нерва через 6 тижнів після операції і впливу магнітного поля та лазерного випромінювання в інфрачервоному спектрі з частотою модуляції 37.5 Гц. Чисельні новоутворені мієлінові волокна. Зб. 12000.

відрізка пошкодженого нерва зустрічаються макрофаги, у цитоплазмі яких спостерігається скупчення ліпідних включень. Можливо, це є результатом поглинання ліпідів, що утворились в результаті дегенерації мієлінової оболонки пошкодженого нерва.

Через 12 тижнів після експерименту у контрольній групі тварин більшість волокон дистального відрізка є пошкодженнями мієлінової оболонки, що виражаються у локальному розшаруванні мезаксонів або частковому розширенні періаксонального простору. В ендотелії кровонесних судин на люмінальній поверхні спостерігається невелика кількість мікроростів, що свідчить про його реактивність. Разом з тим, відмічаються мієліноподібні фігури в зоні міжклеточних контактів, що може вказувати на часткову утилізацію дегенеративно зміненого мієліну через кровонесне русло з однієї сторони, а з іншої – про мієлінову дегенерацію власних мембран структур ендотелію.

При вивченні дистальних відрізків у такий же термін дослідження та дії МП і ЛВ з частотою модуляції 9.4 Гц було відмічено, що зміни нагадують такі, які відбуваються під впливом МП та ЛВ з частотою модуляції 37.5 Гц, але у термін 6 тижнів.

Через 12 тижнів після операції у тварин, які зазна-

вали впливу МП та ЛВ з частотою модуляції 37.5 Гц у периферійному відрізу пошкодженого нерва поруч з новоутвореними волокнами, виявлялась значна кількість волокон з чітко сформованою мієліновою оболонкою і зрілими осьовими циліндрами. В аксоплазмі останніх зустрічались нейрофібрили та нейротрубочки, стан яких свідчив про зрілість нервового волокна (рис.6).

Таким чином, електронно-мікроскопічний аналіз проведених досліджень свідчить про те, що більш ефективним щодо регенерації мієлінових волокон у пошкодженому нерві, є вплив МП і ЛВ інфрачервоного спектру з частотою модуляції 37.5 Гц. Найяскравіше це проявляється через 6 тижнів після експерименту.

Наведені факти відкривають нові можливості для подальшого вивчення сучасними методами дослідження використання дії МП та ЛВ у комплексному лікуванні пошкоджених периферичних нервів.

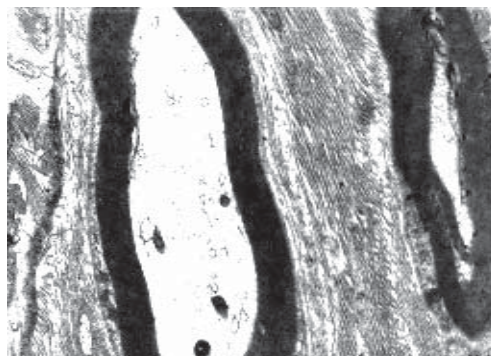


Рис.6. Фрагмент дистального відрізка сідничного нерва через 12 тижнів після операції і впливу магнітного поля та лазерного випромінювання в інфрачервоному спектрі з частотою модуляції 37.5 Гц. Зрілі нервові волокна, в аксоплазмі яких добре розвинені нейрофібрили та нейротрубочки. 36.13000.

Ершов В.Ю.

ЗМІНИ ІНТРАМУРАЛЬНОГО НЕРВОВОГО АПАРАТУ КИШКИ ПРИ АТРЕЗИЯХ У НОВОНАРОДЖЕНИХ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

ЗМІНИ ІНТРАМУРАЛЬНОГО НЕРВОВОГО АПАРАТУ КИШКИ ПРИ АТРЕЗИЯХ У НОВОНАРОДЖЕНИХ – В статті наведено результати дослідження патоморфології нервових елементів стінки кишки при атрезіях у новонароджених. Матеріалом дослідження стали сегменти кишечника новонароджених, оперованих з приводу атрезій кишечника – всього 40 клінічних випадків. Методиками дослідження були світлова мікроскопія препаратів кишки. Поряд з ознаками первинності патології нейрогенезу в атретичних ділянках спостерігаються вторинні зміни компенсаторно-приспосовального характеру в преатретичних сегментах та вторинні зміни дегенеративно-дистрофічного характеру в постатретичних сегментах внаслідок їх функціональної ненавантаженості.

ИЗМЕНЕНИЯ ИНТРАМУРАЛЬНОГО НЕРВОВОГО АППАРАТА КИШКИ ПРИ АТРЕЗИЯХ У НОВОРОЖДЕННЫХ – В статье приведены результаты исследования патоморфологии нервных элементов стенки кишки при атрезиях у новорожденных. Материалом исследования стали сегменты кишечника новорожденных, оперированных по поводу атрезий кишечника – всего 40 клинических случаев. Методиками исследования стали световая микроскопия препаратов кишки. Вместе с признаками первичности патологии нейрогенеза в атретичных участках наблюдаются вторичные изменения компенсаторно-приспосовительного характера в преатретических сегментах и вторичные изменения дегенеративно-дистрофического характера в постатретических сегментах вследствие их функциональной незагруженности.

CHANGES OF INTRAMURAL NERVOUS APPARATUS OF THE INTESTINE IN ATRESIAS OF NEWBORNS – The article presents the results of research of nervous elements pathomorphology at intestinal atresia in newborns. The material for research were intestinal segments of newborns, operated in the cases of intestinal atresia – 40 clinical cases. Techniques of research was light microscopy of intestinal preparations. There were observed attributes of primacy of neurogenesis pathology in atretic sites and secondary changes of adaptive character in preatretic segments and secondary changes of degenerative-dystrophic character in postatretic segments due to their functional unloading.

Ключові слова: кишкова атрезія, інтрамуральний нервовий апарат, новонароджені.

Ключевые слова: кишечная атрезия, интрамуральный нервный аппарат, новорожденные.

Key words: intestinal atresia, intramural nervous apparatus, newborns.

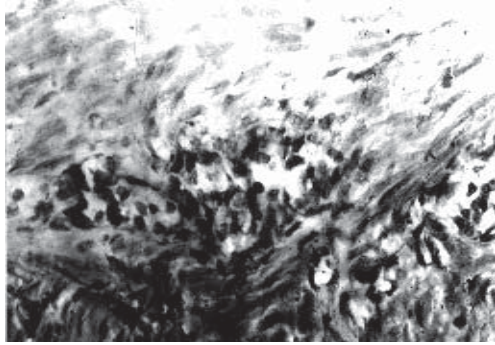
АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ Проблема морфології атрезій кишечника є достатньо актуальною. Це зумовлено, в першу чергу, недостатнім висвітленням проблеми як у вітчизняній, так і в зарубіжній літературі. Також важливими є питання етіології та патогенезу кишкових атрезій, стосовно чого висувається декілька теорій, але жодна з них повністю

не підтверджена як експериментально, так і в патоморфологічних дослідженнях [2, 3, 4]. Тому на сьогодні кишкові атрезії вважають поліетіологічною патологією [1]. Нарешті, проблема морфології кишкових атрезій має важливе практичне значення. Реконструктивні операції, які мають за мету усунути механічну кишкову непрохідність, викликану атрезією кишечника, повинні здійснюватися тільки у межах здорових, тобто функціонально повноцінних тканин. Саме тому необхідно чітко визначити межу між функціонально повноцінною та атретично зміненою частиною кишечника, що неможливо без знання морфології атрезій кишечника.

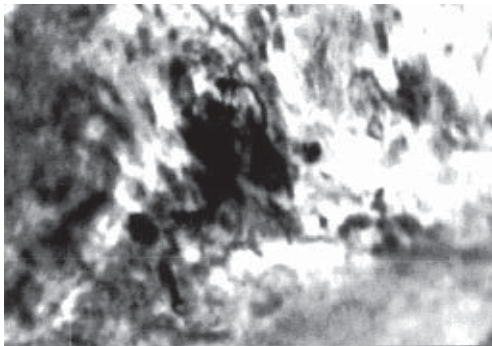
Мета дослідження Поглибити уявлення про етіологію та патогенез атрезій кишечника, досліджуючи патологічні зміни нервових елементів кишки при атрезіях у новонароджених, та сформулювати висновки щодо первинності цих змін.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Матеріалом дослідження є сегменти кишечника новонароджених, оперованих у відділенні хірургії новонароджених Української дитячої спеціалізованої лікарні "Охматдит" з приводу атрезій кишечника – всього 40 клінічних випадків. Методиками дослідження були світлова мікроскопія препаратів кишки, забарвлених за загальними та спеціальними методиками: імпрегнація нітратом срібла за Більшовським-Грос та за Рассказовою-Купріяновим, забарвлення метиленовим синім за Нісслем.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Дослідження нейроморфології преатретичних сегментів дванадцятипалої кишки виявило відсутність міжм'язових та гліальних нервових структур, відсутність нейробластів та клітин нейроглиї (рис. 1). В міжм'язових ділянках виявлено лише елементи сполучної тканини. Деякі зміни спостерігаються також в нервових волокнах. Відмічається різка дисхромія (гіпо- або гіперімпрегнація) (рис. 2). Більшість товстих мієлінових волокон знаходяться у стані різкого реактивного подразнення. При дослідженні нейроморфології преатретичних сегментів клубової кишки були виявлені полігональні клітини з ділянками гіперімпрегнації в центрі. Даним клітинам був властивий значний поліморфізм, за сукупністю морфологічних даних їх можна вважати деген-

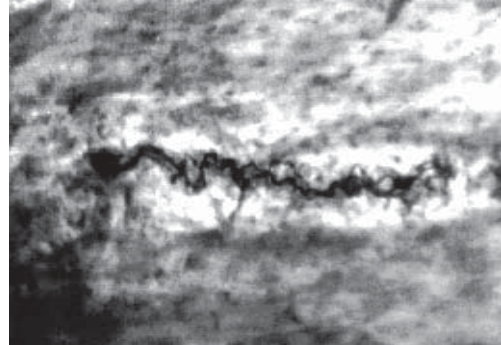
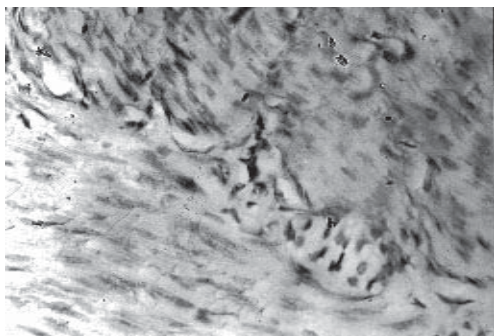


неративно зміненими нейронами міжм'язового сплетення. Деякі зміни на цьому фоні спостерігаються і в нервовому сплетенні. На тілах нейроцитів місцями утворюються шипоподібні та пластинчасті вирости, внаслідок чого тіла клітин набувають різноманітних форм (рис. 3).



Зміни нервових структур в преатретичних сегментах товстої кишки виражені дещо менше, ніж аналогічні зміни тонкої кишки. В багатьох нейроцитах спостерігається заповнення перинуклеарного та центрального простору цитоплазми досить великими, різко базофільними гранулами тигроїда. Гліальні елементи утворюються під капсулою, в хромофобних нейроцитах. На місці нейроцитів, що вже загинули, гліальні елементи та гістіоцити скупчуються у вигляді вузликів.

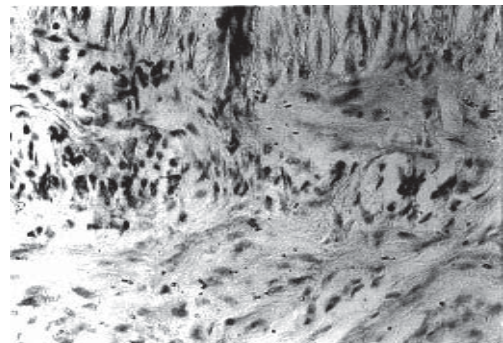
Нейроморфологія атретичних ділянок В стінці тонкої кишки в межах ділянки атрезії спостерігається найбільша кількість нервових елементів, що зазнали деструкції або розвинених патологічно. Нервові елементи у стані подразнення спостерігаються тільки в тих місцях атретичної ділянки, де наявні хоча б деякі розвинені нейроцити та їх відростки. Ганглії, що розташовані в стінці атретичної ділянки, значно зменшені порівняно з нормою. Нейроцити цих гангліїв значно відрізняються один від одного за величиною та формою. Відмічаються великі нервові клітини, у декілька разів більші від інших нейроцитів (рис. 4).



В ділянках товстої кишки, уражених атрезією, спостерігаються деякі прояви деструкції та дегенерації нервових елементів поряд з явищами слабких реактивних змін. В гангліях інтрамурального нервового сплетення з'являється багато клітин з ознаками зморщування та деструкції. В інтрамуральних нервових елементах спостерігаються різноманітні зміни. Нервові вузли складаються переважно з 5-8 нейроцитів. Рідко зустрічаються ганглії з великою кількістю нейроцитів. Останні знаходяться в різних стадіях дегенерації. Між збільшеними в розмірах нейроцитами визначається багато гліальних елементів.

Нейроморфологія постатретичних сегментів Комплекс морфологічних змін в нейроцитах інтрамурального нервового сплетення постатретичного сегменту тонкої кишки, описаний в даному дослідженні, є не тільки ознакою функціональної ненавантаженості нервових елементів даної ділянки кишки, але й проявом дегенеративно-дистрофічних змін нейроцитів в умовах їх функціональної ненавантаженості. Особливо ці зміни виражені в постатретичних сегментах дванадцятипалої кишки. Крім того, спостерігаються ознаки хронічного подразнення нейроцитів: типові зміни при реактивному запаленні, зокрема набряк, вакуолізація цитоплазми та різні ступені тигролізу, а також двоядерцевість нейроцитів.

В постатретичних сегментах ободової кишки спостерігаються менш виражені дегенеративні зміни. Нейроморфологічне дослідження даних зразків виявило наявність полігональних нейроцитів міжм'язового сплетення, які слабо сприймали барвник, з пінистою, нерівномірно забарвленою цитоплазмою, сплюсненими та зміщеними до цитолемі ядрами (рис. 5). У інших ділянках виявлялися клітини, що



можуть бути ідентифіковані як дегенеративні нейроласти. Таким чином, дані зразки свідчать про функціональну неспроможність кишки на даному рівні відносно ділянки атрезії.

Висновки Зміни інтрамурального нервового апарату кишки при атрезіях характеризуються різноманітністю і залежать, по-перше, від сегменту кишечника відносно місця атрезії (преатретичний, атретичний чи постатретичний), а по-друге, від рівня локалізації атрезії в кишечни-

ку (тонка і товста кишка). Поряд з ознаками первинності патології нейрогенезу, що особливо відзначається в атретичних ділянках, спостерігаються вторинні зміни компенсаторно-приспосувального характеру, добре виражені в преатретичних сегментах, та вторинні зміни дегенеративно-дистрофічного характеру, наявні в постатретичних сегментах внаслідок їх функціональної ненавантаженості. Однак, ознаки первинності патології нейрогенезу потребують верифікації шляхом дослідження нейровазальних взаємовідносин в уражених сегментах кишки. Тому об'єктом подальших досліджень має стати судинне русло кишки, ураженої атрезією.

ЛІТЕРАТУРА

1. Dimmick J.E., Kalousek D.K. Developmental Pathology of the Embryo and Fetus. – Philadelphia: Lipincott, 1992 – pp. 519-524; Saunders, 1994. – p. 787.
2. Baglaj S.M., Czernik J., Kuryszko J., Kuroпка P. Natural history of experimental intestinal atresia: morphologic and ultrastructural study // J. Pediatr. Surg. – 2001 Sep. – Vol. 36, № 9. – P. 1428-1434.
3. Masumoto K., Suita S., Nada O., Taguchi T., Guo R. Abnormalities of enteric neurons, intestinal pacemaker cells, and smooth muscle in human intestinal atresia // J. Pediatr. Surg. – 1999 Oct. – Vol. 34, № 10. – P. 1463-1468.
4. Fu T., Cui X., Wang X., Fu Z. Segmental defect of the intestinal musculature associated with ileal atresia and biliary atresia // J. Pediatr. Surg. – 1998 Mar. – Vol. 33, № 3. – P. 516-517.

Баринів Е.Ф., Бондаренко Н.Н., Волошин В.В.

РЕМОДЕЛЮВАННЯ НЕФРОНІВ ПРИ ОБСТРУКЦІЇ СЕЧОВОДУ: РОЛЬ АНГІОТЕНЗИНУ ІІ

Донецький державний медичний університет ім. М.Горького

РЕМОДЕЛЮВАННЯ НЕФРОНІВ ПРИ ОБСТРУКЦІЇ СЕЧОВОДУ: РОЛЬ АНГІОТЕНЗИНУ ІІ – з метою визначення впливу РАС на відновлення структурного гомеостазу нефронів виконано морфометричне дослідження нирок 30 щурів із зниженою чутливістю АТ-рецепторів протягом місяця після усунення обструкції лівого сечовода. Чутливість АТ-рецепторів І-типу визначали в тестах *in vitro* за змінами АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів після їхньої інкубації з ангіотензином ІІ. Встановили, що домінування в ранні терміни альтерації ПК і ДК над такою ТВЧПГ через 1 міс. змінювалося протилежним чином і було зумовлено переважанням ТВЧПГ юкстамедулярних нефронів. Зменшення проявів некрозу і дистрофії канальців нефронів при використанні лозартану дозволяє рекомендувати даний селективний блокатор АТ₁-рецепторів для профілактики ренальних дисфункцій після обструкції сечовода.

РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ НЕФРОНОВ ПРИ ОБСТРУКЦИИ МОЧЕТОЧНИКА: РОЛЬ АНГИОТЕНЗИНА ІІ – с целью изучения влияния РАС на восстановление структурного гомеостаза нефронов проведено морфометрическое исследование почек 30 крыс со сниженной чувствительностью АТ-рецепторов в течение месяца после устранения обструкции левого мочеточника. Чувствительность АТ-рецепторов І-типа определяли в тестах *in vitro* по изменению АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов после их инкубации с ангиотензином ІІ. Установили, что доминирование в ранние сроки альтерации ПК и ДК над таковой ТВЧПГ через 1 мес. сменялось инверсией изменений и было обусловлено загрузкой ТВЧПГ юкстамедулярных нефронов. Уменьшение проявлений некроза и дистрофии канальцев нефронов при использовании лозартана позволяет рекомендовать данный селективный блокатор АТ₁-рецепторов для профилактики ренальных дисфункций после обструкции мочеточника.

NEPHRONS REMODELING UNDER URETER OBSTRUCTION: ROLE OF ANGIOTENSIN ІІ – Morphometric investigation of kidney was performed in 30 rats with decreased sensitivity of АТ-receptors in 1 month after left ureter obstruction elimination to study the influence of RAS on restoration nephron structural homeostasis. The sensitivity of АТ1-receptors was estimated *in vitro* by ADP-induced platelets aggregation after their incubation with angiotensin ІІ. It was shown that alteration predominated in proximal and distal tubules and was less in thick ascending limb of Henle loop in early terms but after 1 month the inversion of alteration took place. It was due to increased loading of the last segment in juxtamedullar nephrons. The decrease of necrosis and dystrophy in renal tubules was determined after losartan administration. It allows to recommend this Angiotensin ІІ type І antagonist administration to prevent renal dysfunction in patients with ureter obstruction.

Ключові слова: обструкція сечовода, чутливість АТ-рецепторів, морфологія нефронів

Ключевые слова: обструкция мочеточника, чувствительность АТ-рецепторов, морфология нефронов.

Key words: ureter obstruction, sensitivity of АТ receptors, morphology of nephrons.

ВСТУП Ренін-ангіотензинова система (РАС) залучена до патогенезу постобструктивної нефропатії [5], оскільки ангіотензин ІІ (Ан ІІ) регулює клітинну проліферацію, апоптоз і фіброз в нирці, як показали [8]. Ефекти Ан ІІ опосередковані через АТ₁

і АТ₂-рецептори, які індукують NF-κb, що, в свою чергу, регулює активність прозапальних генів у клітинах-цільях нирки [4]. Іntenсивно вивчається поліморфізм генів ангіотензинконвертуючого ферменту (АКФ) і рецепторів Ан ІІ [2]. Відкриття поліморфізму АТ-рецепторів, а за сутністю, проявів індивідуальної реактивності організму, порушило питання про значення цього явища у варіабельності дії відповідних блокаторів [1]. Не менш значущим є вивчення особливостей реакції органів на етіо- і патогенетичні фактори у індивідуумів з різною хемосенситивністю АТ-рецепторів (так звані нормо-, гіпо- і гіперреактивні пацієнти). У вивченні патогенезу постобструктивної нефропатії такий підхід є перспективним з огляду на залежність запально-репаративних процесів в нирці від РАС.

Метою дослідження стало вивчення структури нефронів у тварин із зміненою чутливістю ангіотензинових рецепторів І-типу у віддалений термін після односторонньої обструкції сечовода (ООС).

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Дослідження виконано на дорослих білих щурах-самцях лінії Вістар масою 220±25 г, що знаходилися в обмінній клітці і мали вільний доступ до води і їжі. Для вивчення чутливості АТ-рецепторів І-типу використовували тест *in vitro* з індукованою агрегацією тромбоцитів шляхом їхньої інкубації з ангіотензином ІІ (АТ_{ІІ}). На підставі дослідження ІС₅₀ ангіотензину ІІ (інгібуюча концентрація АТ_{ІІ}, що підвищує агрегацію тромбоцитів *in vitro* на 50 %) в експеримент були відібрані тварини з нормальною чутливістю рецепторів (нормореактивні, n=20; ІС₅₀ складала 0,95±0,05 мкМ) і зниженою чутливістю (гіпореактивні, n=30, ІС₅₀ знаходилася в межах 1,30±0,10 мкМ). Анестезію виконували шляхом внутрішньоочеревинного введення 1 % розчину гексеналу. Після середньої лапаротомії розсікали стінку сечового міхура і через устя лівого сечовода в його просвіт вводили ангіокатетер. Катетер проводили під шкірою, вільний кінець виводили на ший і приєднували до пластикової пробірки для збору сечі. Черевну стінку пошарово зашивали. Через 2 доби після операції катетер закривали, що відтворювало гостре порушення пасажу сечі, а через 48 годин відновлювали відтік сечі з лівої нирки.

Морфометричний аналіз нирок проводили в 4-х зонах нирки за [7] через 7-14 днів і 1 місяць після ООС. Парафінові зрізи товщиною 5±1 мкм забарвлювали гематоксилином і еозином, за методом ван Гізон, а також ставили РАС-реакцію. Клінічну ситуацію після усунення оклюзії сечовода і призначення блокаторів АТ-рецепторів у пацієнтів відтворювали в експерименті для аналізу закономірностей ремоделювання нефронів. Гіпореактивних тварин розділили на дві підгрупи: у дослідній (n=20) щурам

вводили Лозартан (селективний блокатор ангіотензинових рецепторів І-типу, що додавали в питну воду з розрахунку 10 мг/кг маси в день протягом двох тижнів), у підгрупі порівняння (n=10) тварини одержували воду. Отримані результати обробляли статистично з використанням пакета комп'ютерних прикладних програм.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ У нормореактивних тварин через 7 діб після ООС при дослідженні суперфіційних і кортикальних нефронів виявили, що питомий обсяг канальців нефронів з нормальною будовою був вищим в 1-й зоні порівняно з 3-ю (відповідно 88,5±1,3% і 84,0±1,1%; p<0,05). В юкстамедулярних нефронах питомий обсяг таких канальців у 2-й і 4-й зонах був схожим (відповідно 89,7±1,4 % і 90,7±1,5 %). Важливим уявляється однаковий ступінь альтерації канальців у 1-й і 2-й зонах кіркової речовини (відповідно 5,66±0,25 % і 5,17±0,21 %). Через 1 місяць порівняно з попереднім терміном спостереження питомий обсяг канальців з ознаками альтерації істотно знижувався і склав у 1-й зоні – 0,52±0,04 %, у 2-й – 0,44±0,03 %, у 3-й і 4-й зонах – 0,47±0,04 %.

У гіпореактивних щурів підгрупи порівняння через 1 місяць після усунення ООС виявили розростання мезангіума в ниркових тільцях переважно суперфіційних і кортикальних нефронів. Більш виражені гідропічні порушення і некротичні процеси виявлені в епітеліоцитах проксимальних канальців (ПК). Морфометричне дослідження свідчить про прогресію альтерації нефронів. Порівняно з терміном спостереження 7 днів питомий обсяг канальців з нормальною структурою в 1-й зоні зменшився на 7,2 % (p<0,05), тоді як у 2-й зоні не змінився. Причому якщо зіставити питомий обсяг канальців з нормальною структурою в обох зонах кіркової речовини, то не викликає сумнівів велика поширеність альтерації ПК і дистальних канальців (ДК) в суперфіційних та кортикальних нефронах порівняно з юкстамедулярними (ЮМН) (на 6,5 %; p<0,05) (мал). На цьому фоні більш високі значення питомого обсягу канальців з ознаками альтерації в 3-й зоні порівняно з 4-ю (відповідно 22,7±0,3 %, і 18,6±0,21 %; p<0,01) віддзеркалюють наслідки підвищеного завантаження товстої висхідної частини петлі Генле (ТВЧПГ) при зниженні функції ПК суперфіційних і кортикальних нефронів, що грають провідну роль у підтримці водно-електролітного гомеостазу.

В експериментальній групі через 1 місяць після ООС на фоні введення лозартану морфометричний аналіз кіркової і мозкової речовини нирок продемонстрував тенденцію до відновлення структури нефронів. Порівняно з терміном спостереження 14 днів приріст абсолютних значень питомого обсягу канальців з нормальною будовою в суперфіційних і кортикальних нефронах був статистично значущо вище, ніж у ЮМН. Так у 1-й і 3-й зонах цей відносний показник склав відповідно 8,6±0,21 % і 4,81±0,13 %, тоді як у 2-й і 4-й зонах – 6,4±0,16 % і 2,1±0,1 % (p<0,05). Таким чином, у ПК і ДК кіркової речовини інтенсивність репаративних процесів була більш високою, ніж у ТВЧПГ мозкової речовини, тобто складалася ситуація протилежна тій, яку спостерігали через 14 днів після ООС. Даний факт є очікуваним, з огляду на оптимізацію перитубулярного кровообігу при досягненні ефекту блокатора АТ-рецепторів І-типу і відновлення співвідношення регіонарних кровообігів в органі [3]. В канальцях усіх груп нефронів гідропічні зміни переважали над некротичними, що відбиває відновлення метаболізму в клітинах нефронів і завершення альтерації.

Порівняно з попереднім терміном спостереження питомий обсяг канальців з ознаками альтерації (некротичні+гідропічні зміни) помітно зменшився. Для суперфіційних і кортикальних нефронів цей регрес склав у 1-й зоні 3,13±0,09 % і 3-й зоні 3,54±0,10 % (p<0,05), а для ЮМН у 2-й і 4-й зонах відповідно – 1,98±0,09 % і 2,25±0,11 % (p<0,05).

Питомий обсяг канальців з нормальною будовою в 1-й і 3-й зонах, а також 2-й і 4-й зонах нирки був приблизно однаковим, тоді як у попередній термін спостереження аль-

терація ПК і ДК переважала над такою у ТВЧПГ. Звертає на себе увагу відставання репаративних процесів у ТВЧПГ юкстамедулярних нефронів порівняно з такою суперфіційних і кортикальних нефронів (питомий обсяг канальців з нормальною будовою в 4-й зоні на 3,7 % менше, ніж у 3-й зоні; p<0,05). Дана ситуація на перший погляд є парадоксальною з огляду на те, що питомий обсяг канальців з ознаками репарації у ТВЧПГ ЮМН нефронів вище, ніж в суперфіційних і кортикальних нефронах (на 1,82 %; p<0,01). Проте, може бути кілька пояснень цього феномену. По-перше, завершення репаративних процесів в суперфіційних і кортикальних нефронах і, як наслідок, зниження інтенсивності проліферації. Для порівняння в 1-й зоні питомий обсяг канальців з ознаками репарації порівняно з попереднім терміном спостереження знизився приблизно в 14 разів. По-друге, низька компенсаторна потужність клітин ПК ЮМН при їхньому ушкодженні призводить до збільшення завантаження ТВЧПГ, що обмежує швидкість репарації.

Цікавими є результати морфометричного аналізу нирок в експериментальній підгрупі з введенням лозартану і підгрупі порівняння (без введення лозартану) через 1 місяць після ООС. В експериментальній підгрупі питомий обсяг канальців з нормальною будовою в досліджених зонах перевищував 95 %; приріст абсолютних значень даного показника у порівнянні з підгрупою порівняння склав у 1-й і 3-й зонах 23,0 %; а в 2-й і 4-й зонах – 15,4±1,4 % і 16,4±1,5 % (p<0,001). Факт більш інтенсивного відновлення суперфіційних і кортикальних нефронів порівняно з ЮМН при введенні лозартану підкреслює відміни ефектів АТ₁ в патогенезі зниження функціональної повноцінності різних груп нефронів [6]. У досліджених зонах питомий обсяг канальців з ознаками альтерації значно знижувався в порівнянні з таким у підгрупі порівняння. На фоні фармакологічної корекції відбувалася активація репаративних процесів у канальцях нефронів, причому пік максимальної активності реєстрували через 14 діб. Питомий обсяг канальців з ознаками репарації склав у 1-й і 3-й зонах відповідно 5,88±0,31 % і 1,84±0,11 %; а в 2-й і 4-й зонах – 4,77±0,26 % і 3,35±0,20 %.

Таким чином, різна функціональна активність РАС і відповідна зміна чутливості АТ-рецепторів супроводжується індивідуалізацією траєкторії ремоделювання нефронів після ООС, що повинно враховуватися при розробці оптимальних схем консервативної терапії. Відновлення структури нефронів (зменшення проявів некрозу і дистрофії) при використанні лозартану дозволяє розглядати даний селективний блокатор АТ₁-рецепторів як препарат вибору для профілактики ренальних дисфункцій після ООС. Перспективи подальших досліджень: аналіз чутливості АТ-рецепторів дозволить прогнозувати ступінь ваги ушкодження нирки після оклюзії сечовода й оптимізувати тактику лікування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Леонова М.В. Клиническая фармакология антагонистов рецепторов ангиотензина II // Фарматека. – 2003. – №12. – С.42-46.
2. Чистяков Д.А., Кабалова Ж.Д., Терещенко С.Н. и др. Полиморфизм гена сосудистого рецептора ангиотензина и сердечно-сосудистые заболевания // Тер. архив. – 2000. – №4. – С.27-30.
3. de Vries P.A., de Zeeuw D., de Jong P.E., Navis G. The abnormal renal vasodilator response to D1-like receptor stimulation in conscious SHR can be normalized by AT1 blockade // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2004. – Vol. 44, № 5. – P. 571-576.
4. Esteban V., Lorenzo O., Ruperez M. et al. Angiotensin II, via AT1 and AT2 receptors and NF-kappaB pathway, regulates the inflammatory response in unilateral ureteral obstruction // J. Am. Soc. Nephrol. – 2004. – Vol. 15, № 6. – P. 1514-1529.
5. Klahr S., Morrissey J. Obstructive nephropathy and renal fibrosis // Am. J. Physiol. Renal Physiol. – 2002. – Vol. 283, №5. – P. 861-875.
6. Lautrette A., Li S., Allili R. et al. Angiotensin II and EGF receptor cross-talk in chronic kidney diseases: a new therapeutic approach // Nat. Med. – 2005. – Vol. 11, № 8. – P. 867-874.
7. Pfaller W. Structure function correlation on rat kidney // Adv. Anat. Embryol. Cell Biol. – 1982. – Vol. 70. – P. 176-194.
8. Ruiz-Ortega M., Esteban V., Ruperez M. et al. Renal and vascular hypertension-induced inflammation: role of angiotensin II // Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. – 2006. – Vol. 15, № 2. – P. 159-166.

ХРОНОБІОЛОГІЯ ТКАНИННОГО ФІБРИНОЛІЗУ НИРКИ ТВАРИН ПРИ ДІЇ СТРЕСУ ТА КСЕНОБІОТИКІВ

Буковинський державний медичний університет

ХРОНОБІОЛОГІЯ ТКАНИННОГО ФІБРИНОЛІЗУ НИРКИ ТВАРИН ПРИ ДІЇ СТРЕСУ ТА КСЕНОБІОТИКІВ – У статті наведено результати експериментальних досліджень щодо з'ясування поєднаного впливу стресу та хлористих сполук важких металів – свинцю та алюмінію – на тканинний фібриноліз нирки білих щурів. Виявлено залежність інтенсивності процесів тканинного фібринолізу нирки тварин при дії стресу та солей важких металів від фаз добового періоду.

ХРОНОБІОЛОГІЯ ТКАНЕВОГО ФІБРИНОЛІЗА ПОЧЕК ЖИВОТНИХ ПОД ДІЄЮ СТРЕССА І КСЕНОБІОТИКІВ – В статті наведено результати експериментальних досліджень по изучению одномоментного влияния стресса и хлористых соединений тяжелых металлов – свинца и алюминия – на тканевой фибринолиз почек белых крыс. Найдена зависимость интенсивности процессов тканевого фибринолиза почек животных под действием стресса и солей тяжелых металлов от фаз суточного периода.

CHRONOBIOLOGY OF TISSUE FIBRINOLYSIS IN ANIMAL KIDNEYS UNDER THE INFLUENCE OF STRESS AND XENOBIOTICS – The article deals with results of experimental researches on study of single influence of stress and chloride compounds of heavy metals – lead and aluminium on a tissue fibrinolysis of white rats kidneys. The dependence intensity of tissue fibrinolysis processes in animals kidneys under action of stress and heavy metals salts from daily period phases was found.

Ключові слова: хронобіологія, тканинний фібриноліз, інтоксикація, стрес, солі важких металів.

Ключевые слова: хронобиология, тканевой фибринолиз, интоксикация, стресс, соли тяжелых металлов.

Key words: chronobiology, tissue fibrinolysis, intoxication, stress, salts of heavy metals.

ВСТУП Діагностика ранніх проявів нефропатій, викликаних стресом та солями важких металів не завжди дозволяє своєчасно оцінити ступінь тяжкості і динаміку структурно-функціональних змін біосистем [1, 5]. Для виявлення реорганізації функцій нирок при екзогенних інтоксикаціях необхідним є застосування хрономіологічних методів з метою ранньої діагностики, профілактики та лікування ниркової патології [2, 3].

При розвитку патологічних станів організму відбуваються зміни біологічної ритмічності в його діяльності. Вивчення цих явищ є основою хронопатології, предметом якої є аналіз шляхів і механізмів виникнення відхилень у біологічних ритмах від їх нормального перебігу і роль цих порушень у патогенезі захворювань [3, 5].

Встановлено, що при екзогенних інтоксикаціях у процесах адаптивної саморегуляції організму безумовну участь бере шишкоподібна залоза. Проте маловивченими є закономірності хронобіологічної регуляції функцій нирок відповідно до змін добового циклу [7]. З'ясування цього питання має важливе не тільки теоретичне, а й практичне значення, оскільки дозволить удосконалити методи діагностики [8], профілактики і лікування ниркової патології з урахуванням залежності особливостей її виникнення та перебігу від фаз доби.

Мета дослідження: з'ясувати циркадіанні особливості тканинного фібринолізу нирки білих щурів у нормі та при впливі на організм стресу та хлоридів алюмінію і свинцю.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Експерименти проводили на статевозрілих самцях білих щурів у трьох серіях. У першій серії вивчали добову ритмічну організацію тканинного фібринолізу нирки тварин з відсутністю негативного екзогенного впливу (контрольна група).

У другій серії з'ясовували патогенний вплив солей важких металів [5] на хронобіологічну впорядкованість фібринолітичного стану тканин нирки білих щурів, які отримували щоденно впродовж 14 днів внутрішньовенно мінімальні дози (DL_{min}) хлористих сполук алюмінію ($AlCl_3$) – 200 мг/кг [8] та свинцю ($PbCl_2$) – 50 мг/кг [9].

У третій серії досліджували особливості фібринолітичних змін в тканинах нирки за умов впливу стресу та поєднаної дії солей важких металів.

Експериментальні дослідження та евтаназію тварин здійснювали згідно з міжнародними принципами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985). Досліди проводили через 14 днів після щоденного введення хлоридів алюмінію і свинцю за умов водного індукованого діурезу о: 08.00, 14.00, 20.00 та 02.00 год.

Стан ферментативного та неферментативного фібринолізу оцінювали за лізісом азофібрину ("Simko Ltd.", Львів). Інтенсивність тканинного фібринолізу нирки вимірювали за ступенем забарвлення розчину в лужному середовищі, внаслідок лізису азофібрину в присутності е-амінокапронової кислоти як інгібітору ферментативного фібринолізу визначається неферментативний фібриноліз (НФ), або без неї – сумарна фібринолітична активність (СФА). Різниця між цими показниками відбиває стан ферментативного фібринолізу: СФА-НФА=ФФ (ферментативний фібриноліз), а за її відсутності – сумарний фібриноліз [4]. Результати обробляли статистично методом "Косинор-аналізу", а також параметричними методами варіаційної статистики.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ За результатами хронобіологічних експериментів нами встановлено, що фібринолітична активність (ФА) тканин нирки за фізіологічною діяльністю нирок підпорядкована чіткій організації відповідно до змін фаз доби. Аналіз механізмів ферментативних та біохімічних перебудов дає підстави стверджувати про узгоджену хронобіологічну впорядкованість ренальних функцій.

Встановлено зв'язок денних коливань ФА з активністю кори надниркових залоз. Рівень ФА тканин нирки зв'язаний зі змінами освітленості протягом доби [7, 10].

Так, в першій серії встановлена синхронність добових варіацій показників фібринолізу в кірковому шарі нирок (рис. 1) білих щурів при поєднаному впливі стресу та солей важких металів. Змінювалися показники фібринолізу о 14.00 та о 20.00 год, збільшувалися на 02.00 годину доби. Зменшився мезор ритму та амплітуда ритму фібринолізу в кірковому шарі на 12 %. Згадані ефекти зумовлюються цілим рядом адаптаційно-компенсаторних і декомпенсаторних механізмів функцій нирок, що прямо зв'язані з шишкоподібною залозою.

Такі ж самі зміни спостерігалися і в мозковому шарі нирки (рис. 2) при алюмініє-свинцевій інтоксикації на організм, були зареєстровані хронобіологічні порушення лізису тканинного фібрину, які віддзеркалювалися вірогідним зміщенням показників фібринолізу мозкової речовини на 20.00 год доби. Зменшився мезор ритму фібринолізу та амплітуда ритму в мозковому шарі на 29 %. Це, напевно пояснюється тим, що адаптаційно-компенсаторні властивості зменшуються протягом освітленої частини доби і відновлюються з настанням темряви о 02.00 години ночі.

При впливі стресу та поєднаної дії солей $Al+Pb$ у дослідних тварин ці показники фібринолітичної активності в сосочковому шарі (рис. 3) нирки більше зміщувалися о 08.00 год ранні та о 20.00 год доби. Зменшився мезор і амплітуда ритму зменшилася на 30 %. Екзогенна інтоксикація організму солями важких металів та вплив стресу викликає біохімічні зміни в нирковій тканині, а саме зниження фібринолітичної активності, яке призводить до порушення хронобіологічної організації функцій нирок, що, в свою

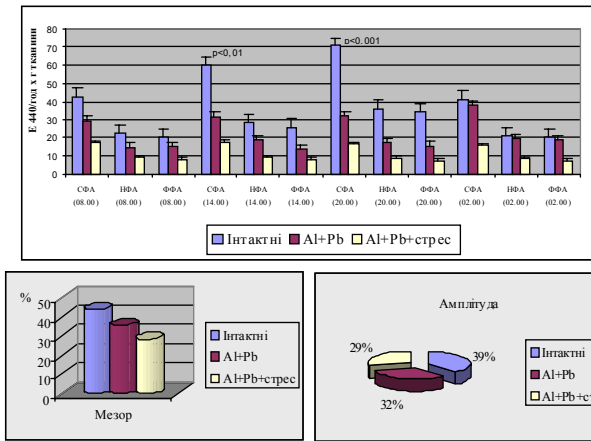


Рис. 1. Кірковий шар нирки (p- вірогідність різниць порівняно з контролем)

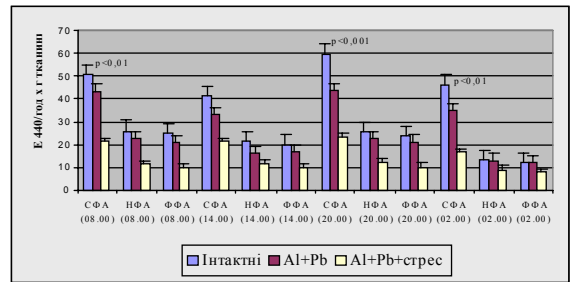


Рис. 2. Мозковий шар нирки

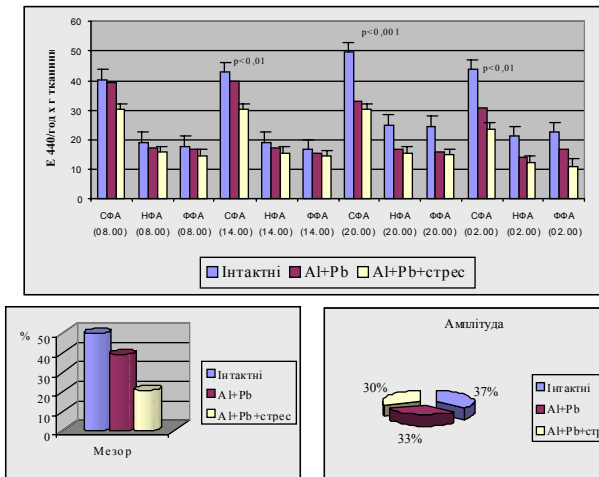


Рис. 3. Сосочковий шар нирки

чергу, веде до відкладання фібрину у ниркових структурах з фібриноїдним переродженням тканини [3, 6].

Гальмування фібринолітичної системи при формуванні тубуло-інтерстиційного синдрому є найбільш важливим на рівні ниркового сосочка і мозкової речовини нирок, що може призводити до розвитку тромбозу, уротромбозу з наступною заміною фібрину на колаген [6].

ВИСНОВОК Наведені результати досліджень виявили тісний зв'язок між добовими змінами параметрів тканинного фібринолізу нирки, що характеризують функціонально-біохімічний стан нирок, для яких важливим є довжина фотоперіоду, а також вплив стресу та солей важких металів.

Література

1. Андреевко Г.В. Фибринолиз. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1979. – 352 с.
2. Анохіна С.І., Горбань Є.М. Вплив мелатоніну на гемостаз, плазмовий фібриноліз і фібринолітичну активність тканин внутрішніх органів білих щурів // Бук. мед. вісник. – 2002. – Т.6, №3-4. – С. 117-120.
3. Висоцька В.Г. Динаміка циркадних перебудов фібринолітичної активності сечі та плазми крові білих щурів при поєднаній дії стресу та солей важких металів // Актуальні питання клінічної та експериментальної медицини. Матеріали 86-підсумкової науково-практичної конференції науковців БДМУ. – Чернівці: Медуніверситет, 2005. – С. 98-103.
4. Міхеев А.О., Власик Л.І., Магалаєс В.М. Особливості перебігу протеолізу, фібринолізу і перекисного окиснення ліпідів у кірковій речовині нирок щурів різного віку // Одеський мед. журн. – 2000. – №6 (62). – С. 11-13.
5. Османов І.М. Роль тяжелих металів в формуванні захворювань органів мочової системи // Російськ. вестн. перинатол. і педіатрії. – 1996. – №1. – С.36-40.
6. Пішак В.П., Гоженко А.І., Роговий Ю.Є. Тубуло-інтерстиційний синдром. – Чернівці: Медакадемія, 2002. – 221 с.
7. Пішак В.П. Шишкоподібне тіло: місце і роль у хроноритмологічній організації фізіологічних функцій // Бук. мед. вісник. – 2002. – Т.6, №3-4. – С. 4-6.
8. Руденко С.С. Алюміній у природних біотопах. – Чернівці: Вид-во ЧНУ "Рута", 2001. – 300 с.
9. Чала К.М. Вплив хлористих сполук талію, кадмію і свинцю на кислотно-лужний гомеостаз організму: Автореф. дис... канд. біол. наук: 03.00.04 // Чернівецький державний університет. – Чернівці, 1997. – 16 с.
10. Astedt B. On fibrinolysis // Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica. – 1972. – P. 51.

Герасименко В.В, Коноплицький В.С.

КОРЕКЦІЯ ПОРУШЕНЬ ПОСТАВИ І СКОЛІОЗІВ ПЕРШОГО ТА ДРУГОГО СТУПЕНІВ У ДІТЕЙ ТА ПІДЛІТКІВ

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова,

КОРЕКЦІЯ ПОРУШЕНЬ ПОСТАВИ ТА СКОЛІОЗІВ ПЕРШОГО ТА ДРУГОГО СТУПЕНІВ У ДІТЕЙ ТА ПІДЛІТКІВ – Нами проведено дослідження ефективності методики інформаційного зворотного зв'язку на основі аналізу даних отриманих під час лікування юнаків з патологією постави. Зворотний зв'язок був представлений звуковим сигналом у відповідь на сутулість та асиметрію надпліч. Отримано, що використання коректора достовірно покращує результати лікування дітей з патологією постави та сколіозами 1, 2 ступенів, про що свідчать дані соматометрії та станової динамометрії. Найбільш показовими були зміни таких показників, як зміщення нижнього кута лопатки ($t=2,68$; $p<0,01$), акроміальних відростків ($t=2,73$ $p<0,01$) та бічних ямок ромба Міхаеліса ($t=4,33$; $p<0,01$).

КОРЕКЦІЯ НАРУШЕНЬ ОСАНКИ І СКОЛІОЗІВ ПЕРШОГО І ВТОРОГО СТУПЕНІВ У ДІТЕЙ І ПОДРОСТКІВ – Нами було проведено дослідження ефективності методики інформаційної зворотної зв'язки на основі даних, отриманих в час лікування дітей та юнаків. Обратная связь была представлена звуковым сигналом в ответ на сутулость и асимметрию надплечий. Получены сведения о достоверном улучшении результатов лечения детей и подростков с нарушениями осанки и сколиозами 1-2 степеней, на основе данных соматометрии и становой динамометрии. Наиболее показательными были изменения нижнего угла лопатки ($t=2,68$; $p<0,01$), акроміальних відростків ($t=2,73$ $p<0,01$) і бокових ямок ромба Міхаеліса ($t=4,33$; $p<0,01$).

CORRECTION OF POSTURE DISORDERS AND SCOLIOSIS OF THE FIRST AND SECOND DEGREES AT CHILDREN AND ADOLESCENTS – The effects of informational inverse relation on the basis of data received during treatment of the childrens and adolescents with posture pathology was studied. The inverse relation was manifested by mild sound signal as the response on sloop and shoulder asymmetry. The items of information about authentic improvement of results of treatment of children and teenagers with posture infringements and scoliosis of the 1,2 degrees are received on the basis of the somatometrics and dynamometrics data. The most indicative were changes of the bottom corner of scapula ($t = 2,68$; $p<0,01$), procesus acromialis of scapula ($t = 2,73$ $p<0,01$) and lateral excavatus of a Michaelis rhombus ($t = 4,33$; $p < 0,01$).

Ключові слова: порушення постави, зворотній зв'язок, підлітки, сколіоз

Ключевые слова: нарушения осанки, обратная связь, подростки, сколиоз

Key words: posture disorders, inverse relation, adolescents, scoliosis.

ВСТУП Патологія хребта серед дітей та підлітків є загальномедичною проблемою, шляхи розв'язання якої реалізуються в тісній співпраці медиків та науковців. Відповідно до звітів країн СНД з 1993 по 2000 роки патологія хребта в дитячому віці зустрічається у 95, 3 %. В структурі захворювань переважають порушення постави, які сягають 50 %, сколіози діагностують у 11 % обстежених дітей.

Актуальною є розробка консервативних методик для підвищення ефективності лікування дітей з вертеброгенною патологією, оскільки існуючі методи консервативного лікування не забезпечують позитивних результатів, проявом чого є прогресування сколіотичної деформації у 16-22 % випадках.

Мета дослідження полягає в дослідженні динаміки патологічних викривлень хребта у пацієнтів з порушеннями постави та сколіозами під впливом фізичних вправ з одночасним застосуванням методики самоконтролю за поставою.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ завдання дослідження передбачає розробити прості діагностичні засоби для визначення ступеня порушень постави, дослідити ефективність оригінальних методів консервативного лікування порушень постави та сколіозів, розробити методи об'єктивного контролю за результатами лікування.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Нами проведено аналіз спостережень 44 хворих на сколіоз 1-2 ступенів та порушеннями постави. Вік хворих коливався від 6 до 17 років. Середній вік дітей складав 11,2 роки. Дівчаток було 18, хлопчиків – 26.

В контрольну групу дослідження включили 21 хворого, котра займалась індивідуально підібраними комплексами лікувальної фізкультури та механотерапії. В основну групу увійшли 23 хворих, яким на фоні виконання перерахованих методів реабілітації було запропоновано корекцію динамічного стереотипу за допомогою універсального коректора постави (патент А61F5/00, 2001). Термін лікування в обох групах складав в середньому три місяці.

З метою підвищення об'єктивізації дослідження нами був розроблений програмний комплекс діагностики порушень постави методом комп'ютерної фотометрії (Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір № 10007 від 17.05.2004). Нами під час обстеження визначались висоти трикутників талії справа та зліва, кути горизонтального відхилення ліній між акроміонами, нижніми кутами лопаток та задньовіршними остями клубових кісток. В сагітальній площині визначались передньозадній розмір тулуба та висота шийного і поперекового лордозів. Методика антропометричного обстеження значно спрощена та об'єктивізована.

Для підвищення ефективності лікування дітей з патологією постави, нами був розроблений метод корекції динамічного стереотипу, в основу якого покладено використання "Універсального пристрою для запобігання та лікування захворювань неправильної постави" (патент А61F5/00, 2001).

Під час сидіння за робочим місцем дитині одягався коректор постави, який фіксував оптимальне взаєморозташування частин тулуба. В разі викривлення хребта оптимальне положення тіла порушувалось, що призводило до розтягування еластичних елементів в сагітальній та фронтальній площинах, при цьому генерувався звуковий сигнал в головному модулі коректора.

Ефективність впровадженої методики оцінювалась за показниками динаміки соматометричного профілю пацієнтів шляхом вираховування різниці між показниками до та після лікування. Функціональний стан м'язів спини оцінювався проведенням станової динамометрії.

ВИСНОВКИ 1. Аналізуючи дані соматометричного обстеження отримано, що найбільш показовими були зміни таких показників, як зміщення нижнього кута лопатки ($t=2,68$; $p<0,01$), акроміальних відростків ($t=2,73$ $p<0,01$) та бічних ямок ромба Міхаеліса ($t=4,33$; $p<0,01$). 2. Зростання показників станової динамометрії ($л1=3,74$; $p<0,01$) порівняно з контрольною групою вказує на більш швидке формування м'язового корсету у дітей з патологією постави, які використовували коректор постави.

ЛІТЕРАТУРА

1. Алексеева Т. И. Антропология – медицине. – М.: Издательство Московского университета 1989. – 120 с.
2. Арьямов И. А. Как вырастить здорового ребенка. – М.: Просвещение 1993. – С. 180-199.
3. Алексеенко И. Г., Скоблин А. А., Моржов В.Ф. Комплексная реабилитация при идиопатическом сколиозе // Медико-социальная экспертиза и реабилитация. –2003. – №2. – С. 22-24.
4. Балаба Т. Я. Об этиологии сколиоза. – Ортопед. травматол., – 1972 – № 12. – С. 68-70.
5. Бернштейн Н.А. Очерки по физиологии движений и активности. – М.: Медицина, 1966. – 349 с.
6. Брехман И.И. Валеология – наука о здоровье. – М.: ФИС. – 1990.
7. Волков М.В. Ортопедия и травматология детского возраста. – М.: Медицина, 1983. – 464 с.
8. Гамбурцев В.А. Гониометрия человеческого тела. – М.: Медицина, 1973. – 120 с.
9. Казьмин А. И., Кон И. И., Бельский В. Е. Сколиоз. – М.: Медицина, 1981. – 272 с.

10. Кальб Т.Л., Михайлова Л.К., Смирнова Т.Н. Проблемы нарушения осанки и сколиозов у детей. Причины возникновения, возможности диагностики и коррекции // Вестник новых медицинских технологий. – 2001. – Т. 8, №4. – С. 62-64.
11. Кашуба В.А. Биомеханика осанки. – К.: Олимпийская литература 2003. – 340 с.
12. Кон И.И. Основные принципы прогнозирования течения сколиоза. В кн.: Сколиоз. – М., 1974. – 180 с.
13. Корж А.А., Шевченко С.Д., Спилютина Т.В. Место корсетотерапии в консервативном лечении сколиотической болезни // Ортопедия травматология и протезирование. – 2003, №1. – С. 162-163.
14. Корж Н.А., Сердюк С. А., Дедух Н.В. Дисплазия соединительной ткани и патология опорно-двигательной системы // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2002, №4. – С. 151-154.
15. Кризь-Пугач А.П., Буринов М. Д. Обстеження та діагностика опорно-рухових розладів у дітей. – Київ –Хмельницький, 2002. – 215 с.
16. Лоншаков В.А., Егоров Г.Е. // Вертебрология – проблемы, поиски, решения. – М., 1998. – С. 31.
17. Миронов С.П., Цикунов М.Б. Биологическая обратная связь как перспективное направление реабилитации в травматологии и ортопедии при нарушениях двигательной функции // Вестник травматологии и ортопедии им. Н. Н. Приорова. – 1999, № 4. – С. 3-8.
18. Михайлова Л.К., Смирнова Т. Н. Детензор-метод в комплексном

- лечении функциональных нарушений и заболеваний позвоночника у детей // Российский медицинский журнал. – 1998, №2. – С. 32-34.
19. Мовшович И.А., Риц И.А. Рентгенодиагностика и принципы лечения сколиоза. – М., 1969. – 310 с.
20. Сарнадский В.Н. и др. Способ компьютерной оптической топографии тела человека и устройство для его осуществления. – Новосибирск, 1998.
21. Скрыгин В.П. Лечение и классификация сколиозов. Труды Центрального научно-исслед. ин-та протезирования и протезостроения. – М., 1949. – С. 47.
22. Тесаков Д.К. Воронович И.Р. Стандартизация методов лечения детей и подростков с диспластическим (идиопатическим) сколиозом. // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2001, №4. – С. 21-23.
23. Ткаченко Ю.П., Подлианова Е.І. Возрастная динамика клинических проявлений синдрома недифференцированной дисплазии соединительной ткани // Врачебная практика. – 2003, № 2. – С. 95-101.
24. Фищенко В.Я. Об унифицированных стандартах медицинских технологий лечебно-диагностического процесса стационарной помощи при патологии позвоночника. – // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2001, № 1. – с.90-96.
25. Цивьян Я.Л., Аксенович И.В. Механогенез экспериментального сколиоза. – Новосибирск: Издательство «Наука». Сибирское отделение. – 1987. – С. 60-66.

Грушка Н.Г., Корнійчук Г.М., Макогон Н.В., Алексеева І.М.

ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО ТРОМБОКСАНУ V_2 НА ЗАГИБЕЛЬ КУЛЬТИВОВАНИХ ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА РІЗНИМИ ШЛЯХАМИ ТА УЧАСТЬ МІТОХОНДРІЙ В ЦИХ ПРОЦЕСАХ

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, м. Київ

ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО ТРОМБОКСАНУ V_2 НА ЗАГИБЕЛЬ КУЛЬТИВОВАНИХ ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА РІЗНИМИ ШЛЯХАМИ ТА УЧАСТЬ МІТОХОНДРІЙ В ЦИХ ПРОЦЕСАХ – Відомо, що тромбоксан (Тх) має ушкоджуючий вплив на печінку, але його безпосередня дія на клітинну загибель (апоптоз, некроз, аутофагічну загибель) практично не досліджена. Шляхи клітинної смерті культивованих гепатоцитів щурів вивчали за допомогою флуоресцентної та електронної мікроскопії, визначення фрагментації ДНК та активності каспази 3 колориметричним методом. Встановлено, що екзогенний TxB_2 (0,1 мкмоль/л) збільшує кількість гепатоцитів з ранніми стадіями апоптозу - конденсацією хроматину та ущільненням цитоплазми та ядер, активує каспазу 3, підвищує кількість фрагментованої ДНК і не впливає на некротичний і аутофагічний шляхи загибелі. Обробка культивованих в присутності TxB_2 гепатоцитів блокатормітохондріальних пор циклоспорином А, суттєво зменшувала кількість апоптотичних клітин, що свідчить про участь мітохондрій в модуляції апоптозу при дії Тх.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ТРОМБОКСАНА V_2 НА РАЗНЫЕ ПУТИ ГИБЕЛИ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС И УЧАСТИЕ МИТОХОНДРИЙ В ЭТИХ ПРОЦЕССАХ – Известно, что тромбоксан (Тх) оказывает повреждающее действие на печень, но его непосредственное влияние на клеточную гибель (апоптоз, некроз, аутофагическую гибель) практически не исследовано. Пути клеточной смерти культивированных гепатоцитов крыс изучали с помощью флуоресцентной и электронной микроскопии, определения фрагментации ДНК и активности каспазы 3 колориметрическим методом. Установлено, что экзогенный TxB_2 (0,1 мкмоль/л) увеличивает количество гепатоцитов с ранними стадиями апоптоза (конденсацией хроматина, уплотнением цитоплазмы и ядер), активизирует каспазу 3, повышает количество фрагментированной ДНК и не влияет на некроз и на интенсивность аутофагии. Обработка культивированных в присутствии TxB_2 гепатоцитов блокатормітохондріальних пор циклоспорином А существенно уменьшала количество апоптотических клеток, что свидетельствует об участии митохондрий в модуляции апоптоза при действии Тх.

INFLUENCE OF EXOGENOUS THROMBOXANE V_2 ON DIFFERENT PATHWAYS OF CELL DEATH OF CULTURED RAT HEPATOCYTES AND PARTICIPATION OF MITOCHONDRIA IN THESE PROCESSES – Thromboxane (Tx) is known to have injurious effect on a liver, but its direct influence on pathways of cellular destruction (apoptosis, necrosis or autophagic death) is not investigated enough. Pathways of cell death in rat cultured hepatocytes were investigated by fluorescent and electronic microscopy, definition of caspase activity and DNA fragmentation. It was established, that exogenous TxB_2 increased the amount of hepatocytes with morphological features of early stages of apoptosis (chromatin, nuclear and cytoplasmic condensation), caused activation of caspase 3 and increased the amount of fragmented DNA. Furthermore, TxB_2 did not affect necrosis and the

intensity of autophagy. Treatment of cultured hepatocytes with Tx and inhibitor of mitochondrial permeability transition pores cyclosporine A, essentially decreased the amount of apoptotic cells. This indicates on participation of mitochondria in modulation of apoptosis at Tx action.

Ключові слова: гепатоцити, апоптоз, некроз, аутофагія, тромбоксан, мітохондрії.

Ключевые слова: гепатоциты, апоптоз, некроз, аутофагия, тромбоксан, митохондрии.

Key words: hepatocytes, apoptosis, necrosis, autophagy, thromboxane, mitochondria.

ВСТУП На сьогодні виділяють три основні типи клітинної смерті – апоптоз, аутофагічна загибель клітин і некроз. Механізми апоптозу пов'язані з активацією каспаз, що призводить до морфологічних проявів у вигляді ущільнення цитоплазми, конденсації і фрагментації хроматину і ядра, утворення апоптотичних тілець з їх наступним фагоцитозом. Аутофагічна загибель – самоперетравлювання клітини за допомогою утворення аутофагосом – вакуолей з клітинними органелами і/або білковим матеріалом, які зливаються з лізосомами. Для некротичної загибелі характерні такі морфологічні зміни: набрякання клітин, ядер та мітохондрій, розрідження цитоплазми і втрата цілості плазматичної мембрани. Некроз призводить до виходу клітинного вмісту в навколишні тканини та розвитку запального і імунного процесів, на відміну від апоптозу і аутофагічної загибелі [1,4,6].

Ейкозаноїд тромбоксан (Тх), який утворюється тромбоцитами й іншими клітинами, в тому числі гепатоцитами і клітинами Купфера при метаболізмі арахідонової кислоти за циклооксигеназним шляхом, бере участь в регуляції функцій печінки при фізіологічних умовах і відіграє значну патогенетичну роль при її ушкодженні, суттєво впливаючи на життєдіяльність та загибель клітин [5,9,10]. Шляхи клітинної загибелі при дії Тх (апоптоз, некроз чи аутофагія), її морфологічні особливості та механізми охарактеризовані недостатньо.

Метою даної роботи було вивчити вплив TxB_2 на загибель культивованих гепатоцитів щурів за різними

шляхами (апоптоз, некроз, аутофагія) та дослідити участь мітохондріальних пор в апоптотичному процесі.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ В експериментах використана первинна культура гепатоцитів щурів лінії Вістар. При роботі з тваринами дотримувались Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин. Гепатоцити виділяли за методом Сеглена [7], кількість живих клітин складала перед посадкою 84,6±5,6%. Культівування проводили в 6, 8 або 24-лункових планшетах, для флуоресцентних досліджень - на покритому колагеном склі. Екзогенний ТхВ₂ (0,1 мкмоль/л) додавали двічі з інтервалом 1 год, блокатор мітохондріальних пор циклоспорин А (цсп А) (1 мкмоль/л) додавали за 15 хв до внесення Тх. Контролем слугували культури, інкубовані в середовищі з концентрацією етанолу, відповідно до тієї, що була в розчині Тх.

Дослідження проводили через 4, 8, 24 години. Кількість живих, некротичних та апоптотичних клітин досліджували за допомогою прижиттєвого подвійного забарвлення гепатоцитів флуоресцентними ядерними барвниками Хехст 33342 та пропідіум йодид і подальшою мікроскопією (10 мкмоль/л) [8]. Пропідіум йодид проникає тільки у клітини з ушкодженими мембранами, тобто некротичні або вториннонекротичні, а Хехст 33342 проникає і через неушкоджені мембрани. Зв'язані з хроматином барвники дають змогу оцінити морфологічні риси ядерного матеріалу, притаманні апопто-

зу. Електронно-мікроскопічні дослідження проводили за загальноприйнятою методикою. Забарвлення аутофагічних структур проводили за допомогою флуоресцентного барвника монодансилкадаверину (МДК) ("Sigma") [6]. Підраховували кількість клітин з сильним, помірним, слабким забарвленням, а також без забарвлення.

Активацію каспази 3 визначали відповідно до інструкції виробника тест-набору (Sigma) і обчислювали коефіцієнт стимуляції відносно контролю. Фрагментацію ДНК в клітинах вивчали колориметричним методом за допомогою дифеніламінового реагента [2]. Статистичну обробку проводили методом Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що при інкубації культивованих гепатоцитів в присутності ТхВ₂ (0,1 мкмоль/л) протягом 4, 8 та 24 годин зменшував відсоток інтактних і збільшував відсоток клітин з морфологічними рисами апоптозу (табл.1). При цьому не було виявлено вірогідних змін в кількості некротичних клітин. За морфологічними та біохімічними ознаками розрізняють декілька стадій розвитку апоптозу. Рання стадія супроводжується утворенням високомолекулярних фрагментів ДНК і призводить до переходу клітини в незворотну стадію, на якій відбувається міжнуклеосомне розщеплення ДНК ендogenous нуклеазами, яке супроводжується такими морфологічними ознаками як зморщування, конденсація хроматину і руйнування ядерної мембрани [1, 4].

Таблиця 1. Кількість живих, некротичних та апоптотичних гепатоцитів (у % до загальної кількості клітин) в культурах при дії ТхВ₂ (0, 1 мкмоль/л) в присутності циклоспорину А (1 мкмоль/л) через 4, 8 та 24 години після впливу (M±m, n=9)

Вплив	4 год			8 год			24 год		
	Живі	Некроз	Апоптоз	Живі	Некроз	Апоптоз	Живі	Некроз	Апоптоз
Контроль	93,0±0,6	2,07±0,28	4,95±0,49	93,8±0,8	1,55±0,34	4,65±0,58	94,4±1,0	2,25±0,91	3,50±0,24
ТхВ ₂ 0,1мкМ	89,3 ^{##} ±1,1	2,75±0,88	8,00 ^{###} ±0,66	88,9 ^{###} ±0,9	2,20±0,54	8,86 ^{###} ±0,75	92,4±0,8	1,26±0,26	6,37 ^{##} ±0,71
ЦспА+ТхВ ₂ 1мкМ	90,6±1,06	3,73±1,02	5,70*±0,67	92,1*±1,07	3,68±0,92	4,22***±0,70	94,2±0,50	1,78±0,48	3,99*±0,64

- P<0,01, ### P<0,001 при дії Тх відносно контролю; * - P<0,05, *** - P<0,001 відносно дії ТхВ₂.

На основі морфологічних особливостей загибелі гепатоцитів при люмінесцентному дослідженні було виділено чотири основні типи клітин, які знаходилися на різних стадіях апоптозу: **тип 1** – гепатоцити з конденсованим ядерним хроматином і незначним зменшенням розмірів, що відповідає раннім морфологічним ознакам апоптозу. Плазматична мембрана була або інтактною або значно рідше ушкодженою (вторинний некроз на фоні ранньої стадії апоптозу); **тип 2** - суттєво зменшені в розмірах клітини з сильно конденсованими ядрами і, переважно, з ушкодженою мембраною (клітини, в яких процес апоптозу був перерваний на стадії конденсації ядер); **тип 3** – гепатоцити з фрагментованим хроматином або фрагментованими ядрами, зменшені в розмірах, з ущільненою цитоплазмою і неушкодженою плазматичною мембраною, що відповідає вираженому апоптозу на його завершальній стадії; **тип 4** – гепатоцити з вираженими ознаками апоптозу, як і тип 3, однак з ушкодженою плазматичною мембраною. Ці клітини мають, таким чином, ознаки вторинного некрозу, що відбувся на фоні розвинутого апоптотичного процесу. ТхВ₂ суттєво збільшував кількість гепатоцитів з конденсованим хроматином (тип 1) в усі строки дослідження (табл. 2). Не виявлено значних змін кількості клітин з морфологічними ознаками, що характеризують пізні стадії апоптозу (тип 3), або постапоптотичного некрозу (тип 2, 4). Ці дані підтверджуються електронно-мікроскопічними дослідженнями. Морфологічні зміни, спричинені ТхВ₂, концентрувалися переважно в ядрі, торкаючись також цитоплазми, але не її органел, і свідчили про підсилення ранніх стадій апоптозу.

Досліди із застосуванням дифеніламінового реагента показали, що внесення ТхВ₂ в культуру гепатоцитів при-

зводило через 4 години до підвищення кількості фрагментованої ДНК в 1,3 раза (P<0.05) порівняно з контролем.

При вивченні аутофагічної загибелі клітин встановлено, що інтактні культури гепатоцитів мають невелику кількість клітин (2,3±0,59 %), забарвлених специфічним барвником аутофаголізосом МДК. Це відображає природний процес аутофагії, за допомогою якого клітини ліквідують старі або пошкоджені органели і білок. Додавання ТхВ₂ вірогідно не впливало ні на інтенсивність аутофагії, ні на кількість забарвлених МДК клітин (2,16±0,95%). Ці дані підтверджуються електронно-мікроскопічними дослідженнями. Як в контрольних культурах, так при дії ТхВ₂, спостерігалися лише поодинокі аутофагічні структури в окремих клітинах. За даними літератури [1,4,6], при аутофагічній загибелі клітин відмічається деструкція мітохондрій, ендоплазматичного ретикулуму, полірибосом і апарата Гольджі. В наших дослідженнях вплив ТхВ₂ не супроводжувався вищезгаданими явищами. Таким чином, аутофагічний процес не відіграє суттєвої ролі в викликаних тромбоксаном В₂ морфологічних змінах гепатоцитів.

Циклоспорин А (цсп А) - антибіотик, який інгібує утворення мітохондріальних пор, які призводять до переходу мембрани мітохондрій в стан високої проникності (mitochondrial permeability transition pores) [3], в наших експериментах при внесенні в культуральне середовище за 15 хвилин до ТхВ₂ (0,1 мкмоль/л), призводив до значного зменшення загальної кількості клітин з різними морфологічними ознаками апоптозу (табл. 1), але найбільшою мірою - з конденсованим хроматином (табл. 2), порівняно з дією одного ТхВ₂ в усі строки дослідження. Ці дані свідчать, що апоптоз-індукуюча дія Тх опосередковується, принаймні

Таблиця 2. Кількість культивованих гепатоцитів щурів з різними морфологічними рисами апоптозу (у % до загальної кількості клітин) за умов дії ТхВ₂ (0,1 мкмоль/л) в присутності циклоспорину А (1 мкмоль/л) протягом 4, 8 та 24 годин (M±m, n=9).

Вплив	Конденсований хроматин (тип 1)	Конденсовані ядра (тип 2)	Фрагментовані ядра, ціла мембрана (тип 3)	Фрагментовані ядра, ушкоджена мембрана (тип 4)
Контроль	3,95±0,53	0,22±0,07	0,29±0,13	0
ТхВ ₂ 0,1 мкм	5,97±0,67 [#]	0,45±0,16	0,29±0,10	0,04±0,03
ЦспА+ТхВ ₂ 1 мкм	4,36±0,65*	0,20±0,08	0,21±0,08	0,04±0,03

[#]P<0,05 при дії ТхВ₂ відносно контролю; *P<0,05 при дії циклоспорину А відносно ТхВ₂.

частково, через утворення мітохондріальних пор. Вірогідних змін кількості некротичних клітин при дії цспА виявлено не було.

Відомо, що при відкриванні мітохондріальних пор виділяються фактори, що активують ефекторну каспазу 3. Внесення ТхВ₂ в культуральне середовище призводило через 4 години до активації каспази 3 (коефіцієнт активації 1,12, P<0,05 відносно контролю). Невисокий рівень активації каспази 3 може бути недостатнім для проведення всіх реакцій, необхідних для завершення апоптозу до стадії фрагментації ядра і апоптотичних тілець, і цим пояснюється лише конденсація хроматину, яку ми спостерігали за умов дії ТхВ₂.

Таким чином, встановлено, що ТхВ₂ є модулятором розвитку апоптозу культивованих гепатоцитів щурів. Проапоптотична дія Тх, який виділяється в печінці як тромбоцитами при утворення тромбів, так і ушкодженими гепатоцитами та іншими клітинами печінки [3,5,9], може сприяти усуненню ушкоджених і старих клітин без розвитку запалення, тобто грати фізіологічну роль в регуляції клітинного гомеостазу. За умов сильного ушкодження, ТхВ₂ може бути патологічним агентом, оскільки він буде сприяти загибелі надмірної кількості клітин печінки. Патологічна роль Тх в печінці підтверджується дослідженнями із застосуванням блокаторів його синтезу і антагоністів рецепторів, які зменшували ураження печінки, викликане гіпоксією-реоксигенацією, введенням СС1₄ і т.д. [9,10].

ВИСНОВКИ 1. Додавання екзогенного ТхВ₂ до первинної культури гепатоцитів щурів призводило до підвищення кількості клітин з початковою стадією апоптотичної загибелі – конденсацією хроматину, фрагментації ДНК, а також до активації каспази 3. 2. Блокатор утворення мітохондрі-

альних пор циклоспорин А зменшував апоптоз, індукований ТхВ₂. 3. ТхВ₂ не впливає на аутофагічні процеси в культурі гепатоцитів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Фильченков А.А. Современные технологии количественной оценки апоптоза и их применение в экспериментальной и клинической онкологии. - К.: ДИА, 2003.-76с.
2. Матышевская О.П., Пастух В.Н., Солодушко В.А. Липоксигеназная активность и содержание 15-НЕТЕ в лимфоцитах селезенки крыс при действии ионизирующей радиации // Укр. биохим. журн. – 1998. – 70. Ст.91-96.
3. Lemasters J.J., Qian T., He L., Kim J.S., Elmore S.P., Cascio W.E., Brenner D.A. Role of mitochondrial inner membrane permeabilization in necrotic cell death, apoptosis, and autophagy // Antioxid. Redox. Signal. – 2002. – 4, № 5. – P. 769-81.
4. Lockshin R.A., Zakeri Z. Apoptosis, autophagy, and more // The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. – 2004. – 36 № 12. P. 2405-2419.
5. Marinovich M., Flaminio L., Papagni M., Galli C. Stimulation of arachidonic acid metabolism by CCl₄ in isolated rat hepatocytes // Prostagland. – 1989. – 37, № 1. – P. 23-30.
6. Munafo D.B., Colombo M. I. A novel assay to study autophagy: regulation of autophagosome vacuole size by amino acid deprivation // J. Cell Science. – 2001. – 114. – P. 3619-3629.
7. Seglen P. Preparation of rat liver cells // Methods Cell Biol. – 1976. – 13. – P. 29-83.
8. Shimizu S., Eguchi Y., Kamiike W. et al. Involvement of ICE family proteases in apoptosis induced by reoxygenation of hypoxic hepatocytes // Am.J.Physiol. – 1996. – 271, № 6. – P. 949-958.
9. Tolman K. G. Eicosanoids and the liver // Prostaglandins & other Lipid Mediators. – 2000. – 61. P. 163-174.
10. Takahashi T The effects of thromboxane A₂ synthetase inhibitor (OKY-046) on complete hepatic ischemia in rats with obstructive jaundice // Surg. Today. – 1996. – 26, № 1. – P. 15-20.

Гнатюк М.С., Франчук В.В., Сельський П.Р., Андрійчук О.В. МОРФОМЕТРИЧНА ОЦІНКА ВІКОВИХ ТА ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН КАРДІОМІОЦИТІВ ЧАСТИН СЕРЦЕВОГО М'ЯЗА

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

МОРФОМЕТРИЧНА ОЦІНКА ВІКОВИХ ТА ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН КАРДІОМІОЦИТІВ ЧАСТИН СЕРЦЕВОГО М'ЯЗА – Досліджені морфометричні показники 56 сердець людей різного віку в нормі та при гіпертрофії міокарда. Встановлено, що величина ядерно-цитоплазматичних відношень кардіоміоцитів з віком залишається стабільною і суттєво порушується при декомпенсації гіпертрофованого міокарда.

МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВОЗРАСТНЫХ И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ КАРДИОМИОЦИТОВ ЧАСТЕЙ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ – Исследованы морфометрические показатели 56 сердец людей различного возраста в норме и при гипертрофии миокарда. Установлено, что величина ядерно-цитоплазматических соотношений кардиомиоцитов с возрастом остаётся стабильной и существенно нарушается при декомпенсации гипертрофированного миокарда.

MORPHOMETRIC EVALUATION OF AGE AND PATHOLOGIC CHANGES IN CARDIOMYOCYTES OF MYOCARDIAL PARTS – Morphometric indices of 56 hearts

from different age people in norm and in hypertrophy of myocardium have been investigated. It has been established that quantity of nuclear-cytoplasmatic relations remains stable with age and it is significantly changes in decompensation of hypertrophied myocardium.

Ключові слова: морфометричні показники, кардіоміоцити, вік, гіпертрофія міокарда.

Ключевые слова: морфометрические показатели, кардиомиоциты, возраст, гипертрофия миокарда.

Key words: morphometric indices, cardiomyocytes, age, hypertrophy of myocardium.

ВСТУП Не зважаючи на певні успіхи сучасної медичної науки, патологія серцево-судинної системи залишається

найбільш розповсюдженою і актуальною медичною та соціальною проблемою, яка найчастіше призводить до інвалідності чи смертності людей у найбільш працездатному віці (1,2,3). Останнім часом в медико-біологічних дослідженнях все ширше застосовують морфометричні методи, які дозволяють отримати кількісну характеристику морфологічних змін у міокарді в умовах різних фізіологічних та патологічних процесів (4,5,6). Однак, не зважаючи на численні роботи, присвячені морфометричним дослідженням серця, детальна кількісна морфологічна характеристика кардіоміоцитів окремих частин серцевого м'яза в спеціальній літературі недостатня (6). Тому метою даної роботи стало вивчення морфометричних параметрів кардіоміоцитів відділів серцевого м'яза як в нормі, у людей різного віку, так і в патологічних умовах (при гіпертонічній хворобі).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Матеріалом дослідження стали 56 сердець, вилучених з трупів людей різного віку, обох статей, які померли як насильно (від різноманітних травм), так і від гіпертонічної хвороби та її ускладнень. Цей секційний матеріал розподілили на 3 групи. До перших двох віднесли 41 серце з трупів відносно здорових людей, померлих від травм, зокрема, 1-а група - 16 сердець осіб молодого віку (від 18 до 39 років), 2-а - 25 сердець загиблих старшого віку (від 46 до 67 років), 3-а група - 15 сердець від осіб, що хворіли у гіпертонічну хворобу і на ризині у яких була діагностована декомпенсація гіпертрофованого серця. З усіх відділів серцевого м'яза вирізали шматочки, які фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, рідинах Карнуа, Ценкера, 96 % спирті і після відповідного проведення через спирти зростаючої концентрації заливали в парафін. Микротомні зрізи фарбували гематоксилін-еозинном, за Ван-Гізеном, Вейгертом, Маллорі (7). Фарбовані гістологічні препарати частин серця вивчали світлооптично і проводили морфометрію кардіоміоцитів. При цьому вимірювали діаметр кардіоміоцитів (ДКМ) лівого (ЛШ) та правого (ПШ) шлуночків, міжшлуночкової перегородки (МП), лівого (ЛП) та правого (ПП) передсердь, діаметр ядер (ДЯ) кардіоміоцитів і визначали ядерно-цитоплазматичні відношення (ЯЦВ). При морфометричному дослідженні кар-

діоміоцитів дотримувалися правил і рекомендацій Г.Г. Аванділова (4) та К.Ташке (8). Виявлені цифрові дані обробляли статистично. Різницю між порівнювальними величинами визначали за Стьюдентом (9).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Отримані морфометричні параметри кардіоміоцитів частин серця в досліджуваних групах представлені в таблиці 1. Ці величини свідчать, що в неушкодженому серці найбільші діаметри мають кардіоміоцити лівого шлуночка (15,80±0,30) мкм, дещо менші – кардіоміоцити міжшлуночкової перегородки (15,06±0,18) мкм та правого шлуночка (12,40±0,24) мкм. Найменші діаметри кардіоміоцитів у лівому (9,50±0,15) мкм та правому (8,70±0,12) мкм передсердях відповідно. Різні також і розміри ядер кардіоміоцитів. Так, діаметр ядер кардіоміоцитів неураженого лівого шлуночка складає (6,03±0,11) мкм, міжшлуночкової перегородки – (5,71±0,08) мкм, правого шлуночка – (4,90±0,09) мкм. При цьому, не зважаючи на різні просторові характеристики цитоплазми і ядер кардіоміоцитів в обох шлуночках і міжшлуночкової перегородці, ядерно-цитоплазматичні відношення у них суттєво не відрізняються (табл. 1), що, в свою чергу, свідчить про стабільність клітинного структурного гомеостазу в цих кардіоміоцитах (10, 11). Діаметри ядер кардіоміоцитів передсердь 1-ї групи спостережень мали найменші величини порівняно із шлуночками та міжшлуночковою перегородкою. Так, у лівому передсерді діаметр ядер кардіоміоцитів становив (3,72±0,06) мкм, а у правому – (3,35±0,042) мкм. В той же час ядерно-цитоплазматичні відношення в кардіоміоцитах передсердь були більшими порівняно з аналогічними параметрами шлуночків та міжшлуночкової перегородки. Так, ядерно-цитоплазматичні відношення в кардіоміоцитах лівого шлуночка склали (0,144±0,003), а у лівому передсерді – (0,1518±0,0021). Необхідно зазначити, що відмінність між цими показниками є статистично достовірною (p>0,001) і ЯЦВЛП перевищують ЯЦВЛШ на 5,4 %, тобто ядро в кардіоміоцитах передсердь займало більший об'єм порівняно з серцевими м'язовими клітинами шлуночків та міжшлуночкової перегородки.

Таблиця 1. Морфометричні показники кардіоміоцитів частин серця (M±m)

Показник	Групи спостереження		
	1-а	2-а	3-я
ДКМЛШ, мкм	15,80±0,30	16,78±0,24*	20,90±0,54***
ДЯЛШ, мкм	6,03±0,11	6,34±0,09*	8,74±0,24**
ЯЦВЛШ	0,144±0,003	0,143±0,002	0,175±0,006**
ДКМПШ, мкм	12,40±0,24	13,30±0,18*	15,10±0,39**
ДЯПШ, мкм	4,90±0,09	5,10±0,07	6,20±0,12***
ЯЦВПШ	0,144±0,003	0,146±0,004	0,168±0,007*
ДКММП, мкм	15,06±0,18	16,57±0,24*	19,8±0,51***
ДЯМП, мкм	5,71±0,08	6,30±0,09*	8,04±0,21***
ЯЦВМП	0,1440±0,0018	0,1430±0,0024	0,165±0,006*
ДКМЛП, мкм	9,50±0,15	10,35±0,18*	11,20±0,30**
ДЯЛП, мкм	3,72±0,006	4,03±0,06*	4,67±0,12***
ЯЦВЛП	0,1518±0,0021	0,1520±0,0024	0,1740±0,0045**
ДКМПП, мкм	8,70±0,12	9,88±0,15*	10,20±0,27**
ДЯПП, мкм	3,350±0,042	3,71±0,056*	4,30±0,12***
ЯЦВПП	0,1520±0,0018	0,1540±0,0024	0,175±0,006**

Примітка: Зірочкою позначені величини, що статистично достовірно відрізняються між собою (* - P<0,05; ** - P<0,01; *** - P<0,001).

В 2-й групі (старша вікова група) спостерігалась гіпертрофія кардіоміоцитів частин серця. Так, у лівому шлуночку діаметр кардіоміоцитів зростав з (15,80±0,30) мкм до (16,78±0,24) мкм, тобто на 6,2 %, у правому шлуночку на 7,2 %, міжшлуночкової перегородці – на 10,0 %, у лівому та правому передсердях – відповідно на 8,9 % та 13,5 %. В цих спостереженнях збільшувались також діаметри ядер

кардіоміоцитів. Так, діаметр ядер в кардіоміоцитах лівого шлуночка зростав з (6,03±0,11) до (6,34±0,09) мкм, тобто на 5,1 %, у правому шлуночку – на 4,1 %, міжшлуночкової перегородці – на 10,3 %, лівому передсерді – на 8,3 %, правому передсерді – на 10,1 %. При цьому ядерно-цитоплазматичні відношення в кардіоміоцитах частин серця практично не змінювалися, вказуючи на стабільність

клітинного структурного гомеостазу (11). Багато дослідників, вивчаючи вікову гіпертрофію серця, вказували, що внаслідок гіпертензії в малому колі кровообігу, пов'язаної з віковою емфіземою легень, гіпертрофується переважно правий шлуночок. Інші – описували вікову гіпертрофію лівого шлуночка, яка виникла внаслідок гіпертензії у великому колі кровообігу, що переважно зустрічається у осіб старшого віку. Наші результати свідчать, що з віком має місце гіпертрофія всіх частин серця. Це узгоджується з думкою Н.А. Левкової (12), яка вказує, що вікова гіпертрофія серця виникає не тільки в лівому шлуночку, а і у всіх інших частинах міокарда. В третій групі ступінь гіпертрофії кардіоміоцитів був значно більшим порівняно з попередніми групами спостережень. Так, діаметр кардіоміоцитів лівого шлуночка в цій групі досягав (20,9±0,54) мкм, що перевищує аналогічний показник 2-ої групи на 24,5 %, а 1-ої – на 32,3 %. При цьому діаметр ядер серцевих м'язових клітин лівого шлуночка зріс на 44,9 % порівняно з першою групою спостережень і на 37,8 % порівняно з другою групою. Тобто, нерівномірне, диспропорційне зростання просторових характеристик цитоплазми кардіоміоцитів та їх ядер призводило до суттєвих змін ядерно-цитоплазматичних відношень у цих клітинах, що свідчило про істотне порушення клітинного структурного гомеостазу (11). Аналогічне явище (зростання ЯЦВ) спостерігали в кардіоміоцитах правого шлуночка, міжшлуночкової перегородки, лівого та правого передсердь. Відомо, що між розмірами ядра та цитоплазми клітин існує певна залежність, яка може змінюватись при їх різних структурно-функціональних станах (5,13). Так, ядерно-цитоплазматичні відношення можуть знижуватись або підвищуватись, послаблюючи корелятивні зв'язки між розмірними характеристиками ядер та кардіоміоцитів. Ядерно-цитоплазматичні відношення є об'єктивним та цінним критерієм, який адекватно відображає структурно-функціональний стан клітини і є важливою інформативною ознакою поломки та зриву клітинного структурного гомеостазу (4,11,14). Співвідношення між просторовими характеристиками ядер та цитоплазми клітин можна також використовувати для визначення стадій компенсації та декомпенсації в умовах гіперфункції клітини. Динаміку змін ядерно-цитоплазматичних відношень пояснюють також по-різному. Деякі дослідники (4,12) вважають, що зростання цього морфометричного показника спостерігається при дедиференційованні клітин, а при диференційованні він зменшується. Отримані нами дані це підтверджують. В міокарді передсердь неуразеного серця зустрічають малодиференційовані кардіоміоцити і в них ядерно-цитоплазматичні показники вищі порівняно з шлуночками.

Отже, проведені дослідження дають змогу вважати, що ядерно-цитоплазматичні відношення є важливим критерієм кількісної морфології, що відображає не тільки взаємозв'язки між цитоплазмою і ядром, але й характеризує

структурно-функціональний стан клітини. Морфометричні дослідження кардіоміоцитів частин серця як в нормі, так і за умов вікових змін та декомпенсованої гіпертрофії міокарда, значно доповнюють звичайні секційні методи і суттєво розширюють можливості морфолога в діагностиці причини смерті, особливо у випадках серцево-судинних захворювань.

ВИСНОВКИ Застосування морфометричних методів при дослідженні кардіоміоцитів є найбільш об'єктивним при оцінці вікових та патологічних змін серцевого м'яза і дозволяє адекватно та глибоко виявити механізми його патоморфогенезу. З віком та при гіпертонічній хворобі виникає гіпертрофія кардіоміоцитів частин серця та їхніх ядер. Величини ядерно-цитоплазматичних відношень в серцевих м'язових клітинах свідчать, що вони є стабільними при віковій структурній перебудові серцевого м'яза і суттєво змінюються при декомпенсації гіпертрофованого серця, виявляючи при цьому істотні порушення клітинного структурного гомеостазу.

Подальше вивчення цих процесів дозволить суттєво розширити наші уявлення про механізми патоморфотаногенезу гіпертрофованого серця

ЛІТЕРАТУРА

1. Нетяженко В.З., Корост Я.В., Пленова О.М. Маркери ушкодження міокарда та стан протизгортувальної системи крові у пацієнтів з гострими коронарними синдромами без елевачії сегментта ST // Серце і судини. – 2004. – №1 (5). – С. 30-37.
2. Калинкина Н.В., Кашанская О.К., Ватулин Н.Т. Особенности ремоделирования артерий под влиянием антрациклиновых антибиотиков // Серце і судини. – 2005. – №2 (10). – С. 46-51.
3. Ескунов И.Н., Семченко В.В. Структурно-функциональные изменения гистогематического барьера миокарда крыс в постишемическом периоде // Морфология. – 2003. – Т. 123, № 2. – С. 60-64.
4. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии. – М.: Медицина, 2002. – 240 с.
5. Гуцол А.А. Современные проблемы морфометрии сердца // Архив патологии. – 1997. – Т. 59, № 9. – С. 77-80.
6. Кирьякулов Г.С., Яблучанский Н.И., Шляховер В.Е. Морфометрия сердца в норме. – К.: Вища школа, 1990. – С. 48-54.
7. Сорочинников А.Г., Доросевич А.Е. Гистологическая и микроскопическая техника. – М.: Медицина, 1997. – 448 с.
8. Ташке К. Введение в количественную цито-гистологическую морфологию. – Бухарест: Изд-во Академии наук СРР, 1990. – 192 с.
9. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях Excel. – Киев: Морион, 2001. – 410 с.
10. Збарский И.В. Организация клеточного ядра. – М.: Медицина, 1998. – 240 с.
11. Саркисов Д.С. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. – М.: Медицина, 1997. – 330 с.
12. Левкова Н.А. Морфологические основы сердечной недостаточности в пожилом и старческом возрасте. – М.: Медицина, 1984. – 210 с.
13. Хесин Я.Е. Размеры ядер и функциональное состояние клеток. – М.: Медицина, 1997. – 424 с.
14. Gschwind B., Umbricht C., Torhorst J. Evolution of shape descriptors for the morphometric analysis of cell nuclei // Pathol. Res. and Pract. – 1996. – V. 191, № 2. – P. 213-222.

Заячківський С.А., Федонюк Я.І., Герасимюк І.Є.

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНО-ПРОСТОРОВОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ КРОВОНОСНОГО РУСЛА СЕРЦЯ СОБАК ЗА УМОВ ХІРУРГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ПОСТРЕЗЕКЦІЙНОЇ ЛЕГЕНЕВОЇ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНО-ПРОСТОРОВОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ КРОВОНОСНОГО РУСЛА СЕРЦЯ СОБАК ЗА УМОВ ХІРУРГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ПОСТРЕЗЕКЦІЙНОЇ ЛЕГЕНЕВОЇ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ – В експерименті на собаках із видаленням 67 % легеневої паренхіми дозовано звужували легеневий стовбур. За допомогою функціональних та морфологічних методик встановлено, що хірургічна корекція легеневої артеріальної гіпертензії даним методом в ранньому післяопераційному періоді сприятливо відображалася як на функції міокарда, так і на морфофункціональному стані коронарних судин.

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНО-ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ КОРОНАРНОГО РУСЛА СЕРДЦА СОБАК В УСЛОВИЯХ ХИРУРГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ПОСТРЕЗЕКЦИОННОЙ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ – В эксперименте на собаках с удалением 67 % легочной паренхимы дозировано суживали легочной ствол. С помощью функциональных и морфологических методик установлено, что хирургическая коррекция легочной артериальной гипертензии данным методом в раннем послеоперационном периоде благоприятно отображалась как на функции миокарда, так и на морфофункциональном состоянии коронарных сосудов.

FEATURES OF THE STRUCTURAL AND SPATIAL ORGANIZATION OF THE HEART CORONARY CHANNEL OF DOGS IN CONDITIONS OF SURGICAL CORRECTION OF THE POSTRESECTION PULMONARY ARTERIAL HYPERTENSION – In experiment on dogs with removal of 67 % pulmonary tissues it is dosed out narrowed pulmonary trunk. By means of functional and morphological techniques it is established, that surgical correction of pulmonary arterial hypertension using the mentioned method in the early postoperative period was favorably displayed both on function of myocardium, and on a morphofunctional condition of coronary vessels.

Ключові слова: резекція легенів, легенева артеріальна гіпертензія, набряк, гіпертрофія, асиметрія.

Ключевые слова: резекция легких, легочная артериальная гипертензия, отек, гипертрофия, асимметрия.

Key words: lung resection, pulmonary arterial hypertension, oedema, hypertrophy, asymmetry.

ВСТУП Підвищення ефективності методів хірургічного лікування хворих із бронхо-легеневою патологією є досить актуальним завданням у зв'язку з частим несприятливим прогнозом при застосуванні до них консервативної терапії [2]. Тому за останнє десятиріччя значно зросла кількість осіб, які перенесли різні за об'ємом операції на легенях [1, 6]. Однак нерідко перед хірургами виникає необхідність вирішення питання про проведення обширних резекцій чи повторних втручань на уже оперованих легенях [5, 8].

Дослідження характеру гемодинамічних порушень після резекції легенів сприяло розробці цілої низки методів хірургічної корекції пострезекційної легеневої артеріальної гіпертензії [3]. Однак, недоліками даних способів є змішування венозної та артеріальної крові, що призводить до гіпоксемії, а в подальшому – до розвитку склеротичних змін у кровоносному руслі. Тому проблема розробки нових методів хірургічної корекції пострезекційної легеневої артеріальної гіпертензії і надалі залишається досить актуальною.

Мета дослідження. Дати порівняльну характеристику компенсаторно-приспосувальних процесів у кровоносному руслі серця після одномоментних двобічних обширних резекцій легенів та при їх поєднанні з хірургічною корекцією пострезекційної легеневої артеріальної гіпертензії методом дозованого звуження легеневого стовбура.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Дослідження виконане на 36 безпородних різностатевих собаках з масою тіла від 16 до 20 кг і віком від 2 до 6 років, яким після торакотомії безпосередньо перед двобічною обширною резекцією легенів дозовано звужували легеневий стовбур. Вказане втручання здійснювали за запропонованим нами способом [4]. Операції проводилися з дотриманням правил асептики та антисептики за умов дроперидол-кетамінового знеболювання

та штучної вентиляції легенів. Із експерименту тварин виводили швидким внутрішньовенним введенням великих доз концентрованого розчину тіопенталу натрію (на 5, 30, 90, 180 добу після оперативного втручання). Для рентген-контрастного дослідження здійснювали ін'єкцію коронарних артерій водною суспензією свинцевого сурика під тиском 15 – 20 мм. рт. ст. Просторову оцінку рентгенангіограм проводили за методикою К.А. Шошенко і співавт. [7], згідно із якою в судинному трійнику вимірювали діаметр основного стовбура (D_0), товстішої (D_1) і тоншої (D_2) гілок, сумарний кут галузження (α_0), кут відхилення товстішої (α_1) і тоншої (α_2) гілок наступних порядків, довжину основного стовбура (L).

На підставі отриманих величин вираховували такі показники :

- коефіцієнт асиметрії : $H_2 = D_2^2 / D_1^2 + D_2^2$,
- коефіцієнт галузження : $k = D_1^2 + D_2^2 / D_0^2$.

Результати стереометричних вимірювань піддавали математичній та статистичній обробці.

Для гістологічного дослідження брали кусочки із різних відділів серця. Гістологічні зрізи фарбували гематоксилином та еозином, за Вейгертом і за Ван Гізон. Під час операції та в різні терміни спостереження пункційним методом вимірювали тиск у легеневій артерії (ТЛА) та передній порожнистій вені (ТППВ), а також реєстрували об'ємну швидкість коронарного кровотоку (ОШКК).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дозоване звуження легеневого стовбура при двобічних обширних резекціях легенів у ранньому післяопераційному періоді приводило порівняно із традиційним способом втручання до зменшення гідродинамічного навантаження на кровоносне русло легенів дистальніше від місця стенозування. Тиск у легеневій артерії вище від місця стенозування лише незначно перевищував доопераційний рівень і сягав ($291,6 \pm 7,3$) мм вод.ст., що на 11 – 16 % було більшим за нормальні показники і на 68 % було нижчим, ніж після аналогічного об'єму оперативних втручань без коригуючого етапу. Однак до місця стенозування ТЛА був майже таким, як у тварин з одномоментною двобічною резекцією легенів без корекції. Разом з тим, ТППВ сягав ($10,63 \pm 3,21$) мм вод.ст. (при нормі 2 – 4 мм вод.ст.), що однак майже в 2 рази було меншим ніж при обширних резекціях легенів традиційним способом. Запобігання значного ушкодження легеневої тканини і збереження її респіраторної функції певною мірою сприятливо відобразалося як на діяльності міокарда, так і на стані його коронарних судин. Незважаючи на те, що ОШКК знижувалася в стінках обох шлуночків в середньому на 22 – 34 відсотки, інтенсивність кровопостачання серця була все ж таки дещо кращою, ніж у тварин без корекції.

Одночасно із змінами центральної та коронарної гемодинаміки в судинному руслі серця спостерігались компенсаторно-приспосувальні процеси, що підтверджувалося результатами комплексного аналізу стереометричних показників контрастних рентгенангіограм (табл. 1).

Поряд із збільшенням діаметрів артерій і кутів їх галузження наростала симетрія біфуркацій, що підтверджувалося наростанням коефіцієнтів асиметричності (H_2) і галузження (K), однак дані показники були дещо меншими, ніж у тварин із традиційною двобічною обширною резекцією легенів. При гістологічному дослідженні спостерігалося повнокрів'я артеріальних і венозних судин. Просвіт дрібних інтрамуральних артерій був деформованим. Ендотеліоцити та гладком'язові клітини в стінках артерій виглядали набряклими та збільшеними в розмірах. В інтрамуральних і субепікардіальних венах спостерігався паравазальний набряк.

Таблиця 1. Структурно-просторова характеристика артеріального русла серця собаки після двобічної обширної резекції легенів без корекції та з корекцією пострезекційної легеневої артеріальної гіпертензії (M ± m)

Параметри	Порядок судинного трійника	Терміни спостереження				
		Контроль	Резекція легенів		Резекція легенів із корекцією	
			5 днів	90 днів	5 днів	90 днів
D ₀	II	2,20 ± 0,16	2,77 ± 0,18	2,49 ± 0,13	2,70 ± 0,15	2,47 ± 0,13
	III	1,36 ± 0,12	1,89 ± 0,17	1,64 ± 0,13	1,83 ± 0,12	1,62 ± 0,12
	IV	0,88 ± 0,10	1,34 ± 0,15	1,11 ± 0,11	1,28 ± 0,09	1,10 ± 0,11
	V	0,55 ± 0,08	0,95 ± 0,13	0,76 ± 0,10	0,91 ± 0,07	0,74 ± 0,10
	VI	0,36 ± 0,07	0,71 ± 0,12	0,55 ± 0,09	0,67 ± 0,06	0,53 ± 0,09
	L відн.	II	9,08 ± 0,11	8,79 ± 0,12	9,15 ± 0,11	8,98 ± 0,10
	III	9,23 ± 0,10	8,96 ± 0,10	9,28 ± 0,12	9,17 ± 0,11	9,28 ± 0,11
	IV	9,28 ± 0,11	9,09 ± 0,14	9,40 ± 0,12	9,25 ± 0,12	9,38 ± 0,12
	V	9,42 ± 0,10	9,24 ± 0,16	9,47 ± 0,13	9,32 ± 0,14	9,47 ± 0,13
	VI	9,55 ± 0,09	9,31 ± 0,17	9,55 ± 0,14	9,41 ± 0,15	9,54 ± 0,12
H ₂	II	32,18 ± 0,79	35,66 ± 2,72	34,13 ± 1,10	35,12 ± 0,85	34,03 ± 1,10
	III	33,71 ± 1,29	37,22 ± 1,09	36,25 ± 1,02	37,13 ± 1,01	36,25 ± 0,97
	IV	31,79 ± 1,84	38,41 ± 1,06*	35,96 ± 1,30	37,94 ± 1,05*	35,35 ± 1,63
	V	34,06 ± 1,66	40,19 ± 1,83	39,02 ± 2,30	39,78 ± 1,84	38,80 ± 2,12
	VI	37,50 ± 2,19	43,11 ± 1,94	43,54 ± 1,05	43,09 ± 1,75	42,73 ± 1,49
	K	II	117,71 ± 1,51	129,97 ± 1,18*	125,88 ± 2,18*	129,60 ± 2,82*
	III	122,38 ± 1,62	132,04 ± 2,52*	125,45 ± 2,35	131,42 ± 2,38*	125,11 ± 2,75
	IV	121,69 ± 1,17	129,82 ± 3,78	127,08 ± 2,01	128,99 ± 4,16	126,72 ± 1,97
	V	122,53 ± 2,75	133,49 ± 3,68	130,03 ± 2,02	133,05 ± 3,79	129,80 ± 2,51
	VI	125,52 ± 2,69	134,57 ± 4,71	136,22 ± 3,63	134,37 ± 4,51	136,09 ± 3,18
Φ ₁	II	32,69 ± 1,12	38,68 ± 1,39*	36,94 ± 1,02*	38,08 ± 0,83*	36,752 ± 0,97
	III	35,46 ± 1,06	39,67 ± 1,28	38,37 ± 1,11	39,37 ± 1,04	38,22 ± 1,10
	IV	36,48 ± 1,10	40,57 ± 1,42	39,28 ± 1,13	40,25 ± 1,17	39,25 ± 1,22
	V	37,38 ± 1,01	41,72 ± 1,46	40,64 ± 1,06	41,48 ± 1,13	40,60 ± 1,20
	VI	38,87 ± 0,97	43,15 ± 1,46	42,05 ± 0,97	42,62 ± 1,15	41,95 ± 1,32
	Φ ₂	II	40,28 ± 0,83	48,10 ± 1,18*	47,38 ± 0,64*	46,92 ± 1,18*
	III	43,47 ± 1,03	49,29 ± 1,47*	48,72 ± 0,67*	47,89 ± 1,17*	48,20 ± 0,86*
	IV	44,40 ± 0,99	50,99 ± 1,62*	49,91 ± 0,72*	50,07 ± 1,21*	49,50 ± 0,75*
	V	46,72 ± 1,00	51,85 ± 1,45*	51,05 ± 0,76*	51,16 ± 1,24*	50,47 ± 0,99
	VI	48,12 ± 1,06	53,24 ± 1,66	52,51 ± 0,77*	52,88 ± 1,38	51,99 ± 1,21

Примітка: * - P < 0,05

Через 3 місяці після оперативного втручання відмічалось посилення розладів легеневої та коронарної гемодинаміки, що супроводжувалося наростанням легеневої артеріальної гіпертензії майже до рівня, який відмічався в аналогічний термін у тварин, що були прооперовані без коригуючого етапу. Такі зміни були пов'язані із розсмоктуванням та розривом кетгуткових лігатур і реканалізацією легеневого стовбура. Це негативно впливало як на функцію міокарда, так і на функціональний стан коронарного русла.

Коронарне русло реагувало відповідною структурно-просторовою реорганізацією, що проявлялось наростанням емнісних характеристик коронарних судин та симетрії галужень судинних трійників із відповідним збільшенням величини сумарного кута відхилення гілок від осі основного стовбура у всіх судинних трійниках із наближенням даних показників до рівня тварин, оперованих без корекції. Морфологічно це збігалось з гіпертрофічно-гіперпластичними змінами м'язового шару коронарних судин, посиленням їх еластичних каркасів, периваскулярним розростанням сполучної тканини та гіпереластозом вен.

ВИСНОВКИ 1. Двобічна обширна резекція легенів із одночасною хірургічною корекцією легеневої артеріальної гіпертензії методом дозованого звуження легеневого стовбура в ранньому післяопераційному періоді сприяє оптимізації легеневого кровообігу і газообмінної функції легенів, що має позитивний вплив на структурно-просторову перебудову судинного русла серця. 2. При збереженні гемодинамічного навантаження на судини вінцевого басейну покращення оксигенації крові при застосуванні стенозу легеневого стовбура супроводжується відносно помірним на-

ростанням емнісних характеристик, опірності судинного русла серця та явищами набряку судинних стінок. 3. У віддалені терміни спостереження внаслідок реканалізації легеневого стовбура виникає посилення розладів легеневої та коронарної гемодинаміки, що супроводжується ознаками декомпенсації коронарного кровообігу, які проявлялися наростанням гіпертрофічно-гіперпластичних змін, колаgenoзом та гіпереластозом судинних стінок, посиленням опірності коронарного русла з наростанням його симетрії та емнісних характеристик.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бисенков Л.Н., Шалаев С.А., Василенко В.И. Хирургическое лечение больных с первично-множественным раком с поражением легких и других органов // Вестник хирургии. – 2004 – Т. 163, № 3. – С. 71-74.
2. Боерс М., Цвишенбергер Дж. Консервативное и хирургическое лечение туберкулеза и других микобактериозов // Проблемы туберкулеза. – 1998. – № 2. – С. 47-52.
3. Вагнер Р.И., Михнин А.Е., Дунаевский И.В. Хирургическая коррекция давления в малом круге кровообращения после обширных резекций легкого по поводу рака // Вестник хирургии. – 1996. – № 1. – С. 14-15.
4. Декларационный патент на винахід 45073 А Україна, МКИ G09B23/28. Спосіб моделювання двосторонньої обширної резекції легень / Р.Й.Вайда, І.С. Герасимюк, А.Р. Вайда, С.А. Заячківський. – № 2001042845; Заявлено 25.04.2001; Опубліковано 15.03.2002; Булетень № 3.
5. Добровольский С.Р., Григорьева С.П., Паршин В.Д. Повторные одно и двусторонние операции в хирургии первично-множественного рака легких и внутригрудных метастазов // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 1992. – № 9 – 10. – С. 45-52.
6. Пульмонэктомия при распространенном деструктивном туберкулезе, осложненном спонтанным пневмотораксом и эмпиемой плевры / Ш.Ю. Шабилов, Т.М. Кариев, Э.В. Саматов и др. // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2003. – № 6. – С. 23-25.

7. Шошенко К.А., Голуб Ф.С., Брод В.И. Архитектоника кровеносного русла. – Новосибирск: Наука, 1982. – 182 с.

8. Lung resection for recurrence after pneumonectomy for metastases / D. Grunenwald, L. Spaggiari, P. Girard et al.// Bulletin du Cancer. – 1997. – V. 84, № 3. – P. 277-281.

Боднар Я.Я., Кузів О.Є., Боднар Р.Я., Сиваківський М.А., Сельський П.Р. МОРФОГЕНЕЗ ВОДНО-ЕЛЕКТРОЛІТНОЇ МІОКАРДІОПАТІЇ

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

МОРФОГЕНЕЗ ВОДНО-ЕЛЕКТРОЛІТНОЇ МІОКАРДІОПАТІЇ – Морфологічно досліджено міокард дітей, які померли від ексікозу, а також серця шурів, у яких моделювалося загальне зневоднення організму. Виявлено, що загальна дегідратація організму супроводжується розвитком в серці неспецифічних структурних змін, які мають прояви капілярно-паренхіматозної дистрофії.

МОРФОГЕНЕЗ ВОДНО-ЭЛЕКТРОЛИТНОЙ МИОКАРДИОПАТИИ – Морфологически исследовано миокард детей, которые умерли от эксикоза, а также сердца крыс, в которых моделировалось общее обезвоживание организма. Обнаружено, что общая дегидратация организма сопровождается развитием в сердце структурных неспецифических изменений, которые имеют проявления капиллярно паренхиматозной дистрофии.

MORPHOGENESIS OF WATER-ELECTROLYTE MYOCARDIOPATHY – Morphologically was investigated myocardium of children, who died from exicosis, and also the hearts of rats, in which general dehydration of organism was modelled. It was found out that general dehydration of organism is accompanied by development of nonspecific structural changes in the heart that have signs of capillary-parenchymatous dystrophy.

Ключові слова: ексікоз, зневоднення, водно-електролітна міокардіопатія.

Ключевые слова: эксикоз, обезвоживание, водно-электролитная миокардиопатия.

Key words: exicosis, dehydration, water-electrolyte myocardiopathy.

ВСТУП Порушення водно-електролітного балансу є супутником багатьох патологічних станів і хвороб [4,5,6]. Значна втрата організмом води і електролітів спричиняє розлади метаболічних процесів в міокарді, що призводить до серцевої недостатності, яка поряд з енцефалопатією досить часто виступає безпосередньою причиною смерті хворих з даною патологією [1,2,3]. Водночас, морфологічні основи порушення функції серця при первинних порушеннях водно-електролітного обміну в організмі вивчалися переважно одночасно при патологіях, що супроводжуються втраченою водою і електролітів. Розкриття їх було б теоретичною основою для пояснення морфологічної сутності раптово виниклої серцевої недостатності за умов проведення реанімаційних і реабілітаційних заходів у хворих з ексікозами.

Метою дослідження було вивчити морфогенез водно-електролітної міокардіопатії.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Об'єктом дослідження були серця 30 дітей, віком до одного року, які померли від ексікозу, зумовленого ентеритом. Моделювання загальної дегідратації проводилося на 24 щурах-самцях, вагою 120-150 г. Загальна дегідратація досягалася шляхом згодовування тваринам висушеного вівса при повному обмеженні доступу їх до води. Тварин виводили з експерименту на 3, 6, і 9 добу шляхом декапітації під ефірним наркозом. Визначення біометричних показників сердець проводилось за загальноприйнятими методами. Визначалася абсолютна маса лівого і правого шлуночків, шлуночковий індекс, відносна маса кожного із шлуночків, ендокардіальна поверхня шлуночків, планіметричний індекс, індекс Фултона. Вибірково серця дітей наливалися масою Герота.

Тканину серця висушували до постійної ваги при температурі 110 °С. Визначали загальний вміст вологи і надалі спалювали в муфельній печі. Вміст катіонів натрію, кальцію і магнію визначали на атомному абсорбціометрі. Окрім того, частину міокарда, взятого при автопсіях і в експерименті фіксували в 10 % розчині нейтрального фор-

маліну, ущільнювали в парафіні. Депарафінізовані зрізи фарбували гематоксиліном і еозинном, за Генденгайном і Сельє. Стереологічний аналіз проводили за допомогою сітки Автанділова. Для електронно-мікроскопічного дослідження міокард фіксували 2,5 % розчином глютаральдегіду і 1 % розчином осмієвої кислоти за Мілонігом. Ультратонкі зрізи контрастували розчином ураніл-ацетату і азотнокислим свинцем за Рейнольдом.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Комплексним дослідженням встановлено, що при ентеритах, що перебігають з явищами ексікозу розвиваються значні структурні зміни міокарда, що є морфологічним проявом водно-електролітної міокардіопатії. Перш за все, вона виражається в розвитку гіпергідратації інтерстиціального простору, дистрофії і контрактурних пошкоджень кардіоміоцитів. набряк строми, наймовірніше, пов'язаний з порушенням проникності судинних стінок і реабсорбції лімфи. Про це, зокрема, свідчить дифузний прояв набряку, на відміну від осередкового ушкодження кардіоміоцитів. Ушкодження останніх є наслідком порушення метаболізму, а також гемодинаміки.

Найяскравіше в загальній картині морфологічних проявів водно-електролітної міокардіопатії виступають порушення крово- і лімфообігу. В основі розвитку ушкоджень структур судинної стінки лежить їх гіпергідратація. Морфологічно вона проявлялася розволокненням еластичних мембран, набуханням гладком'язових клітин і ендотеліоцитів, плазматичним просяканням стінки, периваскулярним і перикапілярним набряком. Останній, на нашу думку, розщеплює обмін у системі капіляр – кардіоміоцит і тим самим спричиняє гіпоксію і розвиток міокардіопатії.

На макроскопічному рівні порушення в системі гемодинаміки виражалися в значному кровонаповненні артеріального і, особливо, венозного русла, а також ін'єкції капілярної мережі. Слід вважати, що значне кровонаповнення епікардіальних судин є послідовною стадією виразу змін в інтрамуральних судинах, особливо на рівні мікроциркуляції. У наших спостереженнях вони виявлялися в значному розширенні просвіту артеріол і венул з плазматичним просоченням їх стінок і діapedезними крововиливами. У гемокапілярах виявлено значне набухання ендотеліоцитів і явища стаза. Разом з тим, виявлену звивистість магістральних судин можна розцінювати, як вираз компенсаторного процесу, спрямованого на депонування крові. Сюди ж ми відносимо також розширення венозного відділу кровоносного русла і відповідних лімфатичних судин, що підтверджує невід'ємний зв'язок між змінами кровоносної і лімфатичної систем.

Перебудова лімфатичної системи була спрямована на збільшення її місткості, що морфологічно проявлялася розширенням і новоутворенням лімфатичних судин. Отже, проведене дослідження вказує, що при ентериті розвиваються стереотипні зміни в системі лімфоциркуляції серця, що відображають пластичність лімфатичних судин на неспецифічні подразники. Проте, ми схильні вважати, що їм належить істотне місце в морфогенезі міокардіодистрофії. Так, розширення просвіту судини супроводжується їх функціональною недостатністю, що посилює розвиток набряку. З

іншого боку, набряк строми і розширені лімфатичні судини створюють безпосередню компресію на кардіоміоцити, закріплюючи порушення метаболізму в клітині. Отже, порушення в системах гемо- і лімфодинаміки створюють структурні умови розвитку капілярно-паренхіматозної дистрофії при ентеритах.

Водночас слід зазначити, що дослідження матеріалу аутопсії на світлооптичному рівні не дає можливості розкрити субклітинні прояви морфогенезу міокардіодистрофії при порушеннях водно-електролітного обміну. Це спонукало нас провести комплексне дослідження міокарда при змодельованому зневодненні організму.

Результати проведених досліджень показали, що при загальному зневодненні в серці розвивається комплекс дистрофічних і компенсаторно-приспосованих процесів. Ці зміни характеризуються гетерогенністю всіх структурних компонентів міокарда. За ступенем виразу вони неоднорідні, асинхронні і є морфологічним виразом серцевої недостатності при водно-електролітній міокардіопатії.

В експерименті із загальною дегідратацією організму, спричиненою водною депривацією відмічено, що втрата вологи у стадії адаптації здійснюється, головним чином, за рахунок вмісту внутрішньоклітинної рідини і лише у стадії виснаження спостерігається значне зменшення як клітинної так і позаклітинної рідини. Таку фазову зміну вологи у відповідних компартментах слід розцінювати як пристосовний механізм, направлений на збереження гемодинаміки. Втрата ж позаклітинного об'єму рідини неминує зумовлює порушення в системі кровопостачання органів і тканин.

Методом роздільного висушування відділів серця встановлено, що загальна вологість тканини серця у стадії адаптації дещо підвищується, особливо тканини правого шлуночка. У стадії стійкої адаптації вологість серця відповідає контрольним показникам. І лише у стадії виснаження відмічено достовірне зниження вологості тканини як правого, так і лівого шлуночків серця. Проте, слід зазначити, що гідрофільність міжшлуночкової перегородки при загальній дегідратації організму практично не міняється. Ці дані підтверджують загальний біологічний принцип, що міжшлуночкова перегородка, як і головний мозок, є найбільш важливою структурною одиницею, що забезпечує фізіологічну функцію органу, а отже, втрата вологи нею спостерігається в останню чергу – у фазу виснаження адаптивно-компенсаторних процесів, тобто при сублетальному зневодненні.

Результати хімічного аналізу міокарда при загальній дегідратації організму вказують на значне накопичення катіонів натрію, калію і магнію у поєднанні із зниженням концентрації кальцію. Вибіркове накопичення натрію і калію, найімовірніше, залежить від стану проникності мембран кардіоміоцитів.

До компенсаторних проявів, спрямованих на нормалізацію метаболізму в м'язі серця ми відносимо і достовірне збільшення вмісту магнію, оскільки він є обов'язковим компонентом ферментативних процесів, стимулюючих репарацію. Особливо суттєве його накопичення, у поєднанні із збільшенням активності ферментів, спостерігалось у стадії адаптації. У генезі серцевої недостатності велике значення приділяється калію. Негативний баланс його супроводжується тріпотінням шлуночків і порушенням скоротливої здатності міокарда. Ми ж схильні вважати, що при дослідженні матеріалу аутопсії доцільнішим є визначати індекс калій-натрієвого відношення. Саме зниження його було відмічене нами у стадії виснаження загальної дегідратації організму.

Таким чином, обмеження надходження екзогенної води призводить до дисбалансу електролітів в м'язі серця. Це не може не позначитися на його функції, отже, повинно мати і певний морфологічний вираз.

Макроскопічна перебудова серця при загальній дегідратації незначна. Вона виражалася в достовірному зменшенні загальної маси органу і зменшенні ендокардіальної поверхні правого шлуночка. Останнє можна розцінювати як компенсаторну реакцію на втрату внутрішньосудинної рідини при субтотальному зневодненні.

Ранні гістологічні зміни міокарда виявлялися вже при легкому ступені дегідратації. У більшості випадків виявлялися спазми артерій і парези вен, стази, помірний інтерстиціальний набряк і осередкові крововиливи. Водночас з порушенням гемодинаміки структурної перебудови зазнавали і кардіоміоцити. Вони характеризувалися осередковим ослабленням смугастості, набуханням, зміною тинкторіальних властивостей і контрактурними пошкодженнями. Вираженість їх знаходилася в прямій залежності від ступеня дегідратації організму.

Дані стереологічного дослідження міокарда при загальній дегідратації організму узгоджуються з показниками стану водних компартментів, доповнюючи один одного в загальній картині структурних змін серця при даній патології. Так, при легкому і середньому ступенях зневоднення відмічено збільшення питомої частки міжтканинних просторів і судин, що свідчить про інтерстиціальний набряк і збереження об'єму рідини в судинному руслі. При сублетальному зневодненні ці показники виявилися нижчими від контрольних.

Найбільш істотні зміни відмічені нами при субмікроскопічному дослідженні міокарда, для якого характерною є виражена гетерогенність пошкоджень. Постійно, разом з альтеративними змінами структури кардіоміоцитів спостерігався розвиток компенсаторно-приспосованих процесів, що відображають підвищене функціонування міокарда. Перебудова виявлялася, перш за все, в системі мікроциркуляції, а саме у відділі обміну між капіляром і кардіоміоцитом. Дегенеративні зміни наростали відповідно до ступеня зневоднення організму і досягали свого максимуму в сублетальній фазі.

Гетерогенність структурних пошкоджень міокарда розцінюється нами як один з проявів компенсаторно-приспосовальної реакції. Оскільки вона визначає максимальні можливості субклітинних структур для становлення адаптаційних реакцій в умовах гіперфункції органу, або розвитку патологічного процесу в організмі.

Згідно з даними електронно-мікроскопічного аналізу при легкому ступені дегідратації відбувається порушення капілярного кровотоку, підвищення трансапілярного обміну і початкові явища деструкції ендотеліоцитів. При середньому і сублетальному ступенях обезводнення переважає набряк і деструкція ендотеліоцитів розволокнення базальної мембрани. Це призводить до підвищення судинної проникності з розвитком периваскулярного набряку. Отже, створюються умови для порушення капілярно-паренхіматозного відношення. У кінцевому етапі розвивається дистрофія кардіоміоцитів, що відбивається на скоротливій здатності міокарда.

Структурна субклітинна перебудова кардіоміоцитів практично стосувалася всіх його компонентів. В першу чергу, відбувається зміна апарату енергетичного забезпечення скоротливої функції клітини. Активізація енергетичного обміну у фазу адаптації виявляється гіпертрофією мітохондрій і включенням у функціонування все більшої їх кількості. У міру прогресування зневоднення організму, більшість органел знаходяться в стані набухання, кількість крист в них зменшена, а матрикс, як правило, вимитий. Це свідчить про енергетичне їх виснаження.

Відомо, що порушення водно-електролітного балансу змінюють колоїдно-осмотичні характеристики тканини. Як результат, в каналці саркоплазматичного ретикуліуму, по яких транспортуються іони, в надмірній кількості поступає вода. Електронно-мікроскопічно це виявлялося в різкому

розширенні цистерн саркоплазматичного ретикулулу і в зниженні електронної щільності цитоплазми. Внаслідок різкого розтягування мембран саркоплазматичного ретикулулу і їх часткової фрагментації порушувалося сполучення процесів збудження і скорочення. Зрештою, це може бути причиною розвитку серцевої недостатності.

У ядрах розвивається маргінація хроматину, що є морфологічним виразом порушення кислотно-лужної рівноваги в клітині. Виражена звивистість контурів ядра і гіперплазія ядерця свідчить про їх підвищене функціонування. Що стосується пошкоджень основних скоротливих елементів міофібрил, то вони проявлялися розволокненням, появою контрактур і міоцитолізу.

ВИСНОВКИ 1. При екзикозі в серці дітей розвиваються неспецифічні структурні зміни міокарда, що характеризуються капілярно-паренхіматозною міокардіопатією. Вона проявляється контрактурними змінами і мікронекрозами кардіоміоцитів, гіпергідратацією строми, пластичним ремоделюванням кровоносних судин і мікроциркуляторного русла у поєднанні із компенсаторно-приспосувальними процесами на різних рівнях структурної організації міокарда. 2. Морфогенез водно-електролітної міокардіопатії розпочинається з пошкодження мембранних структур кардіомі-

оцитів і ендотеліоцитів капілярів мікроциркуляторного русла. 3. Ранні морфологічні зміни міокарда при загальному зневодненні організму проявляються в позаклітинно-клітинній гіпергідратації, накопиченні катіонів натрію, калію, розрушенні мітохондрій, лізисі та контрактурних змінах міофібрил.

Перспективи подальших досліджень Отримані дані можуть бути теоретичним підґрунтям для клінічних досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Коваленко В.М. Некоронарогенні хвороби серця: класифікація та клінічна систематизація, критерії діагностики // некоронарогенні хвороби серця: сучасні підходи до класифікації, нові напрямки діагностики і лікування. Тези доповідей. – К., 1999. – С. 4-8.
2. Окороков А.Н. Диагностика болезней внутренних органов. Том 6. Диагностика сердца и сосудов. – М: Медицинская литература, 2003. – 449 с.
3. Рудик Б.І. Вибрані лекції з кардіології. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – 369 с.
4. Шабалов Н.П. Детские болезни. – С.Пб: Питер, 2000. – 413 с.
5. Sofer, S. et al. Early severe dehydration in young breast-fed newborn infants // Isr. J. Mod. Sci. – 1993. – Vol. 29, № 2-3. – P. 85-89.
6. Thullen, J. D. Management of hypernatremic dehydration due to insufficient lactation // Clin. Pediatr. – 1988. – Val. 27, № 8. – P. 370-372..

Калинюк І.Г., Головацький А.С., Попович Ф.А.

ЗМІНИ КЛІТИННОГО СКЛАДУ ЛІМФОЇДНИХ ВУЗЛИКІВ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА БІЛИХ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ АНТИГЕННОЇ СТИМУЛЯЦІЇ ОРГАНІЗМУ

Кафедра анатомії людини та гістології медичного факультету Ужгородського національного університету

ЗМІНИ КЛІТИННОГО СКЛАДУ ЛІМФОЇДНИХ ВУЗЛИКІВ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА БІЛИХ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ АНТИГЕННОЇ СТИМУЛЯЦІЇ ОРГАНІЗМУ – Одноразова антигенна стимуляція організму „Нормальним імуноглобуліном людини” викликає зміни щільності імунокомпетентних клітин у лімфоїдних вузликах слизової оболонки шлунка статевонезрілих білих щурів. Зростання кількості лімфоцитів, плазмоцитів, макрофагоцитів і тканинних базофілів відбувається вже через 1 добу після дії антигену з максимумом через 7 діб. Через один місяць після антигенної стимуляції щільність імунокомпетентних клітин нормалізується.

ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА ЛИМФОИДНЫХ УЗЕЛКОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА БЕЛЫХ ПОЛОВОНЕЗРЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ АНТИГЕННОЙ СТИМУЛЯЦИИ ОРГАНИЗМА – Одноразовая антигенная стимуляция организма „Нормальным иммуноглобулином человека” вызывает изменения плотности иммунокомпетентных клеток в лимфоидных узелках слизистой оболочки желудка половонезрелых белых крыс. Рост количества лимфоцитов, плазмочитов, макрофагоцитов и тканевых базофилов происходит уже через 1 сутки после действия антигена с максимумом через 7 суток. Через один месяц после антигенной стимуляции плотность иммунокомпетентных клеток нормализуется.

CHANGES OF CELLULAR COMPOSITION OF LYMPHOID NODULES IN THE STOMACH MUCOUS MEMBRANE OF WHITE IMMATURE RATS AFTER THE ANTIGENIC STIMULATION OF THE ORGANISM – A single antigenic stimulation of the organism with “Normal human immunoglobulin” evokes changes of the density of immunocompetent cells in lymphoid nodules of the stomach mucous membrane of the of white immature rats. The quantity of lymphocytes, plasmocytes, macrophagocytes and tissues basophiles increase in 1 day after the antigenic action with maximum in 7 days. The density of immunocompetent cells become normal in a month after the antigenic stimulation.

Ключові слова: шлунок, слизова оболонка, лімфоїдні вузлики, імунокомпетентні клітини, лімфоцити, білі щури, антигенна стимуляція.

Ключевые слова: желудок, слизистая оболочка, лимфоидные узелки, иммунокомпетентные клетки, лимфоциты, белые крысы, антигенная стимуляция.

Key words: stomach, mucous membrane, lymphoid nodules, immunocompetent cells, lymphocytes, white rats, antigenic stimulation.

ВСТУП Катастрофічне забруднення навколишнього середовища різноманітними токсичними речовинами та антигенами призводить до порушення морфофункціонального стану органів імунної системи, як первинних, так і вторинних [1, 5, 6]. Багато вчених вказує на наявність у стінках шлунка лімфоїдної тканини, яка відіграє важливу роль в захисті організму від антигенів. Усі функції імунної системи забезпечують її клітинні елементи, які знаходяться в процесах проліферації, диференціації, міграції, кооперації та апоптозу [2-4, 9]. Оптимальний імунітет забезпечується наявністю оптимального балансу імунокомпетентних клітин.

Одним з актуальних завдань сучасної імуноморфології є вивчення вікових особливостей будови органів імунної системи, зокрема лімфоїдних утворень слизової оболонки шлунка. Слизова оболонка шлунка постійно стикається з травними антигенами, що потрапляють у шлунок з їжею, тому вже на ранніх етапах постнатального онтогенезу формуються лімфоїдні структури, які беруть участь у імунній відповіді [2, 7, 8].

Аналіз літератури показує, що цитоархітектоніка лімфоїдних структур слизової оболонки шлунка на ранніх етапах онтогенезу в нормі та при антигенній стимуляції досі ще невивчена.

Мета дослідження – вивчити закономірності змін клітинного складу лімфоїдних вузликів слизової оболонки шлунка білих статевонезрілих щурів після антигенної стимуляції „Нормальним імуноглобуліном людини”.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Експеримент проведено на 30 білих статевонезрілих безпородних щурах-самцях віком 1 місяць, поділених на дві групи. Перша група – експериментальні тварини, яким вводили антиген, друга група – контрольні тварини, яким вводили стандартний фізіологічний розчин в еквівалентних до імуноглобуліну об'ємах.

Антигеном обрано „Нормальний імуноглобулін людини” виробництва «Біофарма» (м. Київ), який є універсальним стимулятором імунних процесів в організмі тварин [2]. Імуноглобулін вводили одноразово в дозі 0,02 мг на 100 г маси тварин в об’ємі 0,2 мл стандартного фізіологічного розчину в асептичних умовах під шкіру тильної поверхні стопи правої задньої кінцівки щурів. Утримання тварин та всі маніпуляції під час експерименту відповідали „Загальним етичним принципам експериментів на тваринах” (Київ, 2001) та „Європейській конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986). Декапітацію щурів проводили під ефірним наркозом, забирали шлунки після одноразового введення антигену через 1, 3, 7, 14 і 30 діб та через 1 добу після введення стандартного фізіологічного розчину. Для дослідження забирали шматочки шлунків розміром 1,0x1,0 см з воротарної частини, фіксували їх у 10 % розчині нейтрального формаліну та заливали в парафінові блоки. Виготовляли гістологічні зрізи товщиною 5-7 мкм, які фарбували азур II-еозином. На гістологічних зрізах морфометричним методом на площі 625 мкм² рахували кількість клітин у лімфоїдних вузликах слизової оболонки шлунка: малих, середніх і великих лімфоцитів, плазматичних, макрофагоцитів і тканинних базофілів – за допомогою мор-

фометричної сітки № 3/16 С.Б. Стефанова (1982). Довірчий інтервал (L) розраховували за таблицями Р.Е. Стрелкова (1986). Цифрові величини експериментальних даних представлені вибірковими середніми (M) з довірчим інтервалом (±L) для рівня вірогідності P=95 % за Стьюдентом.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ
Лімфоїдні структури слизової оболонки шлунка білих статевонезрілих щурів віком 1 місяць повністю сформовані і представлені дифузною лімфоїдною тканиною, лімфоїдними передвузликами та лімфоїдними вузликами, які розташовані в основному у власній пластинці слизової оболонки шлунка. Введення антигену щурам призводить до збільшення щільності та розмірів лімфоїдних вузликів слизової оболонки шлунка та змін їх клітинного складу. Через 7 діб після введення антигену майже удвічі збільшується кількість лімфоїдних вузликів з гермінативними центрами, де відбуваються процеси проліферації і диференціації різних субпопуляцій лімфоцитів [5, 8].

Клітинний склад лімфоїдних вузликів слизової оболонки шлунка періодично змінюється після антигенної стимуляції організму. Вже через 1 добу після дії антигену в лімфоїдних вузликах збільшується кількість малих лімфоцитів на 10-15 % порівняно з аналогічними показниками у інтактних тварин, їх щільність становить 12,97±0,47 на площі 625 мкм² (табл. 1).

Таблиця 1. Клітинний склад лімфоїдних вузликів слизової оболонки воротарної частини шлунка білих статевонезрілих щурів-самців на площі 625 мкм² (M±L) після антигенної стимуляції впродовж одного місяця

Тип клітин	Термін спостереження					
	Норма	1 доба	3 доби	7 діб	14 діб	30 діб
Малі лімфоцити	11,28±0,49	12,97±0,47*	14,66±0,38*	16,92±0,38*	15,92±0,36*	11,36±0,33
Середні лімфоцити	1,62±0,08	2,56±0,11*	3,04±0,05*	3,22±0,08*	2,72±0,08*	1,72±0,11
Великі лімфоцити	0,78±0,08	1,22±0,08*	1,29±0,11*	2,28±0,05*	1,53±0,08*	0,84±0,05
Плазмцити	0,96±0,11	1,88±0,08	2,91±0,05*	2,83±0,11*	2,33±0,14*	1,16±0,11
Макрофагоцити	0,74±0,05	1,82±0,11*	1,94±0,14*	2,52±0,08*	1,88±0,08*	0,76±0,05
Тканинні базофіли	0,80±0,05	1,56±0,19*	2,14±0,11*	2,38±0,08*	2,10±0,08*	0,94±0,08

Примітка: *P<0,05 порівняно з нормою.

Одночасно через 1 добу збільшується кількість середніх і великих лімфоцитів у 1,5-1,7 раза, їх щільність становить відповідно 2,56±0,11 і 1,22±0,08 клітин на площі 625 мкм².

Плазматичні клітини, як активні продуценти антитіл, активно реагують на дію антигену. Як видно з таблиці, їх кількість удвічі збільшується вже через 1 добу після введення антигену. Щільність макрофагоцитів збільшується у 2,5 раза, що є закономірним, тому що макрофагоцити одними з перших включаються в імунну відповідь на дію антигену. Щільність тканинних базофілів, які є регуляторами імунних процесів, у лімфоїдних вузликах вже через 1 добу збільшується удвічі, особливо дегранульованих форм.

Через 3 доби після антигенної стимуляції кількість малих лімфоцитів у лімфоїдних вузликах слизової оболонки шлунка статевонезрілих щурів зростає у 1,5 раза, а щільність середніх і великих лімфоцитів збільшується майже удвічі, що вказує на ранню активізацію лімфоїдної тканини в слизовій оболонці шлунка статевонезрілих щурів і готовність середніх лімфоцитів диференціюватись у плазматичні клітини, які утворюють антитіла. Кількість макрофагоцитів, плазматичних і тканинних базофілів залишається високою.

Через 7 діб після імунізації статевонезрілих щурів максимально збільшується кількість всіх імунокомпетентних клітин у лімфоїдних вузликах слизової оболонки шлунка. Через 14 діб після введення антигену щільність цих клітин поступово зменшується (див. табл.1) та через один місяць кількість імунокомпетентних клітин у лімфоїдних вузликах слизової оболонки шлунка статевонезрілих щурів коливається в межах контрольних величин.

ВИСНОВКИ 1. На підвищення функціональної активності

лімфоїдної тканини слизової оболонки шлунка статевонезрілих білих щурів-самців при антигенній стимуляції вказують фазові зміни щільності імунокомпетентних клітин у лімфоїдних вузликах, які розвиваються практично відразу після проникнення антигену у внутрішнє середовище організму.

2. Через 1 добу після введення антигену зростає кількість всіх імунокомпетентних клітин у лімфоїдних вузликах слизової оболонки шлунка з максимумом через 7 діб.

3. Через 1 місяць після дії антигену щільність імунокомпетентних клітин у лімфоїдних вузликах нормалізується.

Перспективи подальших досліджень. Одноразове введення антигену викликає фазові зміни щільності імунокомпетентних клітин у лімфоїдній тканині слизової оболонки шлунка, які свідчать про активність імунної системи. У подальшому доцільно вивчити імунну відповідь організму при багаторазовій антигенній стимуляції.

Література

- Беляков И.И. Иммунная система слизистых оболочек // Иммунология.- 1997.- №4.- С.7-12.
- Волошин Н.А., Куц О.Г. Особенности становления лимфоидной ткани, ассоциированной с кожей, в норме и после внутриутробного введения антигенов // Вісник морфології.- 1999.- Т.5, №2.- С.118-120.
- Иммунология и иммунопатология пищеварительной системы // Ю.И. Бажора, В.И. Кресюн, К.Л. Севрецкий, И.Н. Годзиева.- Одесса: ОКФА, 2001.- 190 с.
- Сапин М.Р., Никитюк Д.Б. Иммунная система, стресс и иммунодефицит.- М.: АПП Джангар.- 2000.- 184 с.
- Сапин М.Р., Этинген Л.Е. Иммунная система человека.- М.: Медицина.- 1996.- 302 с.
- Хайтов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология.- М.: Медицина, 2000.- 430 с.

7. Gohin I. The lymphatic system and its functioning in sheep // *Vet. Res.* – 1997. – Vol.28, №5. – P. 417-438.
 8. The lymphatic vessels of the stomach in man / A. Pissas, R.Sarrazin, J.F.

- Dyon, Y. Bouchet // *Folia morphol. CSSR.* – 1992. – Vol. 30, № 4. – P. 363-365.
 9. Sallustio G., Giangregorio C., Cannas L. et al. Lymphatic system: morphofunctional considerations // *Rays.* – 2000. – Vol. 25, № 4. – P. 413-427.

**Коваленко Т.М., Осадченко І.О., Сможаник К.Г., Ніконенко О.Г., Скибо Г.Г.
 УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ОСНОВИ ВІДСТРОЧЕНОЇ ЗАГИБЕЛІ НЕЙРОНІВ ГІПОКАМПУ ПІСЛЯ
 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ МОЗКУ**

Інститут фізіології ім.О.О.Богомольця НАН України, м.Київ

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ОСНОВИ ВІДСТРОЧЕНОЇ ЗАГИБЕЛІ НЕЙРОНІВ ГІПОКАМПУ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ МОЗКУ – Експериментальну ішемію мозку у щурів створювали шляхом 4-судинної оклюзії хребцевих та загальних сонних артерій. Проводили ультраструктурні дослідження зони СА1 гіпокампу та морфометричний аналіз загальної кількості синапсів та їх типів на одиницю площі у stratum radiatum цієї зони через 15 хв, 2 год, 1, 3, 7 днів після 15-хвилинної ішемії. У ранні строки постішемичного періоду виявлено високу ступінь синаптичної пластичності, що виявляється у перерозподілі форм синаптичних терміналей та збільшенні товщини постсинаптичного ушліщення. З 3-ї до 7-ї доби після ішемії відбувалася прогресуюча, відставлена у часі загибель нейронів.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСНОВЫ ОТСРОЧЕННОЙ ГИБЕЛИ НЕЙРОНОВ ГИПОКАМПА ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МОЗГА – Экспериментальную ишемию мозга у крыс создавали путем 4-сосудистой окклюзии позвоночных и общих сонных артерий. Проводили ультраструктурные исследования зоны СА1 гиппокампа и морфометрический анализ общего количества синапсов и их типов на единицу площади в stratum radiatum этой зоны через 15 мин, 2 ч, 1, 3, 7 суток после 15-минутной ишемии. В ранние сроки постишемического периода отмечена высокая степень синаптической пластичности, которая проявлялась в перераспределении форм синаптических терминалей и увеличении толщины постсинаптической плотности. С 3-их по 7-е сутки после ишемии происходила прогрессирующая, отсроченная во времени, гибель нейронов.

ULTRASTRUCTURAL FOUNDATIONS OF NEURONAL DELAYED DEATH IN HIPPOCAMPUS AFTER EXPERIMENTAL BRAIN ISCHEMIA – The experimental brain ischemia in the rats was realized by four-vessels occlusion of the vertebral and common carotid arteries. Electron microscopic studies of hippocampal CA1 area and morphometric analysis of synaptic density and type of synapses in stratum radiatum were carried out after 15 min, 2 hours, 1, 3, 7 days followed by 15 min ischemia. A high level of synaptic structural plasticity by way of synaptic terminal modifications and postsynaptic density thickening was observed in early postischemic terms. A progressive delayed neuronal death took place from the third to seventh days after ischemic effects.

Ключові слова: ішемія мозку, зона СА1 гіпокампу, ультраструктура, синаптична пластичність

Ключевые слова: ишемия мозга, зона СА1 гиппокампа, ультраструктура, синаптическая пластичность.

Key words: brain ischemia, hippocampal CA1 area, ultrastructure, synaptic plasticity

ПРОБЛЕМА. Протягом останніх десятиліть проблема гострого церебрального інсульту набула великого значення у всьому світі в зв'язку з надзвичайно високим рівнем летальності, значною інвалідизацією та соціальною дисадаптацією уражених цією недугою пацієнтів.

Ступінь ураження тканини мозку при ішемії перш за все залежить від її тривалості. Після жорсткої і довготривалої ішемії тканина мозку швидко досягає інфаркту. Коли тривалість ішемічного впливу помірна, уражена тканина мозку підлягає повільному процесу “дозрівання” до інфаркту [5]. Якщо ішемія дуже коротка, в тканині мозку не розвивається інфаркт взагалі. Замість цього певні групи популяцій нейронів селективно пошкоджуються і руйнуються, вказуючи на те, що ці нейрональні підгрупи надзвичайно чутливі до ішемії. Такі чутливі нейрони знаходяться в гіпокампі, стріатумі та корі мозку.

Як об'єкт досліджень, нами був обраний гіпокамп – структура мозку, відповідальна, як відомо, за процеси фор-

мування пам'яті та навчання. Ще 2 десятиліття тому було виявлено селективне зменшення кількості пірамідних клітин в СА1 зоні гіпокампу при короткочасній ішемії [5, 11]. Детальний аналіз часової залежності показав, що смерть нейронів є повільним процесом, який триває 2-3 дні до появи морфологічних ознак (відстрочена нейрональна смерть) [4, 8]. Явище відстроченої загибелі нейронів свідчить про те, що існує певний проміжок часу після ішемічного впливу, коли морфологічних змін ще немає, а зміни функціональних характеристик нейронів уже виявляються. Протягом цього часу потрібно застосовувати фармакологічну корекцію, яка дасть змогу перервати каскад ушкоджуючих процесів у нейронах, забезпечити повернення їх до нормального стану та попередити відставлену нейрональну загибель. Тому вивчення ранніх клітинних механізмів пошкодження мозку при ішемічному впливі має актуальність і особливу значущість для розробки шляхів фармакологічної корекції такого ураження.

Експериментальна глобальна ішемія мозку на щурах з припиненням кровозабезпечення мозку шляхом виключення кровотоку як по хребцевих, так і по обох загальних сонних артеріях, незважаючи на значну трудомісткість методу, є однією з кращих патоморфологічних моделей, оскільки дозволяє чітко виявити морфологічні зміни в нервовій тканині залежно від часових параметрів пошкоджуючого впливу.

Метою даної роботи було вивчити ультраструктурні характеристики ішемічного пошкодження зони СА1 гіпокампу в динаміці розвитку відстроченої загибелі нейронів.

ОСНОВНА ЧАСТИНА. Досліди проводили на 23 самцях щурів лінії Вістар масою 300-400 г, у яких створювали експериментальну модель глобальної ішемії мозку шляхом чотирисудинної оклюзії, як описано Pulsinelli W.A. [9], з деякими модифікаціями. При виконанні роботи були дотримані міжнародні принципи Європейської конвенції про захист хребетних тварин. Щурів наркотизували каліпсолом (75 мг/кг) і виділяли обидві загальні сонні артерії. Під кожну артерію підводили лігатуру без переривання кровотоку і розріз зашивали. Після цього у тварин коагулювали обидві вертебральні артерії між C1 - C2 хребцями. Наступного дня тварин знерухомлювали ефіром, знімали шов з переднього шийного розрізу і на загальні сонні артерії для припинення кровотоку накладали атравматичні затискачі, які знімали через 15 хвилин, і кровотік в сонних артеріях відновлювався. Матеріал для досліджень брали через 15 хв, 2 год після ішемії та початку реперфузії мозку, а також у віддалені строки постішемічного періоду - через 1, 3, чи 7 днів. Контрольними слугували 3 несправжньооперовані тварини. Щурів анестезували ефіром і їх мозок фіксували шляхом транскардіальної перфузії 4 % розчином параформальдегіду і 2,5 % розчином глютаральдегіду на 0,1 М фосфатному буфері. Виділений гіпокамп розрізали на поперечні зрізи товщиною ~500 мкм і дофіксували у цьому ж розчині 1,5 години, а потім у 1% OsO₄ протягом 1 години.

Тканину заливали в епоксидні смоли (Epon – Araldit) за загальноприйнятою методикою. Ультратонкі зрізи, товщиною 50 – 70 нм, контрастували в уранілацетаті і цитраті свинцю, вивчали в електронному мікроскопі JEM-100 CX (Японія).

Ультраструктурні дослідження зони CA1 гіпокампу через 15 хв після оклюзії не виявили жодних змін в сомі ней-

ронів, однак в дендритах і синаптичних терміналях зрідка спостерігались округлі вакуолі з електроннопрозорим вмістом, які, перш за все, є розширеними цистернами ендоплазматичного ретикулу. Після 2-годинного інтервалу після ішемії наростала вакуолізація в терміналях у вигляді множинних мембранних структур неправильної форми (рис. 1а)

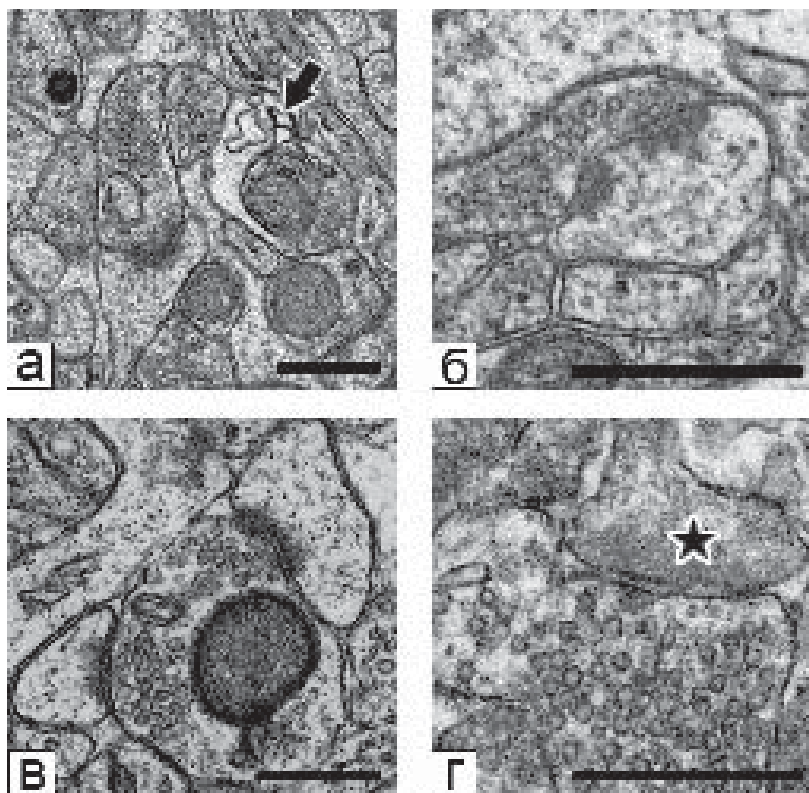


Рис. 1. Ультраструктура фрагментів нейропіля зони CA1 гіпокампу через 2 год (а, б, в) та 7 днів (г) після 15-хвилинної ішемії: а – поява мембранних структур (стрілка) в синаптичних терміналях; б) перфорований синапс; в) мультисинапс; г) потовщення та розшарування постсинаптичного ущільнення (зірочка). Шкала – 1мкм.

Змін в мітохондріальному апараті не спостерігалось, окрім незначного просвітлення матриксу та розширення міжкристних проміжків. Через 24 год після оклюзії виявлялись помірні зміни в пірамідних нейронах зони CA1 гіпокампу, які виявлялись у просвітленні цитоплазми нейронів внаслідок їх набрякання та початкових проявів порушення структури мітохондрій. Порушення білкового та ліпідного обміну проявлялось у деяких нейронах у вигляді фрагментації та вакуолізації ендоплазматичного ретикулу та накопичення гранул ліпофусцину внаслідок порушення обміну ненасичених жирних кислот. Ці зміни вказують на недостатність енергетичного забезпечення нейронів, викликану ішемією. Після першої доби звертало на себе увагу значне просвітлення дендритів та дендритних шипиків, що може бути пов'язане з їх набряканням. Часто зустрічались вакуолярні структури, частіше в дендритах і шипиках, ніж в пресинаптичних терміналях.

Із збільшенням постішемичного терміну з третьою по сьому добу в нейронах наростали явища деструкції – вакуолізація цитоплазми, значна осміофілія ядра та цитоплазми. Мембрани, як плазматичні, так і цитоплазматичні, руйнувались, відбувався лізис органел, і такі некробіотичні зміни призводили до загибелі нейронів. З третьої доби чітко простежувались активація мікрогліальних клітин, які накопичувались навколо дегенеруючих нейронів та периваскулярно. В гліальних клітинах відмічались активація лізо-

сомального апарату, локальний набряк цитоплазми, чітко виявлялась участь мікроглії в поглинанні та розщепленні дегенеруючих залишків нейронів. На сьому добу постішемичного періоду зустрічались також апоптотичні зміни нейронів у вигляді фрагментації їх ядер з утворенням апоптотичних тілець. В мікросудинах виявлявся прогресуючий з часом периваскулярний набряк структур, що складають гематоенцефалічний бар'єр, головним чином, астроцитарних відростків.

Таким чином, в проведених дослідженнях встановлено, що при 15-хвилинному терміні оклюзії та наступній постішемичній реперфузії в зоні CA1 гіпокампу розгорталось повільне, але прогресуюче, відставлене у часі, ураження нейронів. І хоча нейрони цієї зони в цілому підтримували свою структурну цілісність протягом першої доби після ішемичного впливу, вже на ранній стадії були помічені очевидні зміни на ультраструктурному рівні в синапсах.

Для виявлення змін, які з'являються першими в ультраструктурі нейронів та синаптичних терміналей в stratum radiatum CA1 зони гіпокампу в умовах ішемії-реперфузії на мікрофотографіях проводили морфометричний аналіз синапсів з чіткою вирізняюванню постсинаптичного ущільнення. Підраховували загальну кількість синапсів на одиницю площі зрізу та відносну кількість різних типів синапсів: а) простих (рис. 1а), б) перфорованих (з наявністю однієї або більше переривчастостей в постсинаптичному

ущільненні (ПСУ), (рис. 1б) [3] та в) множинних (чи мультисинапсів, рис. 1в) при наявності двох та більше окремих дендритних шипиків, які контактують з однією термінальною [13].

Через 2 год після ішемії вірогідно зменшувалась загальна кількість синапсів на одиницю площі, з подальшим прогресуючим зниженням цього показника до 7-ї доби (рис. 2).

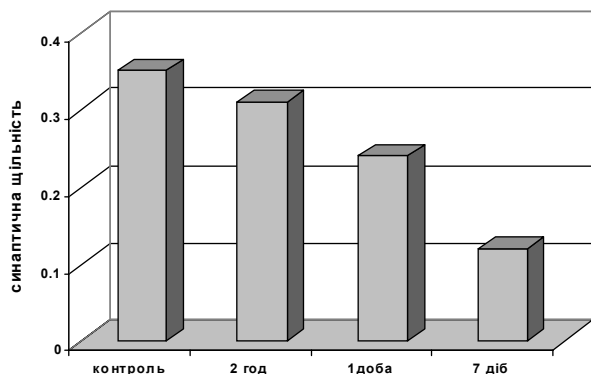


Рис. 2. Синаптична щільність (кількість синапсів на 100 мкм²) в stratum radiatum CA1 зони гіпокампу в різні строки після 15-хвилинної ішемії.

Привертають до себе увагу ранні зміни в структурній організації синаптичних контактів в умовах ішемії, а саме: чітке збільшення відносної кількості синапсів з перфорованим ПСУ вже на 15-й хвилині реперфузії, яке продовжувало далі зростати. Крім того, збільшувалась частка множинних синапсів через 2 год реперфузії і знову поверталась до попередніх значень через 24 год після ішемії. Тобто, змінювалось співвідношення типів синапсів у бік перфорованих та мультисинапсів. Недавніми дослідженнями було показано, що синапси в певних умовах проявляють високий рівень функціональної та структурної пластичності [6]. Висловлюють думку, що перфоровані синапси можуть бути більш ефективними для синаптичної передачі, ніж прості [1]. Форма дендритних шипиків може змінюватись при змінах концентрації внутрішньоклітинного кальцію [12], а при індукції LTP можливе утворення нових типів синапсів [2, 14].

Крім того, у синапсах після ішемії нами було виявлено виражене збільшення товщини ПСУ, в якому містяться молекулярні комплекси, які здійснюють рецепторну та сигнальну функцію при отриманні і передачі синаптичних сигналів у постсинаптичний нейрон. На 7 добу постішемичного періоду ми спостерігали максимальне потовщення і дифузне розшарування ПСУ. Доведено, що викликане ішемією збільшення внутрішньоклітинного кальцію і продукція вільних радикалів активує протеази і в результаті руйнує білки, зв'язані з ПСУ, крім того, відщеплені білки можуть агрегуватись і змінювати структуру ПСУ, роблячи його більш дифузним [10], що ми і спостерігали в наших дослідженнях.

Можна припустити, що відмічені нами ранні ультраструктурні зміни в синапсах після ішемії-реперфузії можуть створювати сигнал, який може прогресивно поширюватись ретроградно від синапсів до клітинного тіла [7] і там, з часом, викликати чи сприяти виникненню відстроченої нейрональної смерті в постішемичному періоді.

ВИСНОВКИ 1. Проведені дослідження свідчать про те, що ранні прояви порушень в нервовій тканині при ішемичному впливі в зоні CA1 гіпокампу відбуваються в синаптичних терміналях, що виявляється у перерозподілі форм синаптичних терміналей та у збільшенні величини ПСУ. 2. Одержані дані свідчать про високу ступінь синаптичної пластичності мозку при пошкодуючій дії ішемії-реперфузії. Цілком можливо, що вказані особливості нервової тканини, які виявляються в ранні строки постішемичного періоду, можуть мати вирішальне значення в наступній відстроченій загибелі нейронів.

Література

1. Edwards F.A. Anatomy and electrophysiology of fast central synapses lead to a structural model for long term potentiation // *Physiol. Rev.* – 1995. – 75. – P. 759-787.
2. Engert F., Bonhoeffer T. Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity // *Nature.* – 1999. – 399. – P. 66-70.
3. Geinisman Y., Morrell F., de Toledo-Morrell L. Axospinous synapses with segmented postsynaptic densities: a morphologically distinct synaptic subtype contributing to the number of profiles of "perforated" synapses visualized in random sections // *Brain Res.* – 1987. – 423. – P. 179-188.
4. Kirino T. Delayed neuronal death // *Neuropathology.* – 2000. – 20. – P. S95-S97.
5. Kirino T., Tamura A., Sano K. Selective vulnerability of the hippocampus to ischemia – reversible and irreversible types of ischemic cell damage // *Progress in Brain Res.* – 1985. – 63. – P. 39-58.
6. Luscher C., Nicoll R.A., Malenka R.C., Muller D. Synaptic plasticity and dynamic modulation of the postsynaptic membrane // *Nature Neuroscience.* – 2000. – 3. – P. 545-550.
7. Martone M.E., Jones Y.Z., Young S.J., Ellisman M.H., Zivin J.A., Hu B.-R. Modification of postsynaptic densities after transient cerebral ischemia: a quantitative and three-dimensional ultrastructural study // *J. Neurosci.* – 1999. – V. 19. – №6. – P. 1988-1997.
8. Nitatori T., Sato N., Waguri S., Karasawa Y., Araki H., Shibana K., Kominami E., Uchiyama Y. Delayed neuronal death in the CA1 pyramidal cell layer of the gerbil hippocampus following transient ischemia is apoptosis // *J. Neuroscience.* – 1995. – 15, № 2. – P. 1001-1011.
9. Pulsinelli W. A., Brierley J. B. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat // *Stroke.* – 1979. – 10, № 4. – P. 267-272.
10. Robert-Lewis J.M., Savage M.J., Marcy V.R., Pinsker I.R., Simon R. Immunolocalization of calpain I-mediated spectrin degradation to vulnerable neurons in the ischemic gerbil brain // *J. Neurosci.* – 1994. – 14. – P. 3934-3944.
11. Schmidt-Kastner R., Freund T. F. Selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia. // *Neuroscience.* – 1991. – 40, 3. – P. 599-636.
12. Segal I., Korkotian I., Murphy D.D. Dendritic spine formation and pruning: common cellular mechanisms? // *Trends Neuroscience.* – 2000. – 23. – P. 53-57.
13. Sorra K.E., Harris K.M. Occurrence and three-dimensional structure of multiple synapses between individual radiatum axons and their target pyramidal cells in hippocampal area CA1 // *J. Neuroscience.* – 1993. – 13. – P. 3736-3748.
14. Toni N., Buchs P.A., Nikonenko I.R., Bron C.R., Muller D. LTP promotes formation of multiple spine synapses between a single axon terminal and a dendrite // *Nature.* – 1999. – 402. – P. 421-425.

МИОКАРД – ЯК ФУНКЦІОНАЛЬНО НЕОДНОРІДНА СТРУКТУРА

Дніпропетровська державна медична академія

МИОКАРД – ЯК ФУНКЦІОНАЛЬНО НЕОДНОРІДНА СТРУКТУРА – з використанням комплексу морфологічних методик вивчена структурна організація міокарда в аспекті гетероморфної його будови. Встановлено, що розвиток структури міокарда впродовж онтогенезу зазнає змін, пов'язаних із забезпеченням основної функції серця, тобто процесу скорочення. Виявлено, що в пренатальному онтогенезі формується компактний і трабекулярний шари міокарда. Співвідношення їх впродовж онтогенезу значно змінюється. При цьому механізм утворення декількох шарів папілярно-трабекулярного апарату пояснюється наявністю так званих процесів делямінації, тобто відщеплювання пластинок міокарда, розташованих в 2-3 шари. Нерівномірний розподіл делямінаційної пластинки може привести до формування аномальних сухожилкових струн, які утворюються з кардіальних клітин і ендокардіальних подушок.

МИОКАРД – КАК ФУНКЦИОНАЛЬНО НЕОДНОРОДНАЯ СТРУКТУРА – с использованием комплекса морфологических методик изучена структурная организация миокарда в аспекте гетероморфного его строения. Установлено, что становление структуры миокарда на протяжении онтогенеза претерпевает изменения, связанные с обеспечением основной функции сердца, то есть процесса сокращения. Выявлено, что в пренатальном онтогенезе формируется компактный и трабекулярный слои миокарда. Соотношение их на протяжении онтогенеза значительно меняется. При этом механизм образования нескольких слоев папиллярно-трабекулярного аппарата, объясняется наличием так называемых процессов деляминации, то есть отщеплением пластинок миокарда, расположенных в 2-3 слоя. Неравномерное деление деляминационной пластинки может привести к формированию аномальных сухожильных хорд, которые образуются из кардиальных клеток и эндокардиальных подушек.

MYOCARDIUM AS A FUNCTIONAL HETEROGENEOUS STRUCTURE – The structural organization of myocardium in the aspect of its heterogeneity was studied by using of complex of morphological methods. It was determined that the development structure of myocardium during ontogenesis undergoes the changes due to providing the basic function of heart, that is the contractility process. The compact and trabecular layers of myocardium is formed during prenatal ontogenesis. Their ratio changes considerably during ontogenesis. The mechanism of formation of few layers of papillary-trabecular apparatus is explained by the presence of the so-called processes of delamination, that is separation of myocardial plates, located in 2-3 layers. The irregular distribution of delamination plate can result in formation of anomalous chordae tendineae which appear from cardiac muscle cells and endocardial cushions.

Ключевые слова: миокард, онтогенез.

Ключові слова: міокард, онтогенез.

Key words: myocardium, ontogenesis.

ВСТУП Міокард як оболонка серцевої стінки забезпечує скоротливу функцію серця в цілому. Останнім часом доведено, що робота серця, його міокарда пов'язана не тільки із забезпеченням систоли, але й діастоли. При порушенні функції серцевої стінки, виникає різна патологія і, зокрема, серцева недостатність. Відомо, що серцева стінка достатньо неоднорідна як за структурою, так і за функцією. Структура міокарда зазнає зміни впродовж всього періоду онтогенезу, забезпечуючи оптимальність геометрії скорочення. З віком так само міняється співвідношення товщини компактного і трабекулярного апарату. Кількість досліджень останніх років, присвячених міокарду, його структурній організації, особливостям розташування його м'язових пучків в нормі і при патології збільшується [1,2,3,4]. У зв'язку з цим, вивчення формування міокарда є актуальним.

Метою дослідження було вивчення особливостей формування міокарда в онтогенезі.

МАТЕРІАЛИ МЕТОДИ для роботи послужили серця плодів і людей різного віку (73), на яких з використанням комплексу морфологічних (препарування, забарвлення гістологічних зрізів), статистичних методик вивчена структурна організація міокарда.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Стінка серця і його перегородок були представлені всіма

видами тканин, включаючи м'язову (міокард), сполучну, епітеліальну і нервову. Взаємостосунки між цими тканинами і їх клітинними елементами в різних ділянках серцевої стінки були неоднакові. Це обумовлено функціональними особливостями відділів серця, які дозволяють забезпечити оптимальну гемодинаміку, процеси скоротливості, функціональну неоднорідність міокарда.

М'язова тканина (міокард) стінки серця на різних рівнях організації представляє топологічно і структурно різні утворення. Окремі кардіоміоцити за рахунок ендомізії з'єднуються між собою як в тангенціальній площині серцевої стінки, так і за товщиною і утворюють м'язові пластини (рис). Товщина цих пластин коливається від 25 до 36 мкм і була представлена 4-5 шарами кардіоміоцитів. Ці пластини починаються від фіброзних кілець і сполучнотканинних елементів субендокардіального шару. Дослідити закінчення цих пластин досить складно, оскільки ряд з них на певному рівні може переходити в глибокі шари стінки серця або закінчуватися в ділянці верхівки серця. У товщі міокардіальних пластинок розташовуються капіляри і інші ланки мікроциркуляторного русла, які формують ділянки певної конфігурації. Міокардіальні пластинки за товщиною серцевої стінки об'єднуються в більш великі утворення – шари міокарда. Це об'єднання відбувається за рахунок перемісія м'язових пластинок. Перемізія, як і ендомізії був

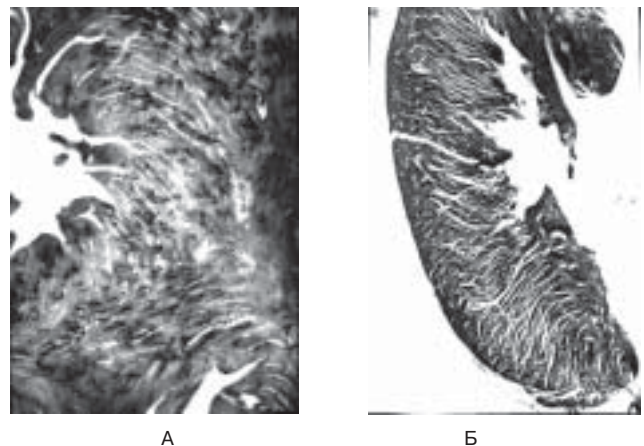


Рис. Міокардіальні пластинки серцевої стінки на поперечному (А) та вертикальному (Б) зрізах. 36.х 2.

представлений сполучною тканиною, проте кількість її значно більша. Простори між шарами міокарда значно більші і заповнені клітинами сполучної тканини, кровоносними і лімфатичними судинами. За даними ряду авторів перемізія між шарами міокарда виконує роль діелектрика, забезпечуючи певну етапність скорочення міокарда. Шари міокарда (внутрішній, середній, зовнішній) об'єднуються в більш велику структуру – м'язову оболонку стінки серця. Така форма взаємовідношення між кардіоміоцитами була характерна для стінки лівого і правого шлуночків. У стінці передсердя зберігається описана вище ієрархія цих взаємостосунків, проте товщина і вираженість їх різна. М'язова оболонка шлуночків і передсердя оточена епікардом і ендокардом. Між епікардом і м'язовою оболонкою утворюється субепікардіальний простір, який заповнений жировими елементами і крупними судинами. Форма і розміри субепікардіального простору різні і пов'язані з рівнем перетину, відділу стінки серця. Дещо інші взаємостосунки між шара-

ми, оболонками простежуються в міжшлуночкової і міжпередсердній перегородці. Проте ці взаємостосунки різні впродовж онтогенезу.

В ембріональному і ранньому плодовому періодах міокардіальні пластини представлені одним-двома шарами кардіоміоцитів, кількість яких протягом розвитку збільшується. Спочатку формуються міокардіальні пластини з 3-4 шарів кардіоміоцитів, в подальшому міокардіальні пластини об'єднуються в шари м'язової оболонки стінки серця. Спрямованість м'язових пластин впродовж ембріогенезу і плодового періоду змінюється від поздовжнього до косоного і поперечного напрямку. Достатньо рано здійснюються процеси компактизації міокарда, які можуть закінчуватися процесами делямінації, тобто появою первинних щілин в серцевій стінці і відщеплюванням окремих пучків міокарда. Компактний міокард зберігається більше в поверхневих шарах, внутрішній шар утворюється за рахунок делямінаційних пластинок, розташованих у ряді випадків в 2-3 шари. Спрямованість м'язових волокон в делямінаційних пластинках різна, що і обумовлює складну структуру папілярно-трабекулярного апарату.

В постнатальному онтогенезі загальна картина внутрішнього рельєфу камер серця зберігається. У літньому і старечому віці частка папілярно-трабекулярного апарату збільшується, частка компактного міокарда зменшується.

ВИСНОВКИ і перспективи подальших досліджень. Таким чином, одержані результати повторюють дані інших авторів і уточнюють особливості будови міокарда в різні вікові періоди. Делямінація серцевої стінки в ембріональному і ранньому плодовому періоді приводить до формування не тільки клапанного, але й трабекулярного апарату. Важливим питанням є встановлення механізму розвитку аномально розташованих сухожилкових струн, папілярних м'язів і інших структур, які формують внутрішній рельєф камер серця.

ЛІТЕРАТУРА

1. Морфология развивающегося сердца / В.А.Козлов, И.В.Твердохлеб, И.С.Шпилько, В.Д.Мишалов. - Днепропетровск, 1995. - 220 с.
2. Твердохлеб И.В. Гетерогенность митохондриального аппарата миокарда и механизмы ее формирования в раннем онтогенезе крыс / Сб. научных работ «Актуальные вопросы морфологии сердца». - Днепропетровск, 1996. - С.118-125.
3. The structure and function of the helical heart and its buttress wrapping. I. The normal macroscopic structure of the heart / F. Torrent-Guasp, G.D. Buckberg, C. Clemente, J.L. Cox, H.C. Coghlan, M. Gharib // Semin. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 2001. – Vol. 13, № 4. – P. 301-319.
4. Towards new understanding of the heart structure and function / F. Torrent-Guasp, Mladen J. Kocica, Antonio F. Corno, Masashi Komeda, Francesc Carreras-Costa, A. Flotats, Juan Cosin-Aguillar, Han Wen // Eur. J. Cardiothorac. Surg. – 2005. – Vol. 27. – P. 191-201.

Кочмарь М.Ю., Гербут А.О., Калинюк І.Г., Попович Ф.А. ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІМФОЇДНИХ СТРУКТУР СТРАВОХОДУ, ШЛУНКА ТА СЕЛЕЗІНКИ У СТАТЕВОЗРІЛИХ БІЛИХ ЩУРІВ

Ужгородський національний університет

ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІМФОЇДНИХ СТРУКТУР СТРАВОХОДУ, ШЛУНКА ТА СЕЛЕЗІНКИ У СТАТЕВОЗРІЛИХ БІЛИХ ЩУРІВ – В експерименті на білих статевозрілих щурах-самцях гистоморфометричним методом вивчено топографію, розміри та цитоархітектоніку лімфоїдних утворень стравоходу, шлунка та селезінки в нормі.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІМФОЇДНИХ СТРУКТУР ПИЩЕВОДА, ЖЕЛУДКА І СЕЛЕЗІНКИ У ПОЛОВОЗРЕЛЫХ БЕЛЫХ КРЫС – В експерименті на білих половозрелих крысах-самцях гистоморфометрическим методом изучено топографію, размеры и цитоархитектонику лимфоидных образований пищевода, желудка и селезенки в норме.

CHARACTERISTICS OF LYMPHOID FORMATION OF ESOPHAGEAL, STOMACH AND LIEN OF WHITE MATURE RATS – In the experiment on white mature rats by histomorphological methods studied topography, size and cytoarchitectonic of lymphoid formation of esophageal, stomach and lien in norm.

Ключові слова: стравохід, шлунок, селезінка, лімфоїдні утворення, біла пульпа, лімфоїдні вузлики, білі щурі.

Ключевые слова: пищевод, желудок, селезенка, лимфоидные образования, белая пульпа, лимфоидные узелки, белые крысы.

Key words: esophageal, stomach, lien, lymphoid formation, white pulp, lymphoid nodules, white rats.

ВСТУП Катастрофічне забруднення зовнішнього середовища різноманітними хімічними факторами, особливо за останні роки, призвело до значного зростання захворюваності людей. Деякі патологічні стани супроводжуються адекватною реакцією органів і систем на дію шкідливих чинників. Особливу захисну роль відіграє лімфатична система, яка формує імунну відповідь на проникнення в організм різних антигенів і токсинів. Ці процеси викликають структурну перебудову та порушення функцій як первинних, так і вторинних лімфоїдних органів.

Незважаючи на успіхи теоретичної та клінічної імунології [1,7,8,11,13], ще недостатньо вивчені закономірності перебудови структурних компонентів вторинних лімфоїд-

них органів, зокрема, лімфоїдних утворень слизової оболонки органів травної системи, селезінки тощо.

Метою нашого дослідження є вивчення цитоархітектоніки лімфоїдних утворень білої пульпи селезінки та слизової оболонки стравоходу і шлунка статевозрілих білих щурів у нормі. Дані нашого дослідження можуть служити основою для порівняння із структурними змінами при деяких патологічних станах, зокрема, пов'язаних із захворюванням печінки.

Нами обрано саме ці об'єкти, бо вони тісно пов'язані з особливостями відтоку венозної крові у систему ворітної печінкової вени.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Дослідження проведено на 10 білих безпородних статевозрілих щурах-самцях віком 6 місяців. Догляд за тваринами та всі маніпуляції над ними проводили відповідно до вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985 рік). Об'єктом дослідження були зразки черевної частини стравоходу та різних відділів шлунка, а також селезінка. Забір матеріалу проводили відразу після декапітації щурів, що перебували під ефірним наркозом. Матеріал фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну, зневоднювали у спиртах висхідних концентрацій і заливали у парафінові блоки. Гістологічні зрізи товщиною 5-7 мкм фарбували гематоксилін-еозином і азур – II – еозином.

На гістологічних препаратах на площі 625 мкм² кожної частини шлунка морфометричним методом за допомогою морфометричної сітки №3/16 С.Б.Стефанова [12] вивчали щільність клітинних елементів у лімфоїдних структурах слизової оболонки черевної частини, а також відносні площі та клітинний склад структурних компонентів білої пульпи селезінки. Розміри лімфоїдних вуз-

ликів вимірювали окулярмікрометром при збільшенні мікроскопа $\times 150$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Лімфоїдна тканина слизової оболонки стравоходу та шлунка здійснює контроль та захист стінок даних органів і бере участь у формуванні імунної реакції – відповіді на проникнення різних антигенів з їжею. В зв'язку з різною тривалістю контакту слизової оболонки даних органів з їжею, спостерігається і різниця у будові їх лімфоїдних структур.

Лімфоїдні утворення у слизовій оболонці черевного відділу стравоходу білих щурів-самців представлені переважно дифузно розташованими лімфоїдними клітинами у один або два ряди у вигляді ланцюжків. На рівні діафрагмового звуження лише у двох випадках (20 %) ми спостерігали щільні лімфоїдні скупчення без чітких контурів і без центрів розмноження – це лімфоїдні передвузлики. Передвузлики мають видовжену форму, в яких поздовжні розміри переважають над поперечними. Поперечні розміри передвузликів становлять в середньому $86,6 \pm 1,02$ мкм. Поздовжня вісь передвузликів розташована вздовж стінки органа, паралельно до м'язової пластинки слизової оболонки. Серед лімфоїдних клітинних елементів як дифузно розміщених, так і у складі передвузликів, переважають малі лімфоцити та поодинокі плазмцити. Відсутність великої кількості лімфоїдних передвузликів та вузликів свідчать про короточасну дію антигенів у складі їжі на поверхню слизової оболонки стравоходу [5,9,10,14].

Лімфоїдні утворення шлунка представлені скупченнями лімфоїдних клітин, в основному, у товщі слизової оболонки органа, між дном шлункових залоз і м'язовою пластинкою. Серед лімфоїдних утворень виділяють дифузну лімфоїдну тканину, передвузлики і лімфоїдні вузлики, які утворюють першу лінію захисту від проникнення антигенів в організм [4,6].

Найбільш диференційованими структурами є лімфоїдні вузлики. Вони мають різну форму та розміри і розташовані у всіх частинах шлунка білих щурів. У слизовій оболонці кардіальної частини шлунка переважають вузлики овальної форми, поперечний розмір яких становить $134,3 \pm 2,46$ мкм, а в підслизовій основі вузлики дещо крупніші середні поперечні розміри їх становлять $412,2 \pm 1,86$ мкм. На рівні дна шлунка щурів, (що відповідає тілу шлунка людини) кількість лімфоїдних вузликів збільшується на одиницю площі. Вони полігональної форми (овальної, круглої, трикутної), поперечний розмір їх становить в середньому $156,4 \pm 2,10$ мкм.

Найбільше сконцентровано лімфоїдних вузликів у воротарній частині шлунка, де крім малих вузликів є багато середніх (поперечний розмір $532,2 \pm 3,48$ мкм) та великих (поперечний розмір доходить до 1200 мкм) лімфоїдних вузликів, що свідчить про найбільшу функціональну активність лімфоїдної тканини шлунка саме в цьому відділі.

Серед клітинних елементів лімфоїдних вузликів переважають малі лімфоцити ($77,4 \pm 1,03$ %), щільність яких на одиницю площі найбільша у воротарній частині шлунка, а найменша – у кардіальній частині.

Дифузна лімфоїдна тканина представлена різного роду імунокомпетентними клітинами, які розташовані в глибині власної пластинки слизової оболонки у всіх частинах шлунка. Лімфоїдні клітини утворюють ланцюжки, орієнтовані паралельно до м'язової пластинки, які розташовані у 2-4 ряди. Більше скупчення лімфоїдних передвузликів без чітких контурів, переважно видовженої форми.

Клітинний склад дифузної лімфоїдної тканини та передвузликів представлений в основному малими лімфоцитами (близько 62 %). Серед інших клітин переважають середні лімфоцити (приблизно 12 %) та плазмцити (близько 9 %). Поодинокими є великі лімфоцити, макрофаготи та базофільні гранулоцити. Причому, щільність даних клітин зростає в напрямку від входу в шлунок до його виходу.

Лімфоїдний компонент селезінки, як єдиного вторинного органа імунної системи, розташованого по ходу судинної системи, представлений білою пульпою, відносна площа якої у статевозрілих білих щурів становить від $11,40 \pm 0,24$ % до $20,31 \pm 0,36$ % [2, 3].

Серед структурних компонентів білої пульпи селезінки найбільшу відносну площу займають мантийна та крайова зона лімфоїдних вузликів, що становлять $10,76 \pm 0,56$ % від загальної площі селезінки, або $61,03 \pm 1,12$ % від загальної площі білої пульпи.

Відносна площа світлих центрів лімфоїдних вузликів, що характеризують інтенсивність процесів проліферації у вузликах, у статевозрілих білих щурів становить $2,63 \pm 0,13$ % від загальної площі селезінки або $12,95 \pm 0,86$ % від загальної площі білої пульпи. Аналогічні показники відносної площі характерні і для центральних артерій білої пульпи.

Відносна площа періартеріальної піхви, що входить до складу білої пульпи селезінки, становить $4,04 \pm 1,16$ % від загальної площі селезінки, або $19,91 \pm 1,67$ % від загальної площі білої пульпи.

Клітинний склад лімфоїдних вузликів білої пульпи селезінки представлений малими і середніми лімфоцитами та поодинокими великими (бластними) лімфоцитами. В періартеріальній зоні білої пульпи селезінки переважають малі лімфоцити, які становлять $78,0 \pm 0,68$ %.

ВИСНОВКИ 1. Лімфоїдні утворення черевної частини стравоходу статевозрілих білих щурів представлені дифузною розташованими лімфоїдними клітинами та поодинокими лімфоїдними передвузликами. 2. Лімфоїдні утворення шлунка представлені дифузною лімфоїдною тканиною, передвузликами та лімфоїдними вузликами, щільність яких збільшується від кардіальної частини до воротарної частини шлунка. 3. Серед структурних компонентів білої пульпи селезінки статевозрілих білих щурів найбільш розвиненими є мантийна та крайова зони, відносна площа яких становить $61,03 \pm 1,12$ % від загальної площі білої пульпи. Відносна площа світлих центрів лімфоїдних вузликів становить $12,95 \pm 0,86$ % від загальної площі білої пульпи селезінки.

4. Серед клітин лімфоїдного ряду лімфоїдних структур стравоходу, шлунка та селезінки переважають малі лімфоцити.

ЛІТЕРАТУРА

1. Быкова В.П. Лимфоэпителиальные органы в системе местного иммунитета слизистых оболочек. // Арх. патол. – 1995. – Т.57, №1. – С.11-15.
2. Гербут А.О. Порівняльна характеристика відносних площ структурних компонентів селезінки у білих щурів у нормі у віковому аспекті // Науковий вісник Ужгородського університету, серія „Медицина”. – 2005. – Вип.24 – С.9-11.
3. Головацький А.С., Кочмарь М.Ю., Гербут А.О. Характеристика структурних компонентів селезінки у статевозрілих білих щурів // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. Збірник наукових статей. – Запоріжжя, 2003. – Вип.ХІ. – С.34-37.
4. Головацький А.С., Палапа В.Й. Особенности цитоархитектоники лимфоидных структур желудка человека в постнатальном онтогенезе // Ангиология и сосудистая хирургия. – М., 1995. – №2. – С.113-115.
5. Иванова Е.А., Билич Г.Л. Структурные характеристики лимфоидных образований зоны перехода пищевода в желудок // Морфология. – 2002. – Т.121, №2-3. – С.58.
6. Калинюк І.Г. Порівняльна характеристика клітинного складу лімфоїдних структур різних частин шлунка білих статевозрілих щурів // Науковий вісник Ужгородського університету, серія „Медицина”. – 2005. – Вип.24. – С.14-18.
7. Криштофорова Б.В., Лемещенко В.В., Грабчак Ж.Г. Структурно-функциональные особенности органов кроветворения и иммунной защиты у зрелорождающих новорожденных млекопитающих и птиц // Таврический медицинский вестник. – 2002. – Т.5, №3. – С.109-110.
8. Никитюк Д.Б. Взаимоотношение желез и лимфоидной ткани некоторых полых внутренних органов человека в различные возрастные периоды // Морфология. – 1998. – Т.113, №3 – 85 с.
9. Сапин М.Р. Лимфатическая система как важнейшая часть иммунной системы // Морфология. – 2000. – Т.117, №3 – С.106-107.

10. Сапин М.Р., Никитюк Д.Б. Иммуная система, стресс и иммунодефицит. – М.: АПП «Джангар», 2000. – 183с.

11. Сапин М.Р., Этинген Л.Е. Иммуная система человека. – М.: Медицина, 1996. – 304с.

12. Стефанов С.Б. Сравнение морфологических результатов по отношению кумулят // Арх.анат.- 1982.-Т.82, №3.-С.91-94.

13. Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Т. Иммунология М.: Медицина, 2002. – 430с.

14. Юшин Е.И., Чернышева О.Е., Кривушев Б.И. Динамика морфофункциональных изменений в иммунокомпетентных органах на фоне иммунотерапии // Буковинський медичний вісник. – 2001.- Т.5, №1-2.- С.190-191.

Лушнікова І.В., Маляревський П.Ю., Воронін К.Ю., Сможаник К.Г., Скибо Г.Г. МОДЕЛЮВАННЯ ІШЕМІЧНОГО УШКОДЖЕННЯ МОЗКУ НА КУЛЬТИВОВАНИХ ЗРІЗАХ ГІПОКАМПУ

Інститут фізіології ім.О.О.Богомольця НАН України, м.Київ

МОДЕЛЮВАННЯ ІШЕМІЧНОГО УШКОДЖЕННЯ МОЗКУ НА КУЛЬТИВОВАНИХ ЗРІЗАХ ГІПОКАМПУ – Моделювання ішемічного ушкодження мозку проводили на культивованих зрізах гіпокампу щурів за допомогою короткотривалої киснево-глюкозної депривації (КГД). Оцінювали морфологічні зміни (світлова мікроскопія) у СА1 зоні гіпокампу та досліджували механізми, пов'язані з глутаматною ексайтотоксичністю і активацією процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), задіяні у розвитку ушкодження клітин в умовах цієї моделі (оцінка життєздатності та рівня малонового діальдегіду (МДА) при дії МК-801 та U-74389G). Показано, що конденсація та набряклість СА1 нейронів спостерігаються через 1 годину після КГД та стають більш вираженими через 4 години. Встановлено, що, в умовах даної експериментальної моделі, у розвитку ушкодження клітин культивованих зрізів гіпокампу задіяні механізми пов'язані з дією як глутамату, так і вільних радикалів. Використана модель дозволяє вивчати тонкі механізми розвитку ішемічного ушкодження нервових клітин та проводити тестування фармакологічних засобів, спрямованих на корекцію нейродегенеративних порушень.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МОЗГА НА КУЛЬТИВИРОВАННЫХ СРЕЗАХ ГИППОКАМПА – Моделирование ишемического повреждения проводили на культивированных срезах гиппокампа крыс с помощью кислород-глюкозной депривации (КГД). Оценивали морфологические изменения (световая микроскопия) в СА1 зоне гиппокампа и исследовали механизмы, связанные с глутаматной эксайтотоксичностью и активацией процессов перекисного окисления (ПОЛ), участвующие в развитии повреждения клеток в условиях этой модели (оценка жизнеспособности и уровня малонового диальдегида (МДА) при действии МК-801 и U-74389G). Показано, что конденсация и набухание СА1 нейронов наблюдается через 1 час после КГД и становятся более выраженными через 4 часа. Установлено, что, в условиях данной экспериментальной модели, в развитии повреждения клеток культивируемых срезов гиппокампа участвуют механизмы, связанные с действием как глутамата, так и свободных радикалов. Используемая модель позволяет изучать механизмы развития ишемического повреждения, а также тестировать фармакологические препараты, направленные на коррекцию нейродегенеративных повреждений.

MODELLING OF BRAIN ISCHEMIC DAMAGE ON CULTURED HIPPOCAMPAL SLICES – Modelling of brain ischemic damage was carried out on cultured rat hippocampal slices by oxygen-glucose deprivation (OGD). Morphological changes (light microscopy) in CA1 zone of the hippocampus was analyzed, glutamate and oxidizing mechanisms were investigated (the estimation of viability and lipid peroxidation at the MK-801 and U-74389G action). It was shown that the condensation and swelling of the CA1 neurons was observed in 1h after OGD and was strongly pronounced in 4h. It was determined that the glutamate and reactive oxygen species were enabled to cell ischemia damage in the present experimental model. The used model allows to study mechanisms of ischemic neuronal injury and to test pharmacological agents to correct cure neurodegenerative disorders.

Ключові слова: моделювання ішемічного ушкодження мозку, культивовані зрізи гіпокампу, киснево-глюкозна депривація.

Ключевые слова: моделирование ишемического повреждения мозга, культивированные срезы гиппокампа, кислородно-глюкозная депривация.

Key words: modelling of brain ischemia damage, hippocampal slice cultures, oxygen-glucose deprivation.

Проблема Функціонування головного мозку в цілому та всі специфічні для нервової тканини процеси (проведення нервового імпульсу, синаптогенез, зберігання і переробка інформації та ін.) знаходяться в тісній залежності від

рівня енергетичного обміну, який, перш за все, забезпечується надходженням кисню та глюкози з кровотоком. Будь-які порушення кровотоку неминуче призводять до пошкодження клітин мозку. Мозковий інсульт, що виникає внаслідок обмеженого надходження кисню та глюкози, є однією з причин пошкодження клітин та порушення функцій мозку. Згідно з даними ВООЗ, інсульт щорічно уражує в світі близько 20 млн. людей, з яких 5 млн вмирають [1].

Розуміння патогенезу ішемії мозку поступово поглиблювалось протягом останніх десятиріч. На сьогодні виділяють декілька основних молекулярних механізмів ішемічного ушкодження клітин мозку: глутаматна ексайтотоксичність, неконтрольоване збільшення в цитоплазмі нейронів концентрації іонів Ca²⁺, утворення вільних радикалів [2, 3, 4]. В результаті гіперактивації цих механізмів відбуваються численні деструктивні зміни клітин та їх загибель. Досі не знайдені ефективні засоби корекції нейродегенеративних станів, спричинених ішемією мозку. Вивчення особливостей розвитку та механізмів ушкодження головного мозку при ішемії тривають. Дослідження такої спрямованості є актуальними, вони націлені на можливість запобігання загибелі нервових клітин. Важливим завданням на цьому шляху є розробка адекватних та придатних для досліджень експериментальних моделей *in vitro*.

Мета роботи Метою даної роботи було виявлення морфологічних змін у СА1 зоні культивованих зрізах гіпокампу при моделюванні ішемічного ушкодження мозку за допомогою киснево-глюкозної депривації (КГД) та вивчення механізмів, що задіяні у розвитку ушкодження клітин в умовах цієї моделі.

ОСНОВНА ЧАСТИНА Об'єктом наших досліджень була обрана органотипова культура (культивовані зрізи) гіпокампу оскільки, як відомо, гіпокамп є найбільш чутливий до недостатку кисню та глюкози, що виникає при ішемії [6], а культивовані зрізи зберігають цитоархітектоніку тканини, типи клітин та шарів, первинні міжклітинні зв'язки, синаптичну організацію, розташування рецепторів, які сформовані в природних умовах [10].

Для одержання культур, в наших експериментах було використано 15 самок щурів лінії Вістар віком 7 діб. При виконанні роботи були дотримані міжнародні принципи Європейської конвенції про захист хребетних тварин. Умертвіння проводилося миттєвою декапітацією. Культивування зрізів гіпокампу проводили за методом Stoppini [5, 10] який запропонував вирощування тканинних зрізів на межі газового (повітря з 5 % CO₂ - інкубатор) та рідкого (50 % MEM, 25 % Хенкс, 25 % кінської сироватки) середовища, використовуючи спеціальні вкладники з напівпроникною мембраною. Зрізи товщиною 300-400 мкм були розміщені на мембрані, вкладники ставили в 6-лункові планшети, у яких знаходилося рідке поживне середовище. Культивування проводили у CO₂-інкубаторі, де підтримувалася постійна температура (35°C) та рівень вуглекислого газу (5 %). Зміна поживного середовища відбувається без механічно-

го пошкодження тканини двічі на тиждень. Протягом 12-14 днів культивування зрізи гіпокампу повністю очищувалися від клітин, пошкоджених під час виділення, та досягали стабільного стану. Морфологічна оцінка культивованих зрізів гіпокампу при нормальних умовах продемонструвала високу якість культур, що дозволило нам використовувати цей об'єкт у подальших дослідженнях.

Найчастіше для моделювання ішемічних умов *in vitro* використовують киснево-глюкозну депривацію (КГД) [7]. Для створення умов, подібних тим, що виникають у випадках ішемії мозку, ми розташували культури у спеціальній камері, де кисень повітря було замінено на азот, а у середовищі культивування глюкозу замінювали на сахарозу, яка не може бути використана клітинами для енергетичних потреб, але утримує осмолярність розчину. Нами була обрана короткотривала 10-хвилинна КГД, яка є не сильно руйнівною і дозволяє простежити зміни, що відбуваються у культивованих зрізах. Після КГД зрізи повертали до нормальних умов культивування та аналізували через 1 або 4 години, оскільки відомо, що ушкодження клітин відбувається не відразу, а зміни мають відстрочений характер [8, 9]. Оскільки відомо, що нейрони СА1 зони гіпокампу є найбільш чутливі до недостатку кисню та глюкози зоною гіпокампу, ми зосередили наші дослідження саме на цій зоні.

Морфологічну оцінку нейронів СА1 зони культивованих зрізів гіпокампу проводили за допомогою світлової мікроскопії після заключення в смолу (за загальноприйнятою методикою) та забарвлення метиленовим синім. При морфологічному аналізі контрольних зрізів СА1 зону склали неушкоджені нейрони пірамідальної форми з добре вираженими ядрами. Ушкодження проявлялося у двох основних формах: конденсації ядра і цитоплазми або загальної набрякlosti нейронів. За першу годину реоксигенації після 10 хв КГД кількість нормальних СА1 нейронів становила $79,62 \pm 0,3$ відносно загальної кількості клітин у зоні підрахунку фіксованого розміру ($97,35 \pm 0,88$ у контролі, $p < 0,001$) (рис. 1), кількість конденсованих клітин збільшувалася з $2,65 \pm 0,88$ у контролі до $18,04 \pm 0,3$ після КГД ($p < 0,001$), з'являлися набряклі клітини. Після 4 годин реоксигенації зміни у співвідношенні різних типів клітин були ще більш виражені: $25,49 \pm 3,6$ - нормальні ($p < 0,001$), $58,83 \pm 1,59$ - конденсовані ($p < 0,001$) та $15,68 \pm 1,64$ - набряклі ($p < 0,01$).

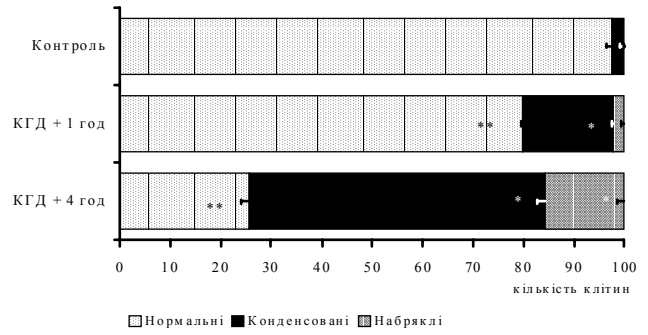
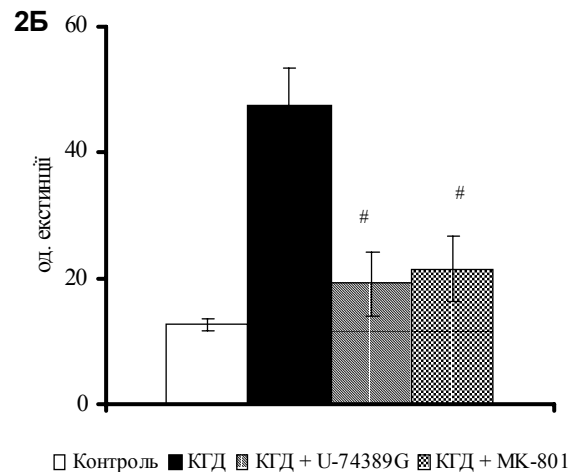
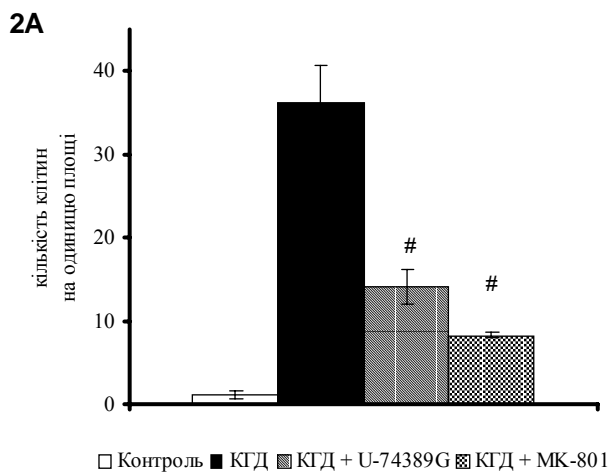


Рис.1. Аналіз співвідношення нормальних, конденсованих та набряклих СА1 нейронів культивованих зрізів гіпокампу після 10-хвилинної киснево-глюкозної депривації.

Відомо, що розвиток пошкодження мозку при ішемії пов'язаний з глутаматною ексайтотоксичністю та активацією процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) внаслідок дії вільних радикалів [1, 2, 3, 4]. Щоб оцінити наявність цих процесів в нашій моделі ішемічного ушкодження та їх вплив на життєздатність клітин органотипової культури гіпокампу в умовах КГД, нами були використані: антагоніст глутаматних рецепторів МК-801 та інгібітор ПОЛ (представник групи лазароїдів) — U-74389G. Оцінку стану культур проводили через 4 години після 10 хв КГД, вимірюючи кількість клітин, забарвлених вітальним барвником трипановим синім та рівень у культуральному середовищі малонового діальдегіду (МДА), одного з кінцевих продуктів перекисного окислення ліпідів.

За даними обчислення клітин, забарвлених вітальним барвником трипановим синім, у контрольних зрізах число ушкоджених нейронів було мінімальним. Через 4 год після 10 хв КГД їх кількість значно збільшувалася. Додавання у культуральне середовище МК-801 (10 мкМ) або U-74389G (25 мкМ) запобігало ушкодженню клітин (рис. 2А).

Оцінка рівня ПОЛ проводилася по накопиченню в культуральному середовищі малонового діальдегіду (МДА) через 4 години після КГД. Виявлено, що в умовах КГД перекисне окислення ліпідів значно підсилюється. Присутність U-74389G та МК-801 у культуральному середовищі перешкоджає посиленню ПОЛ (рис. 2Б).



* - $p < 0,01$ порівняно з контролем
- $p < 0,01$ порівняно з КГД

Рис. 2. А. Оцінка життєздатності клітин з допомогою вітального барвника трипанового синього в умовах 10-хвилинної КГД в присутності U-74389G та МК-801 Б. Оцінка кількості малонового діальдегіду (МДА) при дії U-74389G та МК-801 в умовах 10-хвилинної КГД (термін після КГД - 4 год).

Дані результати свідчать про наявність в умовах нашої моделі активації як глютаматної ексайтотоксичності, так і процесів ПОЛ та про їх непосредний вплив на розвиток ушкодження клітин при КГД.

ВИСНОВКИ Представлена експериментальна модель є дуже вдалою для вивчення динаміки та механізмів розвитку ушкодження нервових клітин в умовах нестачі кисню та глюкози, яка спостерігається при ішемії мозку, і може бути застосована для тестування нейропротекторних засобів.

Отримані дані демонструють, що 10 хв КГД призводить до поступового розвитку ушкодження СА1 нейронів. Морфологічні зміни (конденсація та набряклість СА1 нейронів) спостерігаються через годину реоксигенації та стають більш вираженими через 4 години.

Встановлено, що в умовах нашої експериментальної моделі у розвитку ішемічного ушкодження клітин культивованих зрізів гіпокампу задіяні механізми пов'язані з дією як глютамату, так і вільних радикалів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга: Монография. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.

2. Винничук С.М., Черенко Т.М. Ишемический инсульт: эволюция взглядов на стратегию лечения: Монография – К.: ООО Комполис, 2003. – 120 с.

3. Chan P.K. Cerebral Ischemia. – New Jersey, Totowa: Humana Press, 1999. – P. 105-125.

4. Dirnagl U., Iadecola C., Moskowitz M.A. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view // Trends Neurosci. – 1999. – Vol. 22, № 9. – P. 391-397.

5. Fedoroff S., Richardson A. Protocols for neural cell culture. – Totowa, New Jersey: Humana Press. – 2001. – P. 13-27.

6. Laake J., Haug F.M., Wieloch T., Ottersen O. A simple *in vitro* model of ischemia based on hippocampal slice cultures and propidium iodide fluorescence // Brain Res. Prot. – 1999. – 4. – P. 173-184.

7. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons // Physiol.Rev. – 1999. – 79, № 4. – P. 1431-1568.

8. Lushnikova I.V., Voronin K.Y., Malyarevskyy P.Y., Skibo G.G. Morphological and functional changes in rat hippocampal slice cultures after short-term oxygen-glucose deprivation // J. Cell. Mol. Med. – 2004. – Vol. 8, № 2. – P. 241-248.

9. Nikonenko I., Jourdain P., Muller D. Presynaptic remodeling contributes to activity-dependent synaptogenesis // J. Neurosci. – 2003. – Vol. 23, № 24. – P. 8498-8505.

10. Stoppini L., Buchs P.A., Muller D. A simple method for organotypic cultures of nervous tissue // J. Neurosci.Meth. – 1991. – 37, № 2. – P. 173-182.

Мардар Г.І., Трибовська С.В., Савчук Г.Г.

ДИНАМІКА ЗМІН МОРФОЛОГІЇ ПЕЧІНКИ ПРИ ДІЇ РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ (РВ) І СУМІШІ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ (СВМ)

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича

ДИНАМІКА ЗМІН МОРФОЛОГІЇ ПЕЧІНКИ ПРИ ДІЇ РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ (РВ) І СУМІШІ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ (СВМ) – При окремій і сумісній дії тотального одноразового рентгенівського опромінення (РО) в дозі 0,5 Гр і вживання суміші СВМ (PbCl₂, CuCl₂, ZnCl₂ в концентраціях 1 мг/л, 10 мг/л, 10 мг/л відповідно) на 2-у добу після опромінення і закінчення вживання СВМ зростала відносна маса печінки і залишалася такою на 20-у добу після поєднаної дії чинників. У мазках органа спостерігалось збільшення частки клітин з великими (< 7,50 мкм) і зменшення - з дрібними ядрами, тобто клітин мікроциркуляторного русла (МЦР). Ці зміни пов'язані з явищами дистрофії і компенсаторної гіпертрофії клітин і тривали в період від 2-ї до 20-ї доби.

ДИНАМІКА ИЗМЕНЕНИЙ МОРФОЛОГИИ ПЕЧЕНИ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ (РИ) И СМЕСИ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ (СТМ) – На фоне отдельного и совместного действия тотального одноразового рентгеновского облучения (РО) в дозе 0,5 Гр и употребления смеси СТМ (PbCl₂, CuCl₂, ZnCl₂ в концентрациях 1 мг/л, 10 мг/л 10 мг/л соответственно на протяжении одного месяца) на 2-е сутки после облучения и окончания приёма СТМ увеличилась относительная масса печени и оставалась такой на 20-е сутки после совместного действия факторов. В мазках органа наблюдалось увеличение процента клеток с большими (< 7,50 мкм) и уменьшение процента клеток с мелкими ядрами, то есть клеток микроциркуляторного русла (МЦР). Эти изменения сопряжены с явлениями дистрофии, компенсаторной гипертрофии и регенерации клеток и продолжались в период со 2-х до 20-ти суток.

DYNAMICS OF LIVER MORPHOLOGIC CHANGES AFTER ACTION OF ROENTGEN IRRADIATION (RI) AND HEAVY METALS SALTS MIXTURE – On the background of separate and joint action of single Roentgen irradiation (RI) of 0,5 Gr dose and using of PbCl₂, CuCl₂, and ZnCl₂ mixture (in concentration of 1 mg/l, 10 mg/l, 10 mg/l accordingly, with drinking water during one month) the relative liver mass increased on the second day and it remained the same on the 20th day after the joint action. In the smears of organ was observed the increase of percentage of cells with big nuclei (< 7,5 mm) and the decrease of percentage of cells with small nuclei that is cells of microcirculatory channel (MCC). These changes are connected with the phenomena of dystrophia, and compensated hypertrophy of cells. They lasted from the second to the 20th day.

Ключові слова: рентгенівське опромінення, солі важких металів, структура печінки.

Ключевые слова: рентгеновское облучение, соли тяжелых металлов, структура печени.

Key words: Roentgen irradiation, salts of heavy metals, structure of liver.

ВСТУП Зростання захворюваності населення України у зв'язку з дією малих доз радіації, забруднення довкілля СВМ [1,3,11] ставить дослідження реакції печінки на вплив даних антропогенних чинників в ряд актуальних проблем медицини і біології. Про це свідчить значне число наукових досліджень з їх розв'язання [4,5,6]. Проте динаміка реактивних структурних змін органа при поєднаній дії двох чинників (невисоких доз опромінення і малих концентрацій СВМ) досі маловивчена, хоч патологія печінки часто зустрічається в житті людей. **Метою** нашої роботи стало вивчення гістологічними методами динаміки (протягом 20-и діб) реакційних процесів у печінці за умов сумісної дії РВ і СВМ.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Досліди проводили на 128 статевозрілих самцях білих щурів з початковою масою 150-200 г. Усі тварини були розподілені на 4 групи по 32 щури в кожній групі. Тварин піддавали одноразовому рентгенівському опромінюванню в дозі 0,5 Гр за допомогою рентгенівського діагностичного апарата 12П6 ("Lachema", Чехія) за таких умов: напруга 90 кВ, сила струму 40 мА, фільтр 0,5 мм Cu, шкірно-фокусна відстань 48 см, потужність дози 0,258 мКл/с. Суміш СВМ (PbCl₂, CuCl₂, ZnCl₂ в концентраціях 1 мг/л, 10 мг/л 10 мг/л з розрахунку на метал відповідно, що становить 10 ГДК для води водних об'єктів) щури отримували з питною водою протягом одного місяця. Тварин кожної групи розбивали на 4 підгрупи (по 8 тварин) і умертвляли шляхом декапітації на 2-у, 4-у, 7-у та 20-у доби після опромінення, вилучаючи печінку. Індекс маси печінки розраховували за формулою: масу органа х 100 і ділили на масу тіла конкретної тварини. Шматочки з правої частки печінки фіксували за Карнуа. Вивчали особливості гістологічної будови органа. Окрім того, для морфометричного дослідження ядер гепатоцитів виготовляли мазки із паренхіми печінки, які після фіксації в 5 % фор-

маліні фарбували насиченим розчином метилового синього. За допомогою мікроскопа (при збільшенні об. 90, ок. 20) і окуляра мікрометра проводили морфометрію (вимірювання найбільшого діаметра ядер 100 гепатоцитів). Класифікували за розмірами і проводили розкладку їх на 7 груп, вираховували відсоток клітин кожної групи [7]. Статистичну обробку матеріалу проводили за комп'ютерною програмою "Statist" з використанням критерію t за Стьюдентом.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Як видно із таблиці 1 під впливом СВМ збільшувалася відносна маса печінки щурів на 2-у, 4-у і 7-у доби після припинення їх місячної дії. При окремій дії РВ і поєднаній з СВМ збільшення відносною маси печінки спостерігалось протягом усього дослідження. Можна передбачати, що це збільшення викликано зростанням кровонаповнення і набуханням структур печінки.

При гістологічному дослідженні препаратів печінки щурів за дії СВМ виявлена лімфоцитарна інфільтрація у ділянці порталних трактів. В цитоплазмі гепатоцитів - зернистість, велика кількість включень гемосидерину, який є показником токсичного впливу металів на печінку. Навколо ядер відмічався світлий обідок, вакуалізація цитоплазми. Велика частина клітин на тлі розрідженої цитоплазми містила пікнотичні ядра. Отже, в печінці інтоксикованих щурів спостерігалися явища дистрофії та дегенерації.

Після дії одноразового РО в усіх дослідках було відмічено наростання гіперхромії, гіпертрофії та деструкції ядер, вакуалізації й неоднорідності цитоплазми. Мембрана клітин місцями була пошкоджена, її контури слабвиражені. Синусоїдні капіляри відрізнялися неоднорідністю за діаметром. Деякі судини були дуже переповнені кров'ю. Відмічена виражена мозаїчність даних порушень.

Таблиця 1. Динаміка змін відносною маси печінки за умов дії одноразового РО і СВМ на щурів (M ± m), n=8

Умови дослідження	Відносна маса печінки залежно від строку після дії СВМ та РО			
	2-а доба	4-а доба	7-а доба	20-а доба
Контроль	3122± 55	3105± 56	3116± 54	3111±58
Метали	3878± 21***	3632± 40**	3433± 55*	2893±54
0,50 Гр	3907± 53**	3578±70*	3377±69*	3413± 92*
Метали +РО - 0,5 Гр	4115± 87**	3650±81*	3412±56*	3374± 32*

Примітка. * - P<0,05; ** - P< 0,01, *** - P< 0,01.

За умов поєднаній дії чинників стінки артеріальних судин порталних трактів часто були інфільтровані лімфоцитами. Спостерігалися мозаїчно розташовані ділянки деконплектації печінкових балок, які втратили свої тинкторіальні властивості, також відмічалися гіперхромність і неоднорідність цитоплазми, її вакуалізація, деструкція ядер і оболонки клітин та зменшення відсотка клітин з малими і збільшення - з великими ядрами. Наявність дистрофічних, дегенеративних і компенсаторно-гіпертрофічних змін в гепатоцитах свідчить про те, що дані зміни є суттєвими пристосувальними реакціями у відповідь органа на такі пошкодження.

На мазках клітин печінки ядра були розподілені за їх найбільшим діаметром і розташовані у міру їх збільшення (табл.2). Найменші ядра (2,5-3,74 мкм), які зустрічалися у

мазку, ми ототожнювали з ядрами клітин МЦР. В усі строки після окремої дії СВМ відмічали зменшення частки клітин з дрібними ядрами і одночасно – збільшення частки клітин з великими ядрами (<8,70 мкм).

При дії РО також зменшилася частка клітин з дрібними (2,5 - 3,74 мкм) ядрами (табл.3). Це явище чітко свідчить про високу чутливість даних клітин не лише до СВМ, а й до дії РВ. Стан клітин МЦР при дії різних шкідливих для організму чинників залишається малодослідженим. Однак відомо, що саме клітини МЦР володіють гепатопротекторними властивостями і потенціюють регенерацію гепатоцитів [12].

При дії опромінення в дозі 0,5 Гр на тлі зменшення частки клітин з дрібними ядрами спостерігали чітке збільшення кількості клітин з великими ядрами. На 4-у і 7-у доби

Таблиця 2. Розкладка ядер гепатоцитів щурів при дії СВМ (M ± m), n=8

Умови дослідження	Відсоток ядер залежно від їх розмірів						
	2,5-3,74 мкм	3,75-4,99 мкм	5,0-6,24 мкм	6,25-7,49 мкм	7,50-8,70 мкм	8,75-9,90 мкм	>9,91 мкм
Контроль	16,98±3,61	33,54±1,721	2,47±1,53	17,61±2,07	4,53±0,83	1,47±0,20	--
Метали 2-а доба	2,60±0,36**	14,16±3,90***	19,38±4,12*	24,44±3,24*	20,72±4,62**	12,32±1,44**	6,56±0,5932
Метали- 4-а доба	2,28±0,42**	12,71±1,96***	19,14±2,89**	29,42±3,20**	14,71±2,49**	12,28±3,84**	12,42±1,42
Метали- 7-а доба	5,28±1,80**	12,42±8,18	19,92±3,31	23,95±0,85	20,51±3,88	11,53±88	6,28±0,539
Метали-20-а доба	3,53±0,86***	12,83±4,71	19,18±7,83	24,79±2,97	18,88±0,48	12,68±0,86	8,11±2,46

Примітка. * - P<0,05; ** - P< 0,01, *** - P< 0,001.

Таблиця 3. Розкладка ядер гепатоцитів щурів при дії РО (M ± m), n=8

Умови дослідження	Відсоток ядер залежно від їх розмірів						
	2,5-3,74 мкм	3,75-4,99 мкм	5,0-6,24 мкм	6,25-7,49 мкм	7,50-8,70 мкм	8,75-9,90 мкм	>9,91 мкм
Контроль	16,98±3,61	33,54±1,721	24,70±1,53	17,61±2,07	4,53±0,83	1,47±0,20	--
0,5 Гр 2-а доба	3,03±1,46**	30,98±3,37	25,45±2,76	22,57±3,09	14,61±1,97**	3,54±0,70*	-
0,5 Гр 4-а доба	5,05±0,65**	24,22±1,56*	36,23±1,56*	11,69±1,75	20,52±2,11**	13,46±1,39*	-
0,5 Гр 7-а доба	4,54±1,54*	21,79±1,50*	23,60±0,51**	19,52±1,17	18,46±0,57**	12,11±1,58*	-
0,5 Гр 20-а доба	4,95±0,46**	33,41±2,19	26,49±0,62	12,9±0,92*	19,38±0,49**	1,9±3,28	-

Примітка. * - P<0,05; ** - P< 0,01.

відмічено зменшення відсотка гепатоцитів з середніми ядрами.

Отже, зменшення частки клітин з дрібними й середніми ядрами при постійному збільшенні частки клітин з ве-

ликими ядрами свідчить про пошкодження не лише клітин МЦР, а й гепатоцитів, у яких відбувалася гіпертрофія ядер.

Аналогічну розкладку ядер гепатоцитів відмічали і після поєднаної дії РО і СВМ (табл.4).

Таблиця 4. Розкладка ядер гепатоцитів щурів при сумісній дії СВМ і РО (M ± m), n=8

Умови досліджу	Відсоток ядер залежно від їх розмірів						
	2,5-3,74 мкм	3,75-4,99 мкм	5,0-6,24 мкм	6,25-7,49 мкм	7,50-8,70 мкм	8,75-9,90 мкм	>9,91 мкм
Контроль	16,98±3,61	33,54±1,72	24,70±1,53	17,61±2,07	4,53±0,83	1,67±0,20	--
Метали+РО- 2-а доба	3,42±0,51**	24,42±0,71*	26,71±2,59	19,71±1,59*	14,00±0,60**	7,71±1,44**	3,14±0,61
Метали+РО- 4-а доба	4,00±0,71**	22,83±1,10*	18,83±1,10**	16,47±0,43	20,71±0,53**	13,18±1,37***	4,00±0,44
Метали+ РО- 7-а доба	3,63±0,32**	17,58±1,54*	17,73±1,54*	21,37±1,19	15,56±0,26***	13,48±1,65**	10,76±0,19
Метали+РО- 20-а доба	2,85±0,72***	8,71±0,38**	15,71±0,81*	24,45±0,41	23,28±1,54	17,28±0,86***	9,14±0,73

Примітка. * - P<0,05; ** - P< 0,01, *** - P< 0,001.

Результати нашого дослідження вказують на можливість широкого використання каріометрії при вивченні впливу ксенобіотиків та інших чинників на печінку. Вони певною мірою відповідають даним авторів, які вивчали морфологічні зміни в тканинах печінки при дії опромінення в малих дозах [9, 10], а також у інтоксикованих тварин різними ксенобіотиками [4,5,8].

ВИСНОВКИ: 1. За умов окремої і поєднаної дії СВМ та загального одноразового РО в дозі 0,5 Гр на 2-у, 4-у, 7-у і 20-у доби збільшувалася відносна маса печінки щурів.

2. Морфологічні зміни печінки свідчать про дистрофічні та компенсаторно- гіпертрофічні зміни печінки в період з 4-ї по 20 –у доби.

3. Каріометричні показники свідчать про зменшення частки клітин з дрібними ядрами, зокрема клітин МЦР, та зростання частки гепатоцитів з великими розмірами ядер.

В майбутньому плануємо вивчати морфологічні реакції печінки за сумісної дії РВ і солей важких металів та впливу речовин, як можливих гепатопротекторів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аношина М.Ю., Зверкова А.С., Романова А.Ф., Ишук О.Е. Оценка функционального состояния печени у лиц, пострадавших в результате аварии на ЧАЭС // Экологические проблемы та здоров'я нації. - 1998. - С.28-29.
 2. Забродский П.Т. Механизмы токсического действия металлов и их влияние на иммунную систему // Токсикол. Вест., 1998. - № 6. - С.9-15.
 3. Иванов В.К., Цыб А.Ф. Медицинские радиологические последствия

Чернобыля для населения России: Оценка радиационных рисков. - М.: Медицина. - 2002. - 392 с.

4. Каримов Х.Я., Инояттов Ф.Ш., Дадажанов Ш.Н., Исраилов Р.И. Морфологические особенности реакции печени крыс на хроническое воздействие ксенобиотиками. Морфология и экологические факторы // Морфология. - 2002. – Т.122, №5. - С. 25-27.

5. Каширина Н.К., Купша Е.И. Гисторадиоавтографическое исследование печени при хронической интоксикации ацетатом свинца и коррегирование токоферолом // Таврический медико-биологический вестник. - 2003. - Т.6, №4. - С.60-64.

6. Котенко А.Г., Міщенко А.В. Вплив поєднаної хронічної дії підвищених доз натрію фториду та іонізувального опромінення на антиоксидантний статус та енергетичний обмін у печінці тварин. - 2001// УРЖ. Український Радіологічний Журнал. - 2001. -Т.9, №4. - С. 413-417.

7. Мардар Г.І., Калинка А.К. Спосіб морфологічної оцінки впливу небілкових азотистих речовин на організм тварин. Патент № 6870 від 30 березня 1995 року. Бюл. №1. - 31.03.1995.

8. Поражения печени ксенобиотиками/ А. Пентюк, Л. Мороз, О. Паламарчук. - 2001// Современные проблемы токсикологии. - 2001. - №2. - С.8-16.

9. Ульянов В.О., Напханюк В.К. Морфофункциональні зрушення в тканинах печінки щурів, опроміненних у малих дозах // Одеський медичний журнал. - 2004. - №2 (82). - С.27-29.

10. Цеглинська В.М. Вплив малих доз іонізуючого випромінювання на ультраструктуру організації печінки // Галицький лікарський вісник. - 2002. - Т.9, №2. - С.90-92.

11. Цыб А.Ф., Иванов В.К. К полувековому юбилею журнала. Радиологические последствия Чернобыля // Медицинская радиология и радиационная безопасность. - 2006. -Т.51, № 1. - С. 18-28.

12. Цырендоджиев Д.Д., Кутина С.Н., Зубахин А.А. Резистентность печени к повреждению ССL4 при депрессии клеток Купфера хлоридом гадолиния // Бюл. экперим. биол. и мед. - 2000. -Т.129, №6. -С.709-711.

Милованова М.І.

ВПЛИВ СОЛЕЙ АЛЮМІНІЮ ТА СВИНЦЮ НА ТРАНСПОРТ ІОНІВ НАТРІЮ В НИРКАХ БІЛИХ ЩУРІВ

Буковинський державний медичний університет

ВПЛИВ СОЛЕЙ АЛЮМІНІЮ ТА СВИНЦЮ НА ТРАНСПОРТ ІОНІВ НАТРІЮ В НИРКАХ БІЛИХ ЩУРІВ – Вплив суміші солей алюмінію та свинцю на іонорегульовальну функцію нирок супроводжувалось збільшенням концентрації іонів натрію в сечі, зменшенням цього катіона в плазмі крові; посиленням його екскреції; пригніченням реабсорбції іонів натрію в проксимальному та у дистальному канальцях нефрона.

ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ АЛЮМИНИЯ И СВИНЦА НА ТРАНСПОРТ ИОНОВ НАТРИЯ В ПОЧКАХ БЕЛЫХ КРЫС – Влияние смеси солей алюминия и свинца на ионорегулирующую функцию почек сопровождалось увеличением концентрации ионов натрия в моче, падением уровня этого катиона в плазме крови; усилением его экскреции; угнетением реабсорбции ионов натрия в проксимальном и дистальном канальцах нефрона.

THE INFLUENCE OF ALUMINIUM AND LEAD SALTS ON THE TRANSPORT OF SODIUM IONS IN WHITE RATS KIDNEYS –The influence of aluminium and lead salts mixture on a ionregulating renal function caused the increase of sodium ions concentration in urine, increase of its excretion, decrease of these

ions level in blood plasma, oppression of sodium ions reabsorption in proximal and distal canals of nephron.

Ключові слова: алюміній, свинець, екскреція, реабсорбція, іони натрію.

Ключевые слова: алюминий, свинец, экскреция, реабсорбция, ионы натрия.

Key words: aluminium, lead, excretion, reabsorption, sodium ions.

ВСТУП Відповідно до сучасних уявлень, часова організація фізіологічних систем є однією з властивостей живої матерії. Відомо, що основою часової організації живих систем є циркадіанна ритміка, провідна роль якої належить супрахіазматичним ядрам гіпоталамуса та їх ендокринному посереднику – шишкоподібній залозі [1]. Не зважаючи

на це, хроноритми багатьох органів, зокрема нирок, є недостатньо вивченими. Залишаються маловивченими і особливості гуморальної регуляції функцій нирок у ранкові та вечірні проміжки доби.

Останніми роками погляди на токсичність солей алюмінію та свинцю значно змінилися. Виріс інтерес до оцінки їх біологічної дії на рослини, організми тварин і людини. За своїм вмістом в земній корі (8,8 %) алюміній займає третє місце після кисню та кремнію [2]. Він може спричинювати значні функціональні та морфологічні зміни в організмі людини. Зокрема, відомо, що він здатний викликати остеомаляцію, мікроцитарну анемію, а також нейродегенеративні ураження головного мозку (Синдром Паркінсона, хвороба Альцгеймера та ін.) [3]. Щодо свинцю, то слід згадати про його канцерогенні властивості, негативний вплив на процеси кровотворення, нервову та серцево-судинну системи, органи травного тракту [4, 5, 6].

З'ясування цих питань є актуальним як для експериментальної, так і для клінічної медицини, оскільки дозволить удосконалити методи ранньої діагностики та профілактики захворювань нирок.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Метою нашого дослідження було з'ясувати вплив солей алюмінію та свинцю на хроноритми ниркового транспорту іонів натрію в білих щурів за умов фізіологічної функції шишкоподібної залози.

Для її досягнення нами було поставлено наступні завдання:

1. Дослідити організацію іонорегулювальної функції нирок у інтактних тварин.
2. З'ясувати вплив солей алюмінію та свинцю на механізм транспорту іонів натрію в нирках за умов фізіологічної функції шишкоподібної залози.

Дослідження проводили на нелінійних статевозрілих самцях білих щурів. Експерименти проводили двічі на добу – о 8.00 та 20.00 год на двох групах тварин:

а) першу групу – контрольну (12 тварин) утримували впродовж 14 діб за умов звичайного режиму освітлення (12С:12Т) з вільним доступом до води та їжі;

б) другій групі – дослідній (12 щурів) впродовж 14 днів вводили суміш солей алюмінію та свинцю у дозі: хлорид алюмінію – 200 мг/кг маси тіла тварини, хлорид свинцю – 50 мг/кг маси тіла внутрішньошлунково одноразово.

Для дослідження функціонального стану нирок за 2 год до декапітації тваринам проводили 5,0 % внутрішньошлункове водне навантаження. Сечу збирали впродовж 2 год. Тварин умертвляли шляхом декапітації під легким ефірним наркозом дотримуючись положень "Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях" (Страсбург, 1986). Результати обробляли статистично. Вірогідність показників розраховували за t-критерієм Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Дослідження показників іонорегулювальної функції нирок свідчили, що введення тваринам суміші солей алюмінію та свинцю призвело до зменшення об'єму сечі у групі дослідних тварин, відповідно ми спостерігали збільшення концентрації іонів натрію в сечі. Причиною цього явища була підвищена екскреція цього катіона. У ранкові та особливо у вечірні години доби показник вірогідно перевищував контрольні дані. Відповідно, збільшення концентрації іонів натрію в сечі викликало зменшення вмісту цього катіона в плазмі крові (табл.).

Таблиця 1. Вплив солей алюмінію і свинцю на нирковий транспорт іонів натрію у білих щурів ($x \pm Sx$)

Показники		Години доби	
		08.00	20.00
		(n=6)	(n=6)
Концентрація іонів натрію в сечі, ммоль/л	I	0,775 ± 0,0335	0,800 ± 0,0577
	II	1,067 ± 0,0527 p<0,001	3,358 ± 0,0757 p<0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/2год	I	2,858 ± 0,1828	2,780 ± 0,2437
	II	2,711 ± 0,2179	3,601 ± 0,2813 p<0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	I	0,674 ± 0,0395	0,593 ± 0,0599
	II	1,147 ± 0,0586 p<0,001	1,404 ± 0,0809 p<0,001
Концентрація іонів натрію в плазмі, ммоль/л	I	132,500 ± 1,8257	130,833 ± 1,9003
	II	127,917 ± 2,6939 p<0,01	121,250 ± 1,9094 p<0,001
Фільтраційна фракція іонів натрію, мкмоль/хв	I	57,068 ± 5,0052	62,299 ± 3,5053
	II	30,382 ± 2,3520 p<0,001	31,223 ± 2,1357 p<0,001
Абсолютна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/хв	I	57,044 ± 5,0043	62,276 ± 3,5052
	II	30,360 ± 2,3504 p<0,001	31,193 ± 2,1343 p<0,001
Відносна реабсорбція іонів натрію, %	I	99,957 ± 0,0144	99,962 ± 0,0110
	II	99,925 ± 0,0137 p<0,01	99,903 ± 0,0092 p<0,001
Концентраційний індекс іонів натрію, од	I	0,006 ± 0,0003	0,006 ± 0,0004
	II	0,008 ± 0,0003 p<0,001	0,011 ± 0,0007 p<0,001
Натрій/калієвий коефіцієнт, од	I	0,040 ± 0,0037	0,067 ± 0,0068
	II	0,116 ± 0,0054 p<0,001	0,141 ± 0,0111 p<0,001
Кліренс іонів натрію, мл/2год	I	0,022 ± 0,0015	0,021 ± 0,0017
	II	0,021 ± 0,0013 p<0,001	0,030 ± 0,0023 p<0,001
Кліренс безнатрієвої води, мл/2год	I	3,661 ± 0,1586	3,462 ± 0,1616
	II	2,510 ± 0,1062	2,608 ± 0,0889 p<0,001

Продовження табл.

Показники		Години доби	
		08.00	20.00
		(n=6)	(n=6)
Проксимальний транспорт іонів натрію, ммоль/2 год	I	6,359 ± 0,5814	7,019 ± 0,3993
	II	3,321 ± 0,2650 p<0,001	3,427 ± 0,2428 p<0,001
Дистальний транспорт іонів натрію, мкмоль/2год	I	485,787 ± 24,9682	454,101 ± 26,3951
	II	321,902 ± 18,7840 p<0,001	316,591 ± 14,1231 p<0,001
Проксимальний транспорт іонів натрію, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	I	12,285 ± 0,1761	12,281 ± 0,1775
	II	11,644 ± 0,2562 p<0,001	11,079 ± 0,1834 p<0,001
Дистальний транспорт іонів натрію, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	I	0,960 ± 0,0607	0,797 ± 0,0309
	II	1,138 ± 0,0377 p<0,001	1,034 ± 0,0336 p<0,001

Примітки: I – контрольна група тварин; II – тварини, яким було введено суміш солей алюмінію та свинцю; p – вірогідність різниці між показниками дослідної та контрольної груп; n – кількість тварин.

Збільшення екскреції іонів натрію зумовлено порушенням каналцевого транспорту, про що свідчать показники абсолютної та відносної реабсорбції катіона. Показники дослідної групи були значно меншими, ніж такі у контрольній групі тварин.

Фільтраційна фракція досліджуваного катіона також змінювалася впродовж доби. Мінімальні значення цього показника виявляли о 8.00 год у групі тварин, яким вводили солі алюмінію та свинцю, що вірогідно відрізнялося від тварин контрольної групи.

Зміни іонорегулювальної функції нирок характеризувалися зміною кліренсу безнатрієвої води впродовж періоду спостереження. Найменших значень цей показник сягав о 8.00 год у дослідній групі щурів.

Введення дослідним тваринам суміші солей металів призводило до пригнічення реабсорбції іонів натрію як в проксимальному, так і дистальному каналцях нефрона.

ВИСНОВКИ. В результаті проведеної серії експериментів ми можемо зробити наступні висновки:

1. Транспорт іонів натрію в нирках характеризується взаємоузгодженою часовою організацією.

2. Ефекти суміші солей алюмінію та свинцю на іонорегулювальну функцію нирок супроводжуються збільшенням концентрації іонів натрію в сечі з відповідним зменшенням цього катіона в плазмі; посиленням його екскреції; пригніченням реабсорбції іонів натрію в проксимальному та у дистальному каналцях нефрона.

ЛІТЕРАТУРА

1. Комаров Ф.И., Рапопорт С.И. Хронобиология и хрономедицина. – М.: Триада-Х, 2000. – 488 с.
2. Сызыныс Б.И., Шарецкий А.Н., Харламова О.В. Иммунотоксичность хлористого алюминия // Гигиена и санитария. – 2004. – №4. – С. 70 – 72.
3. Недзвецкий В.С., Неруш П.О. Зміни поліпептидного складу гліальних проміжних філаментів і поведінкових реакцій щурів, індуковані хлоридом алюмінію // Медична хімія. – 2002. – Т.4, №3. – С. 29 – 32.
4. Краснюк Е.П., Отвага И.С. Клинические стадии интоксикации свинцом // Врачебное дело. – 2002. – №7. – С. 117 – 120.
5. Боев В.М., Красиков С.И., Воронкова И.П. и др. Загрязнение свинцом некоторых объектов окружающей среды // Гигиена и санитария. – 2004. – №1. – С.25 – 27.
6. Запорожець Т.М., Єрошенко Г.А. Імуногістохімічне дослідження апоптозу клітин кісткового мозку при хронічному отруєнні свинцем // Буковинський медичний вісник. – 2001. – Т.5, №1-2. – С. 61 – 63.

Орел Ю.М.

СТРУКТУРНО-ПРОСТОРОВА ОРГАНІЗАЦІЯ КРОВОНОСНОГО РУСЛА ПЛАЦЕНТИ ПРИ ФІЗІОЛОГІЧНОМУ ПЕРЕБІГУ ВАГІТНОСТІ ТА РІЗНИХ СТУПЕНЯХ ХРОНІЧНОЇ ПЛАЦЕНТАРНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

СТРУКТУРНО-ПРОСТОРОВА ОРГАНІЗАЦІЯ КРОВОНОСНОГО РУСЛА ПЛАЦЕНТИ ПРИ ФІЗІОЛОГІЧНОМУ ПЕРЕБІГУ ВАГІТНОСТІ ТА РІЗНИХ СТУПЕНЯХ ХРОНІЧНОЇ ПЛАЦЕНТАРНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ – Особливості адаптаційно-компенсаторних проявів структурно-просторової перебудови кровоносного русла плаценти досліджено за допомогою ангіографічних та гістологічних методик. Встановлено, що гемодинамічні зрушення, які виникають внаслідок плацентарної недостатності, супроводжуються структурно-просторовою і морфофункціональною перебудовою артерій плаценти, інтенсивність якої залежить від ступеня плацентарної недостатності. Адаптаційно-компенсаторні зміни в артеріальному руслі плаценти, які полягають у наростанні симетрії судинних трійників, збільшенні кутів галужень артерій мішаного м'язово-еластичного типу і артерій м'язового типу великого калібру, а також звуженні просвіту артерій м'язового типу середнього і малого калібру за рахунок підвищення тонуся гладком'язових клітин середньої оболонки, спрямовані на збільшення судинного опору і запобігання перевантаження гемодіалятичного русла.

СТРУКТУРНО-ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КРОВОНОСНОГО РУСЛА ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ ТЕЧЕНИИ БЕРЕМЕННОСТИ И РАЗЛИЧНЫХ СТЕПЕНЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ – Особенности адаптационно-компенсаторных проявлений структурно-пространственной перестройки кровоносного русла плаценты исследовано при помощи ангиографических и гистологических методик. Установлено, что гемодинамические нарушения, которые возникают в результате плацентарной недостаточности, сопровождаются структурно-пространственной и морфофункциональной перестройкой артерий плаценты, интенсивность которой зависит от степени плацентарной недостаточности. Адаптационно-компенсаторные изменения в артериальном русле плаценты, которые состоят в нарастании симметрии сосудистых тройников, увеличении углов ветвления артерий смешанного мышечно-эластического типа и артерий мышечного типа большого калибра, а также в сужении просвета артерий мышечного типа среднего и малого калибра за счет повышения тонуса гладкомышечных клеток средней оболочки, направлены на повышение

ние сосудистого сопротивления и предотвращение перегрузки гемомикроциркуляторного русла.

THE STRUCTURAL-SPATIAL ORGANIZATION OF PLACENTAL BLOODSTREAM AT DIFFERENT STAGES OF CHRONIC PLACENTAL INSUFFICIENCY – The peculiarities of adaptive-compensatory manifestations of structural-spatial reorganization of the bloodstream of placenta were investigated at different stages of the placental insufficiency by means of angiographic and histological methods. It was established that the haemodynamic disturbances that appear as a result of the placental insufficiency are accompanied by the structural-spatial and morpho-functional reorganization of placental arteries, intensity of which depends on the level of the placental insufficiency. The adaptive-compensatory changes in the arterial route of placenta which are manifested by the increasing of symmetry of the vessel triplets, increasing of angles of branching of the mixed muscle-elastic type arteries and the muscle type arteries of the large diameter, and also in the decreasing of aperture of the muscular type arteries of middle and small diameter by means of the increasing of the smooth muscle cells tonus of the middle cover, are directed on the increasing of the vessel resistance and on the prevention overloading of the haemo microcirculatory route.

Ключові слова: плацента, недостатність, артерії, симетрія, гіпертрофія.
Ключевые слова: плацента, недостаточность, артерии, симметрия, гипертрофия.

Key words: placenta, insufficiency, arteries, symmetry, hypertrophy.

ВСТУП Однією з гострих соціальних проблем суспільства завжди є стан здоров'я матері та дитини [2, 7]. Останнім часом значного поширення набуває хронічна фетоплацентарна недостатність, частота якої коливається від 30 до 82 %. Дана патологія є тим фактором, який значно підвищує ризик виникнення перинатальних захворювань [5, 10]. Плацентарна недостатність (ПН) належить до мультифакторних синдромів і буває провідною ланкою в патогенезі хронічної гіпоксії плода. Адекватні гемодинамічні процеси в системі "мати-плацента-плід" забезпечують нормальний перебіг вагітності [8, 11]. Однак при ПН мають місце порушення матково-плацентарного та фетоплацентарного кровотоку. Ці порушення відіграють основну роль у розвитку антенатального страждання плода. Доведено існування прямого зв'язку між ступенем їх вираженості і тяжкістю внутрішньоутробної гіпоксії та гіпотрофії [3, 4, 9]. Проте морфологічні прояви вказаних порушень продовжують залишатися недостатньо вивченими. Важливе прогностичне значення у таких випадках може також мати кількісна оцінка стану кровоносного русла плаценти.

Метою роботи було вивчення структурно-просторової організації кровоносного русла плаценти при фізіологічному перебігу вагітності та різних ступенях хронічної плацентарної недостатності.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Особливості адаптаційно-компенсаторних проявів структурно-просторової перебудови кровоносного русла плаценти вивчали у 102 породіль. В 30 випадках вагітність мала фізіологічний перебіг, що було віднесено до контролю. У 72 жінок вагітність перебігала на фоні хронічної фетоплацентарної недостатності. З них у 36 випадках ПН мала відносний характер, тобто спостерігалися ознаки компенсації різного ступеня, а у решти 36 випадках було діагностовано абсолютну недостатність плаценти.

Структурно-просторову організацію кровоносного русла плаценти вивчали за допомогою контрастної рентгенангіографії. Оцінку рентгенангіограм проводили за методикою К.А. Шошенко і співавт. [1], згідно з якою структурною одиницею судинного русла визначено трійник, який складається із трьох судин: основного стовбура та двох його дочірніх гілок. В даній структурі, конфігурація якої визначається гемодинамічним фактором, можуть реалізуватися основні функції кровоносного дерева: перенесення крові на довжину стовбурової судини і розподіл (або злиття) потоків крові в ділянці галузження. В судинному трійнику вимірювали діаметр основного стовбура (D_0), товстішої (D_1) і тоншої (D_2) гілок, сумарний кут галузження (ζ_0) і його складові частини: кут відхилення товстішої (ζ_1) і тоншої (ζ_2) гілок наступних

порядків. На підставі вимірюваних характеристик розраховували коефіцієнт асиметрії (H_2), який чисельно відповідає відносному діаметру меншої гілки і характеризує асиметричність трійника за розподілом просвіту судин і кровотоку в них, а також коефіцієнт галузження (k), який характеризує ступінь розширення кровоносного русла внаслідок розгалуження судин:

$$H_2 = \frac{D_2^2}{D_1^2 + D_2^2} \times 100 \% \quad (1)$$

$$k = \frac{D_1^2 + D_2^2}{D_0^2} \times 100 \% \quad (2)$$

Для гістологічного дослідження брали шматочки з різних відділів плаценти (центр, середина, периферія), які після фіксації в 10 % нейтральному розчині формаліну і відповідного проведення через етилові спирти зростаючої концентрації, переносили у парафін. Мікромомні зрізи фарбували гематоксиліном і еозином, за Вейгертом та за Ван Гізон [6].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ При аналізі показників просторової організації кровоносного русла плацент контрольної групи (табл. 1), виявлено помірну асиметричність галузень артерій, про що свідчив рівень коефіцієнтів асиметрії і галузження, а також величина кутів відхилення гілок наступного порядку. Зокрема, артеріальні судинні трійники II, III і IV порядків за H_2 можна віднести до другого класу асиметрії ($H_2 = 15 - 35 \%$), судинні трійники V порядку – до третього ($H_2 > 35 \%$). На отриманих рентгенангіограмах чітко контрастувалися галузження артерій плаценти до рівня 5–6 порядку. При цьому діаметр судин поступово і рівномірно зменшувався, а симетрія їх галузень наростала. Ці зміни підтверджувалися послідовним збільшенням значень коефіцієнтів асиметрії і галузження у напрямку від великих артерій до мікроциркуляторного русла. Величина сумарного кута галузження судинних трійників ζ_0 також наростає в міру наближення до капілярів. Це відбувається за рахунок збільшення обох його складових: кута відхилення товстішої (ζ_1) і тоншої (ζ_2) гілок наступних порядків. При цьому зростання кута відхилення товстішої гілки відбувається більш інтенсивно, про що свідчить зміна співвідношення ζ_1/ζ_2 . Цей параметр наростає від 0,64 у трійниках II порядку до 0,82 у судинних трійниках V порядку, тобто із наближенням до гемомікроциркуляторного русла прямує до 1,0.

Оскільки найбільшим гідродинамічним опором володіють симетричні галузження, а наближення кута відхилення гілок до прямого супроводжується підвищенням рівня судинного опору, то, враховуючи наведені дані, можна вважати, що із зменшенням калібру артерій плаценти геометричні особливості їх будови змінюються таким чином, щоб забезпечити поступове зростання гемодинамічної резистентності. Саме такі особливості просторової організації артеріального русла дозволяють забезпечити оптимальний рівень тиску в мікроциркуляторному руслі.

Порушення гемодинаміки, яке виникає при недостатності плаценти, закономірно приводить до значних змін в артеріальному відділі кровоносного русла цього органу і його геометричної перебудови.

Таблиця 1. Показники структурно-просторової організації артерій плаценти (M±m).

Порядок судинного трійника	Параметр							
	D ₀ , мм	D ₁ , мм	D ₂ , мм	H ₂ , %	κ, %	φ ₀ , град.	φ ₁ , град.	φ ₂ , град.
Контроль								
II	3,01± 0,14	2,18± 0,10	1,05± 0,05	18,76± 0,26	65,51± 1,71	50,01± 2,55	19,53± 1,23	30,48± 1,32
III	1,05± 0,05	0,89± 0,04	0,46± 0,04	19,67± 1,29	90,79± 2,00	57,83± 2,00	24,78± 0,90	33,05± 1,11
IV	0,46± 0,04	0,39± 0,03	0,26± 0,02	31,08± 0,91	109,86± 2,70	62,38± 1,27	27,16± 0,96	35,22± 0,34
V	0,26± 0,02	0,23± 0,01	0,17± 0,01	34,32± 1,06	124,50± 2,9	70,45± 1,93	31,73± 0,93	38,72± 1,03
Відносна плацентарна недостатність								
II	5,33± 0,23	3,94± 0,18	2,21± 0,10	23,85± 0,49***	71,65± 0,85**	54,54± 2,56	21,18± 0,63	33,36± 1,94
III	2,21± 0,10	1,89± 0,12	1,14± 0,10	23,88± 1,49*	95,66± 5,87	64,89± 2,06	28,89± 0,89	36,00± 1,20
IV	1,14± 0,10	1,00± 0,09	0,67± 0,06	31,89± 1,26	114,20± 2,93	72,27± 2,03	32,56± 1,04	39,71± 1,01
V	0,67± 0,06	0,60± 0,05	0,49± 0,04	40,53± 0,75***	140,92± 5,10**	82,68± 2,23	38,75± 0,95	43,93± 1,33
Абсолютна плацентарна недостатність								
II	8,31± 0,38	6,15± 0,31	3,78± 0,17	27,93± 0,47***	74,68± 0,97***	57,49± 1,69	22,30± 0,72	35,19± 0,99
III	3,78± 0,17	3,24± 0,13	2,15± 0,09	30,48± 0,27***	108,47± 2,34***	68,34± 2,1	30,10± 1,04	38,24± 1,08
IV	2,15± 0,09	1,88± 0,07	1,35± 0,02	35,24± 1,08**	123,21± 4,17**	73,45± 2,04	32,97± 0,88	40,48± 1,22
V	1,35± 0,02	1,20± 0,02	1,11± 0,02	45,99± 0,23***	146,23± 1,28***	86,87± 2,27	42,14± 1,51	44,73± 0,87

Примітка: * – P < 0,05; ** – P < 0,01; *** – P < 0,001.

Проведений комплексний аналіз морфометричних параметрів контрастних рентгеноангіограм (див. табл. 1) вказує на значне збільшення ємності артерій плаценти – помітне зростання показників D₀, D₁ і D₂ є індикатором розширення просвіту артерій м'язово-еластичного типу та артерій м'язового типу великого калібру. Одночасне наростання показників симетрії H₂, κ і величини кутів відхилення дочірніх гілок судинних галузей, особливо на рівні артерій малого калібру, свідчить про посилення опірності у відповідь на підвищення геодинамічного навантаження. Слід зазначити, що інтенсивність ремоделювання плацентарних судин залежить від вираженості ПН. Так, якщо при відносній недостатності плаценти коефіцієнт асиметрії збільшувався в середньому в 1,16 раза, а коефіцієнт галузнення – в 1,08 раза порівняно з контролем, то при абсолютній (декомпенсованій) ПН ці показники зросли у 1,34 і 1,16 раза відповідно.

При гістологічному дослідженні у випадках відносної ПН рееструвалися зміни, які можна трактувати як компенсаторно-адаптаційні: проліферація термінальних ворсин, збільшення в них кількості капілярів і їх зсув до базальної мембрани, утворення синцитіокапілярних мембран та збільшення їх площі, наявність проліферативних вузликів в хоріальному епітелії. Завдяки таким змінам зростає корисна площа плодової частини плаценти і збільшується ефективність обмінних процесів між кровотоком матері і плода. Також спостерігалось розширення просвіту ворсових судин і збільшення їх об'єму, повнокрів'я капілярів, крововиливи у міжворсовий простір (рис. 1). Проявом інволютивно-дистрофічних явищ, характерних для ПН, було порушення дозрівання ворсин хоріона за дисоційованим типом, коли на фоні зрілих термінальних ворсин виявлялись групи ворсин з пухкою строю та слабозвинуту судинно-сіткою.

При абсолютній недостатності плаценти спостерігалися масивні відкладення фібриноїду в ділянці базальної пластинки і в плодовій частині плаценти, велика кількість за-

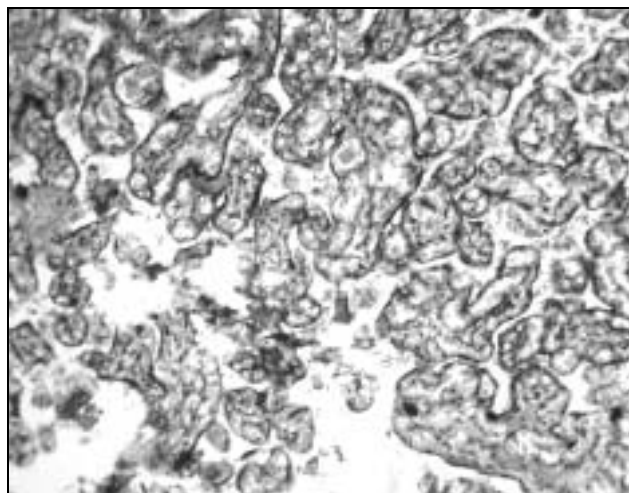


Рис. 1. Проліферація термінальних ворсин, збільшення кількості синцитіокапілярних мембран, зростання об'єму ворсових судин. Забарвлення гематоксином і еозином. Об. 10 х, ок. 7 х.

мурованих у фібриноїд ворсин, дистрофічні і некробіотичні зміни хоріального епітелію, масивні петрифікати (див. рис. 2). Проявом виражених розладів кровообігу були обширні інфаркти, наявність крововиливів і тромбів у міжворсовому просторі.

ВИСНОВКИ 1. Геометричні особливості будови артерій плаценти забезпечують поступове зростання гемодинамічної резистентності із зменшенням калібру судин, що в кінцевому результаті дозволяє підтримувати оптимальний рівень тиску крові в мікроциркуляторному руслі.

2. Розлади гемодинаміки, котрі виникають при синдромі недостатності плаценти, супроводжуються структурно-

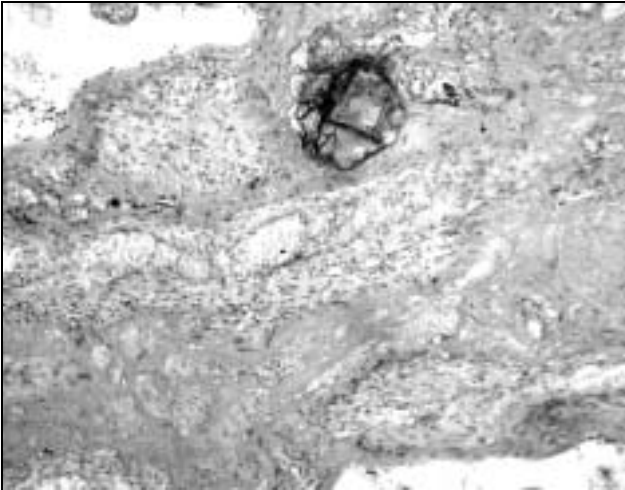


Рис. 2. Масивні відкладення фібриноїду, замурувані і загиблі ворсини, масивний кальцифікат. Забарвлення гематоксилином і еозинном. Об. 10 х, ок. 7 х.

просторовою і морфофункціональною перебудовою її артерій, що проявляється наростанням симетрії судинних трійників та збільшенням кутів галузень артерій і забезпечує підвищення судинного опору.

3. Інтенсивність адаптаційно-компенсаторних змін в артеріальному руслі плаценти залежить від ступеня плацентарної недостатності.

Отримані дані можуть бути використані для прогнозування післяпологових ускладнень у новонароджених при

плацентарній недостатності та для розробки методів їх профілактики.

ЛІТЕРАТУРА

1. Архитектоника кровеносного русла / Шошенко К.А., Голуб А.С., Брод В.И. – Новосибирск: Наука, 1982. – 123 с.
2. Гойда Н.Г. Актуальні проблеми охорони материнства та дитинства на етапі реформування медичної галузі в Україні // Нова медицина. – 2002. – № 1. – С.18-20.
3. Лук'янова О.М. Актуальні проблеми перинатології на сучасному етапі охорони здоров'я // Перинатологія та педіатрія. – 2002. - № 3. – С.3-6.
4. Пахаренко Л.В. Характеристика гемодинаміки в системі "мати – плацента – плід" в умовах хронічної фетоплацентарної недостатності і затримки розвитку плода // Вісник наукових досліджень. – 2004. – № 2. – С.74-75.
5. Пуга Н.П. Функциональное состояние фетоплацентарного комплекса у женщин с гипертонической болезнью и вегетососудистой дистонией // 36. наукових праць "Актуальні проблеми акушерства та гінекології, клінічної імунології та медичної генетики". Вип. 5. – Київ – Луганськ, 2001. – С.97-100.
6. Сорочинников А.П., Доросевич А.Е. Гистологическая и микроскопическая техника. – М.: Медицина, 1997. - 448 с.
7. Состояние младенческой смертности в Украине и пути её снижения / Бережной В.В., Гойда Н.Г., Гулида Л.В. и др. // Современная педиатрия. – 2003. - № 1. – С.23-25.
8. Стрижаков А.Н., Бунин А.Т. Нарушения фетоплацентарного кровотока и выбор оптимальной акушерской тактики // Акушерство и гинекология. – 1997. – № 1. – С.15-17.
9. Фартушок Т.В. Беседін В.М., Школьник О.С. Функциональный стан системи "мати-плацента-плід" при плацентарній недостатності та інфекції // Вісник наукових досліджень. – 2005. – № 4. – С.45-46.
10. Шунько Є.Є. Фактори перинатального ризику і актуальні проблеми сучасної неонатології // Медичний Всесвіт. – 2002. - № 1-2. – С.106-111.
11. Benirschke K., Kaufman P. Pathology of the Human Placenta. – New York: Springer-Verlag. – 1995. – 871p.

Орловський М.О., Скибо Г.Г.

ЗАГИБЕЛЬ НЕЙРОНІВ ГІПОКАМПУ ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ЦУКРОВИМУ ДІАБЕТІ

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

ЗАГИБЕЛЬ НЕЙРОНІВ ГІПОКАМПУ ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ЦУКРОВИМУ ДІАБЕТІ – Відомо, що порушення поведінки, когнітивних та мнестичних функцій при цукровому діабеті пов'язані з порушеннями функції гіпокампу. Метою дослідження було дати кількісну характеристику процесів нейродегенерації у різних зонах гіпокампу щурів в умовах стрептозотоцинової моделі цукрового діабету 1 типу. Діабет викликали одноразовим інтраперитонеальним введенням 45 мг/кг стрептозотоцину. Встановлено, що розвиток цукрового діабету призводить до значних нейродегенеративних змін в гіпокампі, що проявляється у зменшенні щільності розташування нейронів (з максимумом в зоні СА3) та виникненні ознак ушкодження клітин (конденсації ядра та цитоплазми, вакуолізації), які були притаманні 30 % нейронів зон СА1 та СА2 та 80 % нейронів зони СА3.

ГИБЕЛЬ НЕЙРОНОВ ГИПОКАМПА ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ – известно, что нарушения поведения, когнитивных и мнестических функций при сахарном диабете связаны с нарушениями функции гиппокампа. Целью исследования являлась количественная характеристика процессов нейродегенерации в различных зонах гиппокампа крыс в условиях стрептозотоциновой модели сахарного диабета 1 типа. Диабет вызвали одноразовым интраперитонеальным введением 45 мг/кг стрептозотоцина. Установлено, что развитие сахарного диабета приводит к значительным нейродегенеративным изменениям в гиппокампе, что проявляется в уменьшении плотности расположения нейронов (с максимумом в зоне СА3) и возникновении признаков повреждения клеток (конденсации ядра и цитоплазмы, вакуолизации), которые были выявлены среди 30 % нейронов зон СА1 и СА2 и 80 % нейронов зоны СА3.

NEURON DESTRUCTION OF HIPPOCAMPUS AT STREPTOZOTOCIN DIABETES MELLITUS– diabetes mellitus is shown to induce injury in the hippocampus,

which is supposed to cause impairments in memory and behavioral functions. The goal of the study was quantitative measurement of neurodegeneration in different hippocampal areas in streptozotocin diabetic rats. Diabetes was induced by a single intraperitoneal streptozotocin administration in dose of 45 mg/kg. It was found that 5 weeks of diabetes development led to the significant decrease in neuronal placement density (maximal decrease was observed in CA3 area) and morphological signs of neuronal damage (nucleus and cytoplasm condensation, vacuolization) observed in 30 % CA1 and CA2 neurons and 80 % neurons of CA3 area.

Ключові слова: гіпокамп, цукровий діабет, нейродегенерація.

Ключевые слова: гиппокамп, сахарный диабет, нейродегенерация.

Key words: hippocampus, diabetes mellitus, neurodegeneration.

ВСТУП Цукровий діабет є важливою медичною, соціальною і економічною проблемою розвинених країн, та країн, що розвиваються. За даними ВООЗ, 150 мільйонів людей у світі зараз хворіють на цукровий діабет, а до 2025 року ця цифра має подвоїтися [4]. Найбільш тяжкою формою захворювання за кількістю ускладнень, частоті інвалідизації та ступеня ризику для життя є діабет 1 типу [5]. Електрофізіологічні та нейрохімічні дослідження останніх років свідчать, що цукровий діабет має негативний вплив на головний мозок, призводячи до значного збільшення ризику інсульту, судомних припадків, деменції та інших нейродегенеративних захворювань [3, 6, 9].

Аналіз останніх досліджень. В останніх електрофізіологічних дослідженнях на тваринах встановлено, що відхилення у поведінці та мнестичних функціях при цукровому діабеті пов'язані з дефектами довготривалої потенціалізації у зоні CA1 гіпокампу [3, 6]. Також було показано, що поведінкові і когнітивні розлади при цукровому діабеті асоційовані з оксидативним пошкодженням нейронів гіпокампу [7]. Активація процесів перекисного окислення ліпідів в гіпокампі супроводжується астрогліолізом, дефіцитом нейрогенезу та змінами в експресії нейропептидів [8]. Загалом ці факти дозволяють зробити припущення, що при цукровому діабеті мають спостерігатися також процеси загибелі нейронів гіпокампу.

Мета дослідження: на стрептозотоциновій моделі цукрового діабету 1 типу дати кількісну характеристику процесів нейродегенерації у різних зонах гіпокампу щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Дослідження проведено в осінньо-зимовий період на 12 статевозрілих щурах лінії Вістар віком 5-6 місяців та масою тіла 180-250 г. Цукровий діабет моделювали за допомогою однократної внутрішньоочеревинної ін'єкції 45 мг/кг стрептозоточину (Sigma-Aldrich, США) розчиненого в 0,5 мл стерильного цитратного буферу (pH 4,5). Вибір дози стрептозоточину базується на наших попередніх дослідженнях [1]. Дослідження рівня глюкози в крові, одержаної з хвостової вени, здійснювали за допомогою приладу Glucocard II Super (ARKRAY, Японія). Концентрацію інсуліну визначали імуноферментним методом (набір виробництва DRG, США) у сироватці артеріальної крові отриманої під час забою тварин.

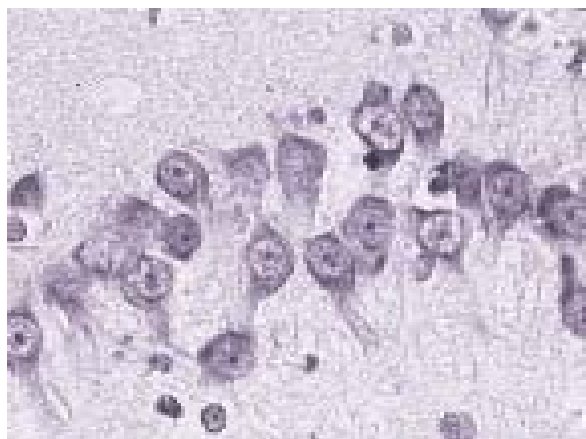
Для морфометричних і гістохімічних досліджень тварин декапітували після 16-годинного голодування й після стандартної гістологічної проводки готували серійні зрізи товщиною 4 мкм, які депарафінували і для визначення вмісту нуклеїнових кислот забарвлювали галлоціанін-хромовими квасцями за Ейнарсоном [2]. Морфометричні дослідження проводили на мікроскопі Axioskop (Zeiss, Німеччина). Зображення нейронів у ділянці зон CA1, CA2, CA3 гіпокампу, одержуване на мікроскопі, за допомогою високочутливої відеокамери SK-2146XA1 (Hitachi Ltd., Japan) вводили в комп'ютерну систему цифрового аналізу зображень оригінальної розробки.

Статистична оцінка даних здійснювалася за допомогою t критерію Стьюдента (для параметричних показників; позначення рівня статистичної значущості $-p_{st}$).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Розвиток цукрового діабету вже на другому тижні призводив до зниження концентрації інсуліну в крові майже у п'ять разів - з $0,82 \pm 0,18$ нг/мл до $0,19 \pm 0,09$ нг/мл ($p_{st} < 0,001$). В подальшому, протягом 3 тижнів концентрація інсуліну в крові вірогідно не змінювалась і залишалася на рівні $0,12 \pm 0,04$ нг/мл. Середні значення глікемії в цей термін склали $19,2 \pm 1,3$ ммоль/л.

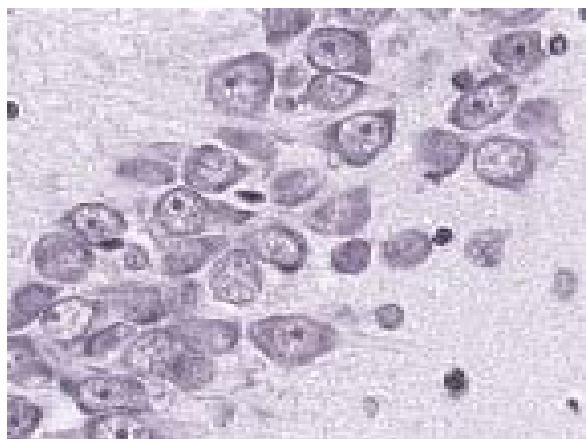
Морфологічні дослідження показали значні порушення цитоархітекtonіки всіх зон гіпокампу при діабеті (рис. 1, 2). В зоні CA1 гіпокампу цукровий діабет викликав зниження щільності розташування нейронів з $6,25 \pm 0,33$ до $5,15 \pm 0,66 \times 10^{-2}$ мкм⁻¹ (на 21,0 %); в зоні CA2 - з $8,89 \pm 0,43$ до $5,61 \pm 0,45 \times 10^{-2}$ мкм⁻¹ (на 36,9%); в зоні CA3 - з $8,11 \pm 1,04$ до $4,62 \pm 0,33 \times 10^{-2}$ мкм⁻¹ - на 43,0 % (рис. 3). При цьому



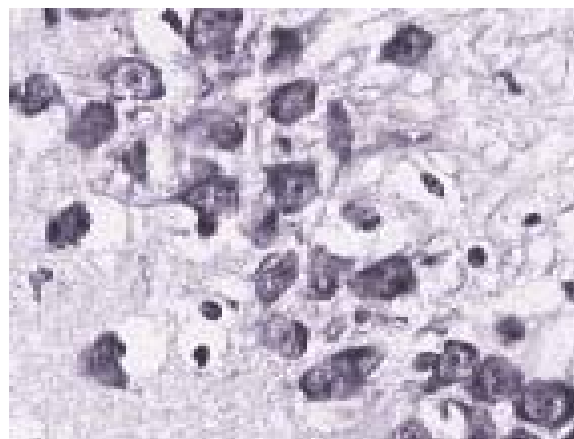
А



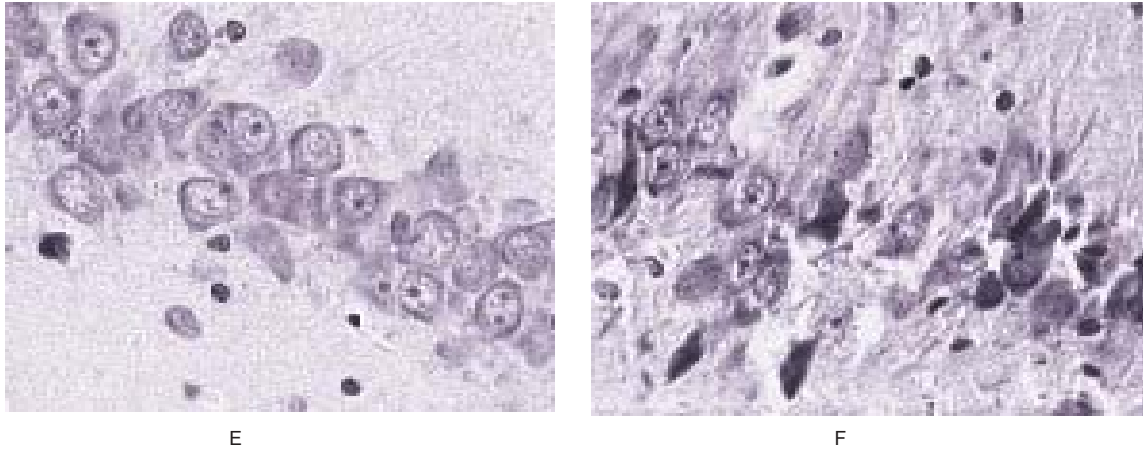
Б



С



Д



E

F

Рис. 1. Нейродегенерація на 5 тижні розвитку цукрового діабету в зонах CA1 (A, B), CA2 (C, D) та CA3 (E, F) гіпокампу. A, C, E - контроль; B, D, F - діабет 5 тижнів.

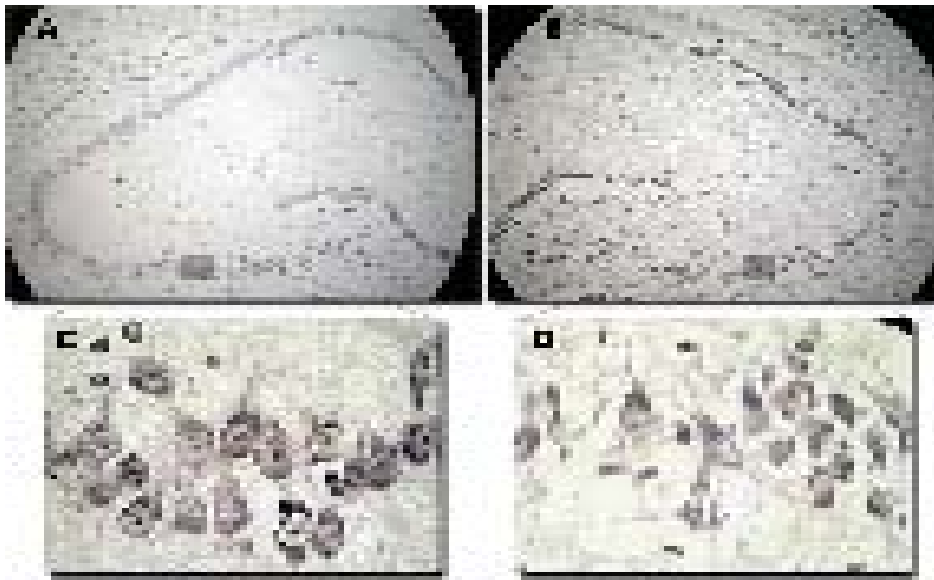
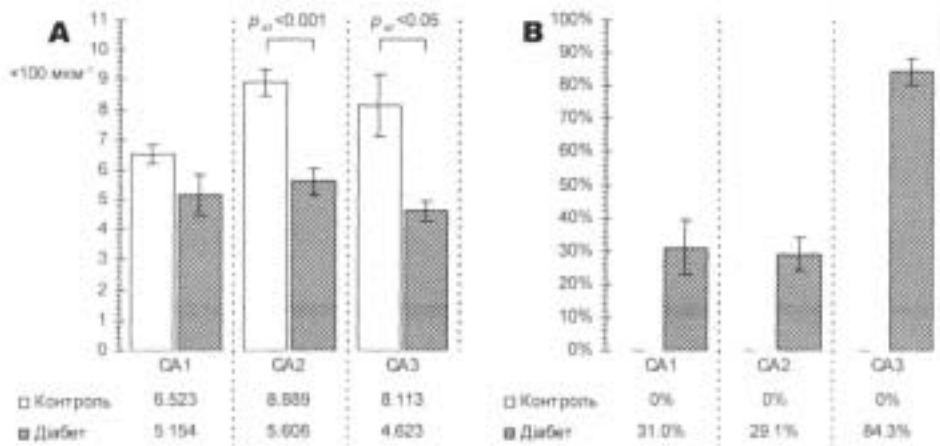


Рис. 2. Загальний вигляд гіпокампу в нормі (A, C) та при стрептозоточиновому цукровому діабеті (B, D). Об'єктив: Юх (A, B) та 40х (C, D).



A - кількість нейронів (на 100 мкм довжини пірамідного шару гіпокампу в зрізі); B - відсоток нейронів з морфологічними ознаками ушкодження (каріорексис, каріопікноз, вакуолізація цитоплазми).

товщина пірамідного шару зони CA2 знижувалась з $103,5 \pm 1,6$ мкм до $83,6 \pm 1,6$ мкм (рис. 2).

Разом зі зниженням щільності розташування інтактних клітин спостерігалась поява значної кількості клітин з ознаками ушкодження (рис. 1, 3-В): каріопікнозом, каріорексисом, конденсацією цитоплазми чи вакуолізацією. Максимальне число загиблих нейронів спостерігалось в СА3 зоні гіпокампу, де воно сягало 84,3 %, значно перевищуючи кількість інтактних клітин цієї зони. В зонах СА1 та СА2 нейронів з ознаками ушкодження було менше, ніж інтактних - вони склали третину від загального числа клітин цих зон (31,0 % та 29,1 % відповідно).

ВИСНОВКИ Степозототинний цукровий діабет протягом 5 тижнів розвитку супроводжується нейродегенеративними змінами та призводить до вірогідного зменшення щільності розташування нейронів всіх зон гіпокампу.

1. Найбільша інтенсивність нейродегенерації при цукровому діабеті спостерігається в зонах СА3 та СА2.

2. В подальшому слід вважати доцільним здійснення досліджень, спрямованих на пошук фармакологічних та

немедикаментозних засобів гальмування загибелі нейронів гіпокампу при цукровому діабеті.

ЛІТЕРАТУРА

1. Орловский М.А. Закономерности формирования гипергликемии при экспериментальном сахарном диабете // Патология. - 2004. - Т.1, №1. - С.52-56.
2. Пирс Э. Гистохимия. - М., 1962. -962 с.
3. Biessels G.J., ter Laak M.P., Hamers F.P., Gispen W.H. Neuronal Ca²⁺ dysregulation in diabetes mellitus // Eur. J. Pharmacol. - 2002. - Vol. 447, N 2-3. - P. 201-209.
4. Diabetes mellitus // WHO. Fact sheets. - Revised 2002. - № 138. - 3 p.
5. Felig P., Baxter J.D., Frohman L.A. Endocrinology and metabolism. 3rd ed. - N. Y.: McGraw-Hill. Inc, 1995. - 1940 p.
6. Gispen W.H., Biessels G.J. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus // Trends Neurosci. - 2000. - Vol. 23, № 11 - P. 542-549.
7. Parihar M.S., Chaudhary M., Shetty R., Hemnani T. Susceptibility of hippocampus and cerebral cortex to oxidative damage in streptozotocin treated mice: prevention by extracts of *Withania somnifera* and *Aloe vera* // J. Clin. Neurosci. - 2004. - Vol. 11, № 4. - P. 397-402.
8. Revin Y., Saravia F., Roig P., et al. Neuronal and astroglial alterations in the hippocampus of a mouse model for type 1 diabetes // Brain Res. - 2005. - Vol. 1038, № 1. - P. 22-31.
9. Trudeau F., Gagnon S., Massicotte G. Hippocampal synaptic plasticity and glutamate receptor regulation: influences of diabetes mellitus // Eur. J. Pharmacol. - 2004. - Vol. 490, № 1-3. - P. 177-186.

МОРФОГЕНЕЗ ЛІМФОГЕННОГО КАРДІОСКЛЕРОЗУ ПРИ ХРОНІЧНІЙ АЛКОГОЛЬНІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського

МОРФОГЕНЕЗ ЛІМФОГЕННОГО КАРДІОСКЛЕРОЗУ ПРИ ХРОНІЧНІЙ АЛКОГОЛЬНІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ - Вивчалось лімфатичне русло серця людей з тривалим зловживанням алкогольних напоїв в анамнезі та померлих від хронічної серцевої недостатності. Встановлено, що хронічний набряк стінок серця, як один із провідних синдромів його алкогольного ураження, викликає цілий ряд морфологічних компенсаторно-приспосувальних реакцій лімфатичного компонента мікроциркуляторного русла серця. Застій лімфи, яка містить високі концентрації метаболітів, обумовлює циркуляторну гіпоксію і проявляє склерогенний вплив.

МОРФОГЕНЕЗ ЛІМФОГЕННОГО КАРДІОСКЛЕРОЗУ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ – Изучалось лимфатическое русло сердца людей с длительным злоупотреблением алкогольными напитками в анамнезе и умерших от хронической сердечной недостаточности. Установлено, что хронический отёк створы сердца, как один из ведущих синдромов его алкогольного поражения, вызывает целый ряд морфологических компенсаторно-приспособительных реакций лимфатического компонента микроциркуляторного русла сердца. Застой лимфы, которая содержит высокие концентрации метаболитов обуславливает циркуляторную гипоксию и проявляет склерогенное влияние.

MORPHOGENESIS OF LYMPHOGENIC CARDIOSCLEROSIS IN CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION – Heart lymphatic bed in patients abusing ethanol for a long period of time, who died by the reason of heart insufficiency has been studied. Chronic interstitial edema is one of the leading signs of alcoholic heart damage causing functional and structural reconstruction of lymphatic vessels. Sclerogenic affect of lymphostasis with high of level metabolites is fixed.

Ключові слова: серце, лімфатична система, хронічна алкогольна інтоксикація.

Ключевые слова: сердце, лимфатическая система, хроническая алкогольная интоксикация.

Key words: heart, lymphatic system, chronic alcoholic intoxication.

ВСТУП Важлива роль лімфатичної системи в підтриманні гомеостазу визначається багатогранністю й складністю її функцій в організмі. Як один із компонентів системи мікроциркуляції внутрішньоорганне лімфатичне русло дремує інтерстицій, «спеціалізуючись» на елімінації переважно грубодисперсних субстанцій [5,6]. Лімфатична система регулює склад і об'єм внутрішньотканинного середовища, резорбуючи частину води і білки, які фільтруються з крові [8]. Будь-які порушення мікрогемодинаміки і проникності гістогематичного бар'єру змінюють і процеси лімфоциркуляції [7]. Застій лімфи зумовлює циркуляторну гіпоксію і нагромадження в тканині продуктів порушеного метаболізму, виявляючи, тим самим, гістотоксичний і склерогенний вплив [1,2,4]. Наслідком хронічно перебігаючих процесів в серці є кардіосклероз [3]. Зокрема, це стосується його тривалої алкоголізації.

Мета дослідження – вивчити роль порушень лімфодинаміки серця у формуванні кардіосклерозу в умовах хронічної алкогольної інтоксикації.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Дослідження виконані на серцях 120 померлих людей, які в анамнезі тривалий час (10-25 років) зловживали алкогольними напоями. Лімфатичне русло серця ін'єкували берлінською блакиттю, приготуваною на хлороформі (1:100), і вивчали стереоангіоскопічно на просвітлених препаратах. Гістологічні препарати забарвлювалися гематоксилін-еозином та за методом Ван-Гізон з наступним вивченням під світлооптичним мікроскопом.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Вивчення ін'єкованих препаратів дозволило виділити різні види структурних станів лімфатичного русла в серці при алкогольній міокардіодистрофії.

Капілярну сітку епікарда представляють лімфатичні капіляри, діаметр яких більше, ніж вдвоє перевищує такий в незміненому серці: $101,20 \text{ мкм} \pm 7,62 \text{ мкм}$ (норма - $52,10 \pm 4,91$; $P < 0,05$). Місцями до описаних змін приєднується

феномен росту лімфатичних капілярів (ЛК). Тут знайдені чисельні сліпі пальцеподібні вирости, що виходять із бокових стінок ЛК. ЛК, які ростуть, виявлені в усіх ділянках епікарда. Новоутворені ЛК дрібнопетлистої сітки поступово утворюють новий поверхневий шар, який простягається над лімфатичними посткапілярами крупнопетлистої сітки. Таким чином, формується друга поверхнева сітка, утворена дрібними петлями тонких капілярів. Лімфатичні посткапіляри, які утворюють крупнопетлисту сітку, теж різко змінюються. Деякі з них набувають вигляду широких лакун. В їх стінках з'являється велика кількість брунькоподібних виростів. З таких «бруньок» виникають нові ЛК, які ростуть в площині крупнопетлистої сітки та анастомозують з новоутвореною поверхневою дрібнопетлистою сіткою за допомогою вертикально та під кутом розміщених капілярів.

В між'язовій сполучнотканинній стромі теж виявляються зміни: нерівномірний набряк, який обумовлює розривлення сполучнотканинних фібрил, дрібні вогнища склерозу. ЛК, як правило, значно розширені. Діаметр їх складає $101,20 \text{ мкм} \pm 7,62 \text{ мкм}$ при нормі $52,10 \text{ мкм} \pm 4,91 \text{ мкм}$ ($P < 0,05$). Щільність капілярного лімфатичного русла на 1 мм^2 зростає до $15,50 \pm 2,50$ при нормі $8,90 \pm 1,30$ ($P < 0,05$). Об'єм лімфатичного русла збільшується в 2-3 і більше разів: $6,45 \text{ см}^3 \pm 0,07 \text{ см}^3$ при нормі $1,25 \text{ см}^3 \pm 0,05 \text{ см}^3$ ($P < 0,05$).

Поряд з вищеописаними, зустрічаються ЛК з нерівномірними контурами стінок, на їх протязі спостерігаються перепади діаметру, клітини ендотелію місцями роз'єднані. На ін'єкованих препаратах в таких ділянках спостерігається вихід ін'єкційної маси в оточуючу сполучну тканину. З'являються пальцеподібні, колбоподібні та спіралеподібні форми капілярів, які починаються сліпо. В таких ділянках лімфатична сітка втрачає щільність, петлі капілярів стають незамкненими, капіляри стоншуються. Подібні атрофічні та дистрофічні процеси спостерігаються в періартеріальній та перивенозній лімфатичній сітці. Нерівномірність заповнення масою окремих фрагментів сітки може бути зумовлена тромбозом лімфатичних капілярів. Тут же можна спостерігати поступове переважання облітерованих ЛК, які перетворюються в тяжі волокнистої тканини. В епікарді виявляються ділянки розрідженої сітки з наявністю сліпих гострокінцевих капілярів різної довжини.

Паралельно з описаними спостерігаються регенеруючі ЛК у вигляді сліпих колбоподібно розширених виростів. Багато виростів несуть на собі вторинні і третинні «бруньки». Число таких регенеруючих капілярів було найбільшим на препаратах серця, взятих від трупів осіб померлих у фазі резорбції алкоголю.

В усіх випадках в стромі міокарда спостерігається тяжкий хронічний набряк, який обумовлює дезінтеграцію сполучнотканинних фібрил. Лімфатичні капіляри, як правило, значно розширені і їх діаметр складає $152,40 \text{ мкм} \pm 8,12 \text{ мкм}$ при нормі $52,10 \text{ мкм} \pm 4,91 \text{ мкм}$;

$P < 0,05$. Навколо них розміщуються грубі колагенові волокна, тим самим відмежовуючи ЛК від кровеносних. Але, створюється враження, що, обплітаючи стінки ЛК, фіброзна тканина, яка повторює контури просвітів капілярів, не перешкоджає їх розширенню.

Зміни кровеносної ланки мікроциркуляторного русла серця несуть ознаки тяжких і прогредієнтних порушень, які характеризуються паретичним розширенням судин, їх гіперемією із ознаками стази крові, плазморагіями. Стінки артеріалів і венул місцями розривлені, з вогнищами плазматичного просякання, місцями – ущільнені та гомогенізовані (гіалінізовані).

Розвиток набряку строми серця, як одного з провідних синдромів його алкогольного ураження, викликає цілий ряд морфофункціональних компенсаторно-приспосувальних реакцій лімфатичного компоненту мікроциркуляторного русла серця. Надлишок рідини, а також високомолекулярних речовин резорбується та виноситься з пошкодженого органа і в нормі. Роль лімфатичної системи значно зростає при виникненні в серці тих гомомікроциркуляторних зрушень, морфологічні еквіваленти яких описані вище.

На ранніх стадіях розладу гомомікроциркуляції в лімфатичній системі серця виникають пристосувально-компенсаторні зміни. Так діаметр лімфатичних капілярів збільшується в два рази. Внаслідок великої пластичності лімфатичних мереж зростає густина ЛК на одиницю площі: $15,5 \pm 2,5$ на мм^2 проти $8,9 \pm 1,3$ в нормі, спостерігається утворення великої кількості сліпих пальцеподібних виростів (капіляри, що ростуть), які направлені назустріч один одному і зливаються (ангіобластичний тип регенерації капілярних мереж). Формуються подвійні і потрійні мережі ЛК як в епікарді, так і в глибоких прошарках сполучної тканини. Резорбтивна площа таких мереж значно збільшується, що і зумовлює посилене всмоктування речовин, які підлягають видаленню із строми.

Такі ситуації, при яких максимальна реалізація транспортної потужності лімфатичної системи не може забезпечити виведення надмірної кількості високомолекулярних речовин і останні, разом з рідиною, нагромаджуються в стромі органу, прийнято кваліфікувати як динамічну недостатність лімфообігу. Отже, на нашому матеріалі виявлено морфологічні еквіваленти такої недостатності: незважаючи на перебудову лімфатичних мереж, набряк строми не проявляє тенденції до редукції.

Можна припустити також про наявність резорбтивної недостатності ЛК. В силу пошкоджуючої дії етанолу і його метаболіту ацетальдегіду на кардіоміоцити цілком природно припустити поширення цього ефекту на ендотеліоцити, які становлять стінку ЛК. Морфологічним еквівалентом резорбтивної недостатності є, крім деструкції ендотеліоцитів, хронічний набряк і склероз периваскулярної строми, склероз

стінок ЛК, спадання та облітерація деструйованих ЛК, що і проявляється частковою редукцією гіперплазованих лімфатичних мереж.

Все це дає підстави віднести хронічний набряк строми серця до розряду лімфодем. Лімфа, яка містить високі концентрації продуктів порушеного метаболізму, набуває тим самим кардіотоксичних та склерогенних впливів.

ВИСНОВКИ 1. Внаслідок динамічної та резорбтивної недостатності лімфатичної системи серця спостерігається хронічний набряк строми та виникають умови для прогресивного дифузного кардіосклерозу. **2.** Швидко прогресуюча серцева слабкість при хронічному алкогольному отруєнні зумовлена не тільки деструктивними змінами кардіоміоцитів, але й суттєвими розладами мікроциркуляторного русла з прогресуючим кардіосклерозом. **3.** Виявлені нами морфологічні зміни лімфо-гемоциркуляторного русла розкривають перспективи подальшого вивчення алкогольної кардіоміопатії при вживанні алкогольних напоїв різних типів та міцності.

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку. Наступні морфологічні дослідження будуть направлені на вивчення гістопатології компонентів сполучної тканини серця при хронічній алкоголізації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гавриш А.С. Морфологические изменения в сердце при нарушении лимфооттока // Cor et vasa. - 1981. - №5. - С. 266-274.
2. Гавриш А.С., Кравец С.А. Основные закономерности развития недостаточности лимфообращения в сердце // Физиологический журнал. - 1990. - Т.36, №4. - С. 15-22.
3. Зербино Д.Д. Общая патология лимфатической системы // К.: Здоров'я, 1974. - С. 160.
4. Колчинская А.З. О классификации гипоксических состояний // Патол. физиология и эксперим. терапия. - 1981. - №4. - С.3-10.
5. Куприянов В.В., Бородин Ю.И., Караганов Я.Л., Выренков Ю.Е. Микролимфология. - М.: Медицина, 1983. - С.288.
6. Левин Ю.М. Практическая лимфология. - Баку: Маариф. - 1982. - 302 с.
7. Johnston M.G. Studies of the effect of chemical mediators and their inhibitors on lymphatic vessels // J. Physiol. (Gr.Brit.). - 1980. - 308. - P.122.
8. Wiederhielm C.A. Blood - Lymph transport mechanisms // Recent Adv. Basic Microcirc. Res. Part 1 (Basel). - 1977. - P. 477-482.

Гомоляко І.В., Копчак В.М., Татаршаов М.Т.-Б., Григорова І.В., Хомяк І.В. НОВА МОДЕЛЬ ХОЛЕЦИСТИТУ ТА ЇЇ МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА

Інститут хірургії та трансплантології АМН України

НОВА МОДЕЛЬ ХОЛЕЦИСТИТУ ТА ЇЇ МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА – Нова експериментальна модель хронічного холецистититу базується на створенні копресійного біліодигестивного анастомозу. Вивчені ранні стадії рефлюкс-холецистититу у собак та кролів. Виділені 4 первинні типи реакції слизової оболонки жовчного міхура, що носять пристосувально-захисний характер і подібні у людини та тварин. Ці явища оцінені як загальнобіологічна закономірність і свідчать про важливу роль рефлюксу в морфогенезі хронічного холецистититу.

НОВАЯ МОДЕЛЬ ХОЛЕЦИСТИТА И ЕЕ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА – Новая экспериментальная модель хронического холециститита основана на создании компрессионного билиодигестивного анастомоза. Изучена ранняя стадия рефлюкс-холециститита у собак и кролей. Выделены 4 первичных типа реакции слизистой оболочки желчного пузыря, которые носят приспособительно-защитный характер и подобны у людей и животных. Это явление расценивается как общебиологическая закономерность и свидетельствует о важной роли рефлюкса в морфогенезе хронического холециститита.

NEW MODEL OF CHOLECYSTITIS AND ITS MORPHOMETRICAL CHARACTERISTICS – New experimental model is based on compressional biliodigestive anastomosis. Early stages of reflux-cholecystitis in dogs and rabbits have been studied. Four initial types of gallbladder mucous adaptive and protective reactions have been distinguished. They are similar both in human and animals. These facts was appreciated as general biological

regularity that testifies to an important role of reflux in morphogenesis of chronic cholecystitis.

Ключові слова: рефлюкс-холецистит, слизова оболонка, жовчний міхур, морфогенез, хронічний холецистит.

Ключевые слова: рефлюкс-холецистит, слизистая оболочка, желчный пузырь, морфогенез, хронический холецистит.

Key words: reflux-cholecystitis, a mucous environment, gallbladder, morphogenesis, chronic cholecystitis.

ВСТУП Хронічний калькульозний холецистит (ХКХ) є однією з найбільш розповсюджених патологій шлунково-кишкового тракту [4]. Однак, питання морфогенезу, і, особливо, ранніх етапів захворювання нез'ясовані, хоча саме вони могли б дати ключ до розуміння патогенезу, а отже, профілактики хвороби та післяопераційних ускладнень.

Мета роботи – запропонувати нову експериментальну модель хронічного холецистититу, яка найбільш наближена до природних умов, дає змогу простежити початкові етапи патології, з'ясувати їх з клінічними спостереженнями і гіпотетично відтворити дійсну послідовність морфологіч-

них змін жовчного міхура (ЖМ) при хронічному холециститі.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Моделювання рефлюкс-холециститу виконано у собак (n=16) та кролів (n=30) різної статі. При роботі з експериментальними тваринами враховували вимоги "Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та робіт з ними" ДФЦ МОЗ України (Протокол №5 від 19.06.2002 р.). Експерименти проводили з дотриманням правил гуманного відношення до тварин та біоетики Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей.

Піддослідних тварин наркотизували з урахуванням ваги тіла шляхом внутрішньом'язової ін'єкції сумішшю дроперидолу, анальгін, димедролу, а через 15 хвилин внутрішньовенно вводили 2 % розчин гексеналу. Виконували серединну лапаротомію. Петлю тонкої кишки, виключену з травлення за Брауном, підводили до тіла ЖМ і фіксували до нього серо-серозними швами по брижовому краю кишки. На 1,5–2 см вище лінії швів стінку кишки та ЖМ розтинали. Краї отворів зводили між собою шляхом накладання двох лігатур на кути отворів у ЖМ та тонкій кишці. В зроблені отвори проводили бранші компресійного пристрою таким чином, щоб стінки тонкої кишки та ЖМ опинились між кільцями компресійного пристрою з пам'яттю форми. Після стиснення кілець залишені отвори в кишці та ЖМ ушивали 2–3 вузлуватими швами.

Міхурово-кишкові комплекси досліджували в строки 2-7-15-30 та 60 діб після повторних операцій (у собак) або виведення з експерименту кролів передозуванням 10 % розчину гексеналу.

Обробку клінічного та експериментального матеріалу проводили за загальноприйнятою гістологічною методикою. Матеріал фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну і виготовляли парафінові зрізи товщиною 5–7 мкм, забарвлювали гематоксиліном та еозином, азуром-II-еозином, за Ван-Гізоном. Наявність нейтральних муцинів визначали за допомогою ШИК-реакції.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Міхурово-кишкове співустя мало широкий отвір і м'які еластичні краї, що створювало умови для вільної циркуляції кишкового вмісту в порожнині жовчного міхура.

Відповіддю на подразнення кишковим вмістом слизової оболонки (СО) ЖМ була її трансформація. При достат-

ньому рівні репаративної регенерації СО в ній розвивались нормо- та гіперпластичні зміни, при недостатній репарації – атрофія та склероз, а при її відсутності – альтерація та некроз, а в подальшому – склерозування стінки ЖМ.

Нормопластична реакція характеризувалась незначним збільшенням кількості та розмірів складок СО ЖМ та ознаками підвищеної продукції слизу. Крім того, до цього типу реакції були віднесені слабкі прояви простої папілярної гіперплазії, коли розміри складок СО незначно перевищували норму і набували незначної гіллястості. Покривний епітелій представлений рівномірним пластом епітеліоцитів призматичної форми.

Гіперплазія характеризувалась збільшенням кількості і розмірів складок СО, які іноді в 3-4 рази перевищували норму. Крім того, формувались псевдоаденоматозні структури, складені із трубчастих утворень полігональної форми; спостерігалась метаплазія атрального типу; осередково розростання у вигляді "поліпів". Покривний епітелій набував виражених рис посиленого слизоутворення: клітини високі, призматичні, ядра сплюснені в базальних відділах, а цитоплазма прозора, інтенсивно забарвлена за ШИК-реакцією.

Атрофія СО представлена значним зменшенням кількості та розмірів складок. Шар покривного епітелію нерівномірний, форма клітин – сплюснена.

У випадках альтерації СО осередково зруйнована з утворенням виразки, при цьому в стінці органа спостерігалось заміщення підслизової та м'язової оболонок сполучною тканиною.

Перелічені 4 основні типи реакції СО жовчного міхура (нормо-, гіперпластична, атрофічна та альтеративно-фіброзна) спостерігались у обох видів тварин, що дозволяє розглядати це явище, як загальнобіологічну закономірність (табл. 1).

Характерним є те, що відповідний тип реакції СО формувався в перші 2 доби. В подальші строки нормопластичний тип реакції стабілізувався, гіперпластичний повільно прогресував до 30 доби, а потім стабілізувався, атрофічний тип виглядав стабільним протягом всього періоду.

Другою складовою відповіді СО ЖМ на подразнення кишковим вмістом був розвиток запальної реакції, яка представлена дифузною або органічною лімфоїдною інфільтрацією. Найбільш виражена лімфоїдна інфільтрація супроводжувала гіперпластичні зміни СО, при нормопластичних змінах була менш виражена, а при атрофії та склерозі зустрічалась рідко.

Таблиця 1. Частота різних типів реакції слизової оболонки жовчного міхура в експерименті (%)

Групи дослідження	Типи реакції слизової оболонки жовчного міхура			
	Нормопластичний	Гіперпластичний	Атрофічний	Альтеративно-фіброзний
Собаки	50	37,5	6,25	6,25
Кролі	33,3	33,3	30	3,4

ВИСНОВКИ Створена нова експериментальна модель рефлюкс-холециститу показала, що безпосередній вплив кишкового вмісту на слизову оболонку ЖМ вже в ранні строки після операції викликає формування чотирьох типів реакції (нормо-, гіперпластичну, атрофічну та альтеративно-фіброзну), які за своєю вираженістю і частотою подібні у обох видів тварин. Основний тип реакції формується протягом перших 2–7 діб після операції і в подальшому зберігається. Запальна інфільтрація розвивається паралельно з реакцією СО і є найбільш вираженою при гіперпластичному типі реакції. Близькість змін СО ЖМ у тварин двох біологічних видів і у людини [1,2,3] дає підстави розглядати це явище як прояв загальнобіологічної закономірності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гомоляко І.В., Григорова І.В. Морфологічна характеристика рефлюкс-холециститу // Вісник морфології. - 2000. - №2. - С. 219-220.
2. Григорова І.В., Татаршаов М. Т.-Б., Гомоляко І.В. Ранние изменения в слизистой оболочке желчного пузыря при экспериментальном рефлюкс-холецистите // Матеріали респ. наук.-практ. конф. "Актуальні проблеми невідкладної хірургії органів черевної порожнини та уrogenітального тракту". - К., 1996. - С. 47-49.
3. Гомоляко І.В., Григорова І.В., Хомяк І.В. Изменения слизистой оболочки при экспериментальном холецистите у кроликов // Збірник наукових праць співробітників КМАПО ім. П.Л. Шупика. – Випуск 9. – книга 4. – К., – 2000. – С. 897-900.
4. Харченко Н.В., Анохина Г.А., Харченко В.В. Желчнокаменная болезнь: Клиника, диагностика, профилактика, лечение. - К.: Генеза, 2000. – 160с.

Волков К.С., Лучанко Л.Д., Самборський М.В.

ПЕРЕБІГ ПРИСТОСУВАЛЬНО-КОМПЕНСАТОРНИХ ТА РЕГЕНЕРАТОРНИХ ПРОЦЕСІВ У ДЕЯКИХ ОРГАНАХ ТРАВНОЇ СИСТЕМИ ПРИ ТЕРМІЧНІЙ ТРАВМІ В УМОВАХ ВИКОРИСТАННЯ ЛІОФІЛІЗОВАНИХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТІВ

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

ПЕРЕБІГ ПРИСТОСУВАЛЬНО-КОМПЕНСАТОРНИХ ТА РЕГЕНЕРАТОРНИХ ПРОЦЕСІВ У ДЕЯКИХ ОРГАНАХ ТРАВНОЇ СИСТЕМИ ПРИ ТЕРМІЧНІЙ ТРАВМІ В УМОВАХ ВИКОРИСТАННЯ ЛІОФІЛІЗОВАНИХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТІВ – В експерименті на морських свинках вивчені пристосувально-компенсаторні процеси в деяких органах травної системи після тяжких опіків в умовах проведеної ранньої некректомії і закриття рани ліофілізованими ксенодермотрансплантатами.

ТЕЧЕНИЕ ПРИСПОСОБИТЕЛЬНО-КОМПЕНСАТОРНЫХ И РЕГЕНЕРАТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ В НЕКОТОРЫХ ОРГАНАХ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ В УСЛОВИЯХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛЮОФИЛИЗИРОВАННЫХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАНТОВ – В эксперименте на морских свинках изучены приспособительно-компенсаторные процессы в некоторых органах пищеварительной системы после тяжелых ожогов в условиях проведённой ранней некрэктомии и закрытия раны лиофилизированными ксенодермотрансплантатами.

COURSE OF ADAPTIVE-COMPENSATORY AND REGENERATIVE PROCESSES IN SOME ORGANS OF DIGESTIVE SYSTEM AT THERMAL TRAUMA IN CONDITIONS OF LYOPHILIZED XENOGRAPTS APPLICATION – In experiment on guinea pigs with thermal injury of skin, the adaptive-compensatory processes in some organs of digestive system after early necrectomy and lyophilized xenografts usage was investigated. The obtained data had shown better safety of liver in such conditions as compared to control group of animals.

Ключові слова: печінка, кишечник, термічна травма, ліофілізовані ксенодермотрансплантати, пристосувально-компенсаторні процеси.

Ключевые слова: печень, кишечник, термическая травма, лиофилизированные ксенодермотрансплантаты, приспособительно-компенсаторные процессы.

Key words: liver, intestine, thermal injury, lyophilized xenografts, adaptive-compensatory processes.

ВСТУП Опіки є одним з найпоширеніших видів травм і супроводжуються значними змінами структури і функції органів та систем ураженого організму [2]. Значний науково-практичний інтерес представляють дослідження перебігу регенераторних процесів у внутрішніх органах за умови тяжкої опікової травми та її корекції новими сучасними методами [3].

Згідно із сучасними уявленнями, однією з безпосередніх причин виникнення значних морфофункціональних змін органів і тканин при опіках є екзо- і ендогенна інтоксикація [6, 7]. Тому перспективним при лікуванні тяжких опіків є застосування засобів, які б зменшили рівень токсинів в організмі. В останні роки в комбустіології при глибоких, великих за площею опіках широко використовується проведення ранньої некректомії уражених тканин, що зменшує поступлення токсинів в організм, та тимчасове закриття ран ліофілізованими ксенодермотрансплантатами [2, 3].

Поряд з втратою шкіри, при тяжких опіках наступають структурно-метаболичні порушення всіх органів та систем, в тому числі і травної системи [5]. Проте в науковій літературі мало даних про структурні зміни в найбільшій залозі травної системи – печінці та в тонкій кишці при лікуванні термічних травм, тому актуальним є проведення досліджень їх стану із застосуванням сучасних морфологічних методів [1, 7, 8].

Метою даної роботи було встановлення ультраструктурних особливостей пристосувально-компенсаторних та регенераторних процесів у печінці та тонкій кишці при тяжких експериментальних опіках в умовах застосування ліофілізованих ксенодермотрансплантатів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Досліди проведено на 24 статевозрілих морських свинках. Опік наносили під загальним ефірним наркозом водяною парою при температурі 96-97 °C на епіловану поверхню шкіри спини протягом 60

секунд. За таких умов розвивався опік ША – ШБ ступеня. Площа ураження становила 18-20 % поверхні тіла тварин. Рання некректомія пошкодженою ділянкою шкіри здійснювалась на 2 добу після опіку. Рану, що утворилася, покривали ліофілізованими ксенодермотрансплантатами. Для встановлення ультраструктурних змін печінки та тонкої кишки піддослідних тварин декапітували на 7, 14 та 21 добу (відповідно – стадії ранньої і пізньої токсемії та септикотоксемії).

Для електронно-мікроскопічних досліджень шматочки тканини печінки та голодної кишки фіксували в 2,5% розчині глутаральдегіду, постфіксували 1% розчином тетраоксиду осмію на фосфатному буфері. Подальша обробка проводилася згідно із загальноприйнятою методикою. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікротомі УМПТ-7, контрастували ураніацетатом, цитратом свинцю згідно із методом Рейнольдса та вивчали в електронному мікроскопі EM-125 K.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Електронно-мікроскопічні дослідження показали, що вже на 7 добу від початку експерименту виявлялись відмінності в структурних компонентах органів обпечених тварин, рани яких були покриті ліофілізованою ксеноскірою. Пристосувально-компенсаторні процеси в гепатоцитах проявлялись активним станом більшості ядер, гіпертрофією і гіперплазією органел. Ядра виглядали збільшеними, мали більш правильні контури, помірні розширення перинуклеарного простору. Каріолеми тільки „темних” гепатоцитів мали інвагінації та осміофільну каріоплазму. В „світлих” гепатоцитах каріоплазма містила помірну кількість гетерохроматину та виявлялась значна кількість рибосомальних гранул. Звертала увагу наявність крупних ядерців в каріоплазмі та їх дублікація. В каріолемі чітко визначались ядерні пори, їх більше – порівняно із контрольною нелікованою групою.

Мембранні структури цитоплазми були помірно деструктивно змінени порівняно з контролем. Спостерігались гіпертрофовані мітохондрії із помірно збереженими кристами та просвітленим матриксом. Канальці ендоплазматичної сітки розширені і частково фрагментовані, а на поверхні їх мембран наявні рибосоми. В цитоплазмі спостерігались незначні скупчення полісом. Диктіосомні комплексу Гольджи розміщувались поблизу ядер та склали переважно з помірно розширених цистерн та вакуолей, лізосоми біля них утворювали невеликі скупчення. В цей термін досліду серед них переважали фагосоми, в деяких можна було розрізнити залишки мембранних структур.

На васкулярних полюсах гепатоцитів у більшості випадків відмічається багато мікроворсинок, що свідчить про посилення обмінних процесів. Простори Діссе невеликі, тому що ендотеліоцити близько прилягають до гепатоцитів. Між біліарними частинами гепатоцитів наявні розширені жовчні капіляри з невеликим числом потовчених мікроворсинок. У цитоплазмі грудок глікогену значно менше ніж у гепатоцитах інтактних морських свинок, що свідчить про реалізацію цих включень внаслідок опіку.

Субмікроскопічний стан стовпчастих епітеліоцитів ворсинки слизової оболонки тонкої кишки в цей термін досліду свідчить про позитивний вплив закриття опікової рани тварин ксеноскірою. Так, більшість клітин має помірно змінені мікроворсинки, тільки частина їх фрагментована або зруйнована. Спостерігається набряк і просвітлення цитоплазми епітеліоцитів, проте деструкція ядер і органел цитоплазми менш виражена. Помірно розширюються і фраг-

ментуються каналці гранулярної ендоплазматичної сітки. На її мембранах мало рибосом, як і вільних полісом у цитоплазмі. Комплекс Гольджі має невеликі розміри і складається з окремих помірно розширених цистерн і вакуолей. Наявні гіпертрофовані мітохондрії з просвітленим матриксом і редукованими кристами, що свідчить про порушення енергозабезпечення стовпчастих епітеліоцитів в цей термін досліду.

Келихоподібні клітини частково звільнені від секреторних гранул, наявний вихід гранул в просвіт між ворсинками. Базальна пластинка, що відмежує епітеліальний шар від власної сполучнотканинної пластинки слизової оболонки тонкої кишки, місцями потовщена, виглядає набряклою. У власній пластинці наявний набряк її аморфної речовини. Колагенові і еластичні волокна розташовані пухко. Широки просвіти гемокапілярів заповнені еритроцитами. Біля гемокапілярів у набряклій пухкій волокнистій сполучній тканині спостерігається підвищений вміст лімфоцитів і плазматичних клітин. Для плазматичних клітин характерні круглі ядра з добре вираженими крупними ядерцями, розвинена гранулярна ендоплазматична сітка, яку складають нерівномірно розширені каналці на мембранах яких багато рибосом. Такий стан плазматичних клітин свідчить про високу їх функціональну активність.

На 14-21 добу досліду в досліджуваних структурах органів спостерігались активні прояви репаративної регенерації, зменшення деструктивних змін порівняно з групою обпечених тварин, яким некротомію і закриття ран ксеношкірою не проводили. Під кінець досліду ця відмінність була особливо добре помітною. В більшості гепатоцитів у ядрах переважав еухроматин, на електронно-світлому його фоні можна було спостерігати ядерця і скупчення рибосомальних гранул біля них. В цитоплазмі особливо васкулярних полюсів наявні чисельні полісоми, багато рибосом розміщено на поверхні мембран гранулярної ендоплазматичної сітки. Помірно розширені каналці ендоплазматичної сітки виявлялись в різних частинах гепатоцитів. Наявна гіперплазія мітохондрій, які у помірно осміофільному матриксі мають чітко оконтуровані кристи. Біля диктіосом апарату Гольджі поруч із первинними лізосомами та фагосомами спостерігались залишкові тільця.

Васкулярні частини гепатоцитів мають чисельні мікроворсинки, за якими розташовані помірні простори Діссе. Жовчні капіляри незначно розширені, в їх просвітах багато мікроворсинок, чітко визначаються десмосомальні контакти між плазмолемами клітин.

Стовпчасти епітеліоцити ворсинок слизової оболонки кишки на 14 і особливо 21 добу досліду мають добре структуровані, чисельні, щільно упаковані мікроворсинки на апікальній поверхні клітин, що відповідає нормалізації пристінкового травлення. В цитоплазмі спостерігаються округлоовальні ядра з чіткими контурами каріолеми та ядерними порами. У світлій каріоплазмі наявні крупні ядерця та рибосомальні гранули, скупчення яких відмічені біля

ядерної оболонки. У базальному полюсі епітеліоцитів багато помірно розширених каналців гранулярної ендоплазматичної сітки з чисельними рибосомами на їх мембранах. Гіпертрофований комплекс Гольджі розташований у над'ядерній частині цитоплазми епітеліоцитів. Його складають розширені цистерни, невелика кількість вакуолей та пухирці. Гіперплазія мітохондрій проявляється збільшенням їх числа, невеликі органели мають чіткі кристи у помірно осміофільному матриксі. Проте частина мітохондрій гіпертрофована, має подовгасту форму, просвітлений матрикс і чисельні кристи. Такі органели локалізовані частіше у базальній частині клітин. Спостерігаються келихоподібні клітини як із секреторними гранулами різної щільності, так і звільнені від секрету. У власній пластинці гемокапіляри мають помірні просвіти, чіткі базальні мембрани та добре структуровані ендотеліоцити. Останні мають багато піноцитозних пухирців та мікроворсинок, що відповідає активному перебігу трансапілярних обмінних процесів. У пухкій сполучній тканині наявні лімфоцити, плазматичні клітини, активні фібробласти.

Таким чином, отримані результати свідчать, що висічення некротично змінених тканин з місця ураження та покриття опікової рани ліофілізованими ксенодермотрансплантатами, усуваючи джерело поступлення токсинів у організм та запобігаючи їх проникненню ззовні, сприяє зменшенню деструктивних змін у печінці та структурних компонентах ворсинок слизової оболонки тонкої кишки. Крайш збереження внутрішньоклітинних компонентів, активна регенераторних процесів сприяла відносній нормалізації гепатоцитів та стовпчастих епітеліоцитів під кінець експерименту.

Отримані наукові експериментальні дані в подальшому можуть бути використані для розробки методів корекції структурних порушень органів і тканин при тяжких термічних опіках.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. – М.: Триада-Х, 1998. – 496с.
2. Бігуняк В.В., Лучанко П.І. Досвід застосування ліофілізованих абактеріальних ксенодермотрансплантатів //Ліофілізованые абактериальные ксенотрансплантаты свиной кожи в хирургии. М., -1995. – С. 15-16.
3. Бігуняк В.В. Використання консервованих ауто- і ксенотрансплантатів у комплексному лікуванні обпечених: Дис. ... доктора мед. наук. – М., 1995. – 245 с.
4. Грабчак О.І. Мікроциркуляторне русло дванадцятипалої кишки собаки //Вісник проблем біології і медицини.- 1997.- № 9.- С.113-115.
5. Григорьев П.Я., Яковенко Є.Г. Диагностика и лечение органов пищеварения. - М.: Медицина, 1996. - 515 с.
6. Лісничук Н.Є., Гнатюк М.С. Морфофункціональна характеристика судинного русла частин дванадцятипалої кишки у експериментальних тварин //Наукові записки Терноп. пед. ун-ту. Серія: Біологія.- 2001.- № 1(12).- С. 60-64.
7. Логинов А.С., Аруин Л.И. Клиническая морфология печени.- М.: Медицина, 1985.- 240 с.
8. Development, differentiation, and maturation of Kupffer cells / M.Naito, G.Hasegawa, K.Takahashi // Microsc. Res. Tech. – 1997. – Vol. 39, № 4. – P. 350-364.

ВІКОВІ ЗМІНИ В КІСТКАХ СКЕЛЕТА ПРИ АДАПТАЦІЇ ОРГАНІЗМУ ДО ЗАГАЛЬНОГО ЗНЕВОДНЕННЯ

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

ВІКОВІ ЗМІНИ В КІСТКАХ СКЕЛЕТА ПРИ АДАПТАЦІЇ ОРГАНІЗМУ ДО ЗАГАЛЬНОГО ЗНЕВОДНЕННЯ – Робота присвячена вивченню росту, формоутворенню, структурній перебудови довгих кісток скелета у тварин різних вікових груп при адаптації організму до загальної дегідратації. Дослідження проведено на 36 білих щурах-самцях лінії Вістар віком: 1,5 місяця (статевонезрілі тварини), 5 місяців (статевозрілі тварини), 18 місяців (старі тварини). Адаптація до загального зневоднення організму проводилася шляхом циклічного чергування умов водної депривації (дві доби) та стандартного харчового раціону виварію (одна доба) протягом 42 днів. Вивчали трубчасті кістки, використовуючи остеометричний, гістологічний, світлооптичний, морфометричний методи дослідження. Результати дослідження показують, що у кістковій тканині при адаптації організму до загального зневоднення відбувається перебудова внутрішньої архітекtonіки, яка починається біля судинних каналів, що призводить до розширення каналів остеонів та кістково-мозкового каналу, зменшення площі діафіза та зон росту кістки у довжину. Показано, що характер і ступінь структурно-функціональних перетворень у довгих кістках при адаптації організму до загального зневоднення залежить від віку.

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КОСТЯХ СКЕЛЕТА ПРИ АДАПТАЦИИ ОРГАНИЗМА К ОБЩЕМУ ОБЕЗВОЖИВАНИЮ – Работа посвящена изучению роста, формообразования, структурной перестройке длинных костей скелета у животных разных возрастных групп при адаптации организма к общей дегидратации. Исследование проведено на 36 белых крысах-самцах линии Вистар возрастом: 1,5 месяца (неполовозрелые животные), 5 месяцев (половозрелые животные), 18 месяцев (старые животные). Адаптация к общему обезвоживанию организма проводилась путем циклического чередования условий водной депривации (2 сутки) и стандартного пищевого рациона вивария (1 сутки) в течении 42 суток. Изучали трубчатые кости, используя остеометрический, гистологический, светооптический, морфометрический методы исследования. Результаты исследований показывают, что в костной ткани при адаптации организма к общему обезвоживанию происходит перестройка внутренней архитектоники, которая начинается около сосудистых каналов, что приводит к расширению каналов остеонів и костно-мозгового канала, уменьшению площади диафиза и зон роста костей в длину. Показано, что характер и степень структурно-функциональных изменений длинных костей при адаптации организма к общему обезвоживанию зависит от возраста.

AGE CHANGES IN SKELETON BONES UNDER ADAPTATION OF ORGANISM TO THE GENERAL DEHYDRATION – The work is dedicated to the studies of growth and formation, structural transformation of the long skeleton bones at different age groups of the animals under adaptation of organism to the general dehydration. The investigations were made on 36 white male rats of Wistar-line, aged: 1,5 months (sexually non-mature animals), 5 months (mature animals), 18 months (old animals). Adaptation of organism to general dehydration was made by cyclic alternation of water deprivation conditions (2 days) and standard nutritional ration of the vivarium (1 day) during 42 days. The tubular bones were studied using osteometrical, histological, photooptical and morphometrical methods of investigation. Results show that under adaptation to general dehydration restructuring of inner architectonics in bone tissue takes place, it begins close to vessel canals, that leads to wider osteon and medullar canals, to the decrease of diaphysis area and to deceleration of bones growing into length. The type and degree of structural and functional transformations in long bones under adaptation of organism to general dehydration have been determined to be related to age.

Ключові слова: довгі кістки, ріст, будова, вік, адаптація, загальне зневоднення.

Ключевые слова: длинные кости, рост, строение, возраст, адаптация, общее обезвоживание.

Key words: long bones, growth, structure, age, adaptation, general dehydration.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ Адаптація – закономірний процес пристосування організму до умов існування. Механізми адаптації вироблені в еволюції і спрямовані на збереження гомеостазу [2,6]. Говорять про адаптацію до зневоднення, до тепла, до гіпоксії, до темряви під час цих процесів адаптаційні механізми організму завжди напоготові і вводяться в дію у відповідь на певний сигнал. У цьому й полягає їх

гомеостатична роль. Інша ситуація складається під час захворювань. Тоді вплив патогенного фактора такий великий, що звичайних адаптаційних механізмів стає недостатньо, і гомеостаз порушується. Змінюються температура тіла, рівень глюкози в крові, починаються руйнівні процеси в тканинах, зміни об'ємів рідинних середовищ організму можна розглядати як прояв істотного напруження компенсаторних механізмів або навіть прояв вичерпності їх меж [1,3,5]. Компенсаторні механізми виникають у процесі еволюційного розвитку, однак відрізняються від адаптаційних як кількісно, так і якісно. Адаптація забезпечує сталість основних фізіологічних параметрів, тобто гомеостаз у нормі, а компенсація – це боротьба за гомеостаз в умовах, коли він уже порушений і можливе подальше поглиблення порушень. Отже, ми маємо справу із зривом адаптаційних можливостей організму в цілому, а також окремих його органів і тканин. Порушення водно-електролітного обміну нерідко призводять до тяжких функціональних розладів і визначають тяжкість перебігу захворювання [7,8,9]. Зазвичай прояв тих чи інших ознак патології нелегко пов'язати із строго визначеними структурними змінами, оскільки патологія обміну має комплексний характер. Тому проблема адаптації викликає постійну зацікавленість науковців і це питання висвітлюється у численних друкованих працях [4,10,11], проте існує ще чимало запитань стосовно характеру і природи формування пристосувальних реакцій. Особливо це стосується структурних змін в кістках скелета, які відбуваються при фізіологічних і патологічних умовах існування організму. Якщо врахувати те, що проблема зневоднення організму є частою у повсякденному житті сучасної людини, а практичні лікарі щоденно зустрічаються з проблемою синдрому зневоднення, то організм в якійсь мірі адаптується до впливу загального зневоднення, в результаті накопичення певних змін організм набуває нової якості – з неадаптованого перетворюється в адаптований. Знання механізмів дії вищеперерахованих факторів у різні вікові періоди організму на такі важливі органи, якими є кістки скелета, дасть можливість попереджувати небажані наслідки цієї дії та розробити методи їх корекції. При цьому буде можливим проведення цілеспрямованих методів для керування процесом адаптації, що дасть можливість підвищити резистентність організму до дії екстремальних факторів середовища.

МЕТА Вивчити особливості росту, будови довгих кісток скелета у різні вікові періоди при адаптації організму до загального зневоднення.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Досліджено довгі кістки 36 білих щурів-самців лінії Вістар віком: 1,5 місяця (статевонезрілі тварини), 5 місяців (статевозрілі тварини), 18 місяців (старі тварини). Адаптація експериментальних тварин до загального зневоднення проводилася шляхом циклічного чергування умов водної депривації (2 доби) та звичайного харчового раціону виварію (1 доба) протягом 42 днів. Загальне зневоднення організму моделювали на тваринах за методикою А.Д. Соболевої.

Тварин виводили з експерименту під ефірним наркозом методом декапітації з наступним скелетуванням плечових, стегнових і великогомілкових кісток.

Остеометрію проводили за U. Duerst з точністю до 0,01 мм. Вимірювали довжину кістки, ширину проксимального епіфіза, ширину дистального епіфіза, ширину середини діафіза, передньозадній розмір середини діафіза.

Мікроскопічно вивчали структуру компактною кістковою тканини діафіза плечової та стегнової кісток, проксимальної епіфізарної пластинки плечової, стегнової,

великоомілкової кісток, губчастої кісткової тканини проксимального епіфіза плечової кістки.

Гістоморфометричні дослідження хрящової і кісткової тканини проводили за А.А. Гуцолом і Ю.Ю. Кондратьєвим окулярним гвинтовим мікрометром (МОВ-1-15х) та стандартною сіткою.

В програму морфометрії довгих кісток входили такі параметри: ширина проксимальної епіфізарної хрящової пластинки, ширина зони проліферації, ширина зони дефінітивного хряща, об'єм загальної спонгіози, об'єм первинної спонгіози, довжина трабекул первинної спонгіози, кількість остеобластів у первинній спонгіозі. Програму гістоморфометрії діафіза складали такі показники: ширина шару зовнішніх генеральних пластинок, ширина шару внутрішніх генеральних пластинок, ширина остеонного шару, діаметр остеонів, діаметр каналів остеонів, на перетині площа діафізу та площа кістково-мозкового каналу.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Експериментальні дослідження засвідчили, що адаптація дослідних тварин до загального зневоднення організму супроводжується рядом змін в структурній організації та мінералізації довгих кісток скелета. За даними остеометрії і морфометрії ріст довгих кісток в довжину і ширину у статевонезрілих, статевозрілих і старих тварин при адаптації організму до загального зневоднення порівняно з тваринами контрольної групи сповільнюється. Адаптаційно-приспосувальні процеси в довгих кістках проявляються в місцях фізіологічного росту – в епіфізарних пластинках; в першу чергу, в зоні проліферації і дефінітивного хряща.

За даними морфометрії структур проксимального епіфізарного хряща довгих кісток статевонезрілих тварин при адаптації організму до загального зневоднення змінилося співвідношення між окремими зонами хряща. Спостерігається зменшення ширини епіфізарної пластинки за рахунок зменшення зони проліферації хряща порівняно з контролем. Зона дефінітивного хряща збільшена, об'єм первинної спонгіози зменшений.

У старих тварин ширина епіфізарної пластинки порівняно з контролем зменшена, зона проліферації хряща відносно контролю зменшена на 0,66-1,10 %. Незначна різниця морфометричних показників між експериментальними і контрольними групами тварин у старих щурів спричинена не стільки резорбцією, як невеликим їх приростом у контрольній групі.

При аналізі гістоморфометричних показників проксимальної епіфізарної пластинки плечових кісток у статевонезрілих тварин і статевозрілих тварин спостерігається збереження їх зональності, проте дещо змінюється співвідношення між окремими зонами хряща, витончується зона проліферації, меншою мірою зона дефінітивного хряща, де зменшується кількість структурних елементів, пригнічується мітотична активність.

Аналогічні зміни спостерігаються і у діафізах довгих кісток у тварин всіх вікових груп, при якісному аналізі гістопрепаратів діафізів стегнових кісток старих тварин звертає на себе увагу чітка межа між шаром зовнішніх генеральних пластинок, остеонним шаром і шаром внутрішніх генеральних пластинок діафізів довгих кісток. Часто спостерігаються поперечні канали між суміжними системами остеонів. У компактній речовині процеси перебудови проходять у ділянці центральних каналів остеонів. Адаптаційні

процеси призводять до зменшення площі діафіза, витончення остеонного шару, збільшення площі кістково-мозкового каналу. Процеси перебудови проходять у компактній речовині в усіх вікових групах тварин, проте у старих тварин порівняно з статевонезрілими і статевозрілими констатуються виражені структурні зміни.

Отже, внаслідок тривалого циклічного впливу водної депривації зазнала зміни мікроархітектоніка досліджуваних нами основних відділів довгих кісток у всіх групах дослідних тварин. Вищеописані зміни структури епіфізарного хряща та діафіза вважаємо структурним забезпеченням адаптації кісткової тканини до загального зневоднення організму.

ВИСНОВКИ 1. Утримання статевонезрілих, статевозрілих і старих тварин у режимі адаптації до загального зневоднення організму супроводжується незначними деструктивними змінами епіфізарних хрящових пластинок, губчастої та компактною кістковою тканиною довгих кісток та пригніченням їх росту.

2. Адаптаційно-приспосувальні процеси у довгих кістках проявляються в місцях їх фізіологічного росту у довжину – епіфізарних пластинках, в першу чергу, у зоні проліферації і дефінітивного хряща.

3. Процес адаптації є універсальним для молодих і зрілих тварин, найменш здатними до адаптації є старі тварини, вивчення їх резервів адаптації є перспективою подальших досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Взаимосвязь морфофункциональной перестройки в надпочечниках и костной ткани под влиянием экзогенной гипертермии /Ковешников В.Г., Каширина Н.К., Чистилинова Л.И. //Российские морфологические ведомости. – М., 2000. – №1-2. – С. 208-209.
2. Воложин А.И., Субботин Ю.К. Адаптация и компенсация – универсальный биологический механизм приспособления. – М.: Медицина, 1987. – 177 с.
3. Гурев С.О. Порушення розвитку опорно-рухової системи у дітей в екологічно несприятливих регіонах /Автореф. дис... д-ра мед. наук. – К., 1995. – 28 с.
4. Денисов-Никольский Ю.И. Физическая нагрузка и кость. Проблемы гомеостаза, адаптационные механизмы. Морфология. – 1996. – Т. 109. – Вып. 2. – 48 с.
5. Жалко-Титаренко В.Ф. Водно-электролитный обмен и кислотно-основное состояние в норме и при патологии. – К.: Здоров'я, 1989. – 199 с.
6. Каплан Е.Я., Цыренжапова О.Д., Шантанова Л.Н. Оптимизация адаптивных процессов организма. – М.: Наука, - 1990. - 94 с.
7. Рожинская Л.Я. Системный остеопороз: Практическое руководство. – М.: Изд-ль Мокеев, 2000. - 196 с.
8. Творко В.М. Морфофункціональні особливості міокарда щурів у реабілітаційному періоді після перенесеного сублетального зневоднення // Вісник наукових досліджень. – 2000. - № 4. – С. 104-106.
9. Пикалюк В.С., Мельник В.М. Стереометричний аналіз неоднорідних полідисперсних структур кісткової тканини дітей з патологією опорно-рухового апарату // Проблеми остеології. - 2001. – Т.4, №3. – С. 80-84.
10. Федонюк Я. І. Структурно-функціональні зміни в кістках скелету, міокарді, щитовидній залозі та наднирниках при адаптації їх до змін водно-електролітного гомеостазу організму //Український медичний альманах. – 1998. - № 3. – С. 140-142.
11. Changes of trace elements' amount in skeleton bones of adaptive to dehydration animals kept in the condition of water deprivation in the age aspect /Olexandra Kyrychok, Iryna Benzar, Yaroslav Fedonyuk, Galyna Krytska, Larysa Fedonyuk // Folia Morphologica, Supplement 1. – Wrocław: Urban and Partner, 1999. – Vol. 58, № 1. – P. 148.
12. Hering Smith K.S. Metabolic support of collecting duct transport // Kidney Int. – 1998. – Vol. 53, №. 2. – P. 408-415.

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ДІЇ ОПРОМІНЕННЯ ТА ПОЄДНАНОЇ ДІЇ ОПРОМІНЕННЯ І КАДМІЮ НА СЕРЦЕ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ НИРКОВІЙ ГІПЕРТОНІЇ

Дніпропетровська державна медична академія, м. Дніпропетровськ

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ДІЇ ОПРОМІНЕННЯ ТА ПОЄДНАНОЇ ДІЇ ОПРОМІНЕННЯ І КАДМІЮ НА СЕРЦЕ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ НИРКОВІЙ ГІПЕРТОНІЇ – Після моделювання ниркової гіпертонії вивчали роздільну та поєднану дію опромінення і кадмію (0,5 Гр) на структурні показники лівого шлуночка серця щурів. Без опромінення у щурів спостерігалось збільшення діаметра кардіоміоцитів (КМЦ) і об'єму капілярного русла. Після опромінення діаметр КМЦ зменшувався, спостерігалась редукція капілярів з розвитком артеріоло- і кардіосклерозу. Поєднана дія опромінення і кадмію виявила пошкодження клітинних елементів судин, прискорення розвитку ішемії міокарда. Кадмієва інтоксикація потенціює ушкоджуючу дію радіації.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ ОБЛУЧЕНИЯ И СОЧЕТАННОГО ДЕЙСТВИЯ ОБЛУЧЕНИЯ И КАДМИЯ НА СЕРДЦЕ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ – После моделирования почечной гипертонии изучали раздельное и сочетанное действие облучения и кадмия (0,5Гр) на структурные показатели левого желудочка сердца крыс. Без облучения у крыс наблюдалось увеличение диаметра кардиомиоцитов (КМЦ) и объема капиллярного русла. После облучения диаметр КМЦ уменьшался, наблюдалась редукция капилляров с развитием артериоло- и кардиосклероза. Сочетанное действие облучения и кадмия обнаружило повреждение клеточных элементов сосудов, ускорение развития ишемии миокарда. Кадмиевая интоксикация потенцирует повреждающее действие радиации.

COMPARATIVE ASSESSMENT OF IRRADIATION ACTION AND COMBINED IRRADIATION AND CADMIUM IMPACT ON RAT HEART IN EXPERIMENTAL RENAL HYPERTENSION – After modeling of renal hypertension there was studied separate and combined action of irradiation and cadmium (0,5 Gr) on structural parameters of a left ventricle of rats. Without irradiation in rats there was observed an increase of cardiomyocytes diameter (CMC) and volume of capillary bed. After irradiation diameter of CMC was decreasing, reduction of capillaries with development of arteriolo- and cardiosclerosis was observed. A combined action of irradiation and cadmium revealed lesions of cellular elements of the vessels, acceleration of myocardial ischemia. Cadmium intoxication potentiates a damaging action of radiation.

Ключові слова: експериментальна ниркова гіпертонія, опромінення, кадмієва інтоксикація, структура міокарда щурів.

Ключевые слова: экспериментальная почечная гипертония, облучение, кадмиевая интоксикация, структура миокарда крыс.

Key words: experimental renal hypertension, irradiation, cadmium intoxication, structure of myocardium in rats.

ВСТУП В літературі є дані про те, що іонізуюче опромінення і хронічна кадмієва інтоксикація викликають розвиток гіпертонії та порушують функцію серця [6,8,2]. Проте ці результати отримані авторами при дослідженні ізольованого впливу радіації і солей кадмію. Дані про їх комбіновану дію на стан серцево-судинної системи відсутні. Разом з тим, відомо, що після аварії на ЧАЕС в більшості регіонів України серед шкідливих факторів навколишнього середовища вони є головними [4].

Ціль даного дослідження – порівняльна оцінка ізольованого і поєднаного впливу іонізуючого випромінювання і хлориду кадмію на структуру серцевого м'язу у щурів в умовах дії специфічного функціонального навантаження з використанням моделі ниркової ішемії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Використовували 50 білих щурів самців породи "Вістар" з початковою масою тіла 200–230 г 40 тваринам стискали ліву нирку гумовим кільцем (після оперативного втручання, який здійснювали у стані глибокого етаналогового наркозу з дотриманням умов антисептики), що викликало локальну ішемію нирки з наступним розвитком синдрому стійкої артеріальної гіпертонії [11].

Щурів з нирковою ішемією розділили на 4 групи по 10 особин у кожній. Тварини 1 і 2 груп були тотально одноразово опромінені дозою 0,5 Гр за 3 місяці до операції на установці "Рокус" з кобальтовим джерелом. Потужність дози опромінення 0,54 Гр/хв.

Щурам 1 і 3 груп через 33 доби після моделювання ниркової ішемії внутрішньочеревинно одноразово вводили хлорид кадмію по 1/10 LD₅₀ (2,3 мг в 1 мл 0,9 % NaCl). Контролем були щури 2 і 4 груп, відповідно опромінені та неопромінені, яким робили ін'єкції по 1 мл 0,9 % NaCl. 10 щурів (вихідні показники) оперували без моделювання ішемії нирок.

Тварин виводили з експерименту під ефірним наркозом через 15 і 45 (через 12 діб після ін'єкції кадмію) діб після операції, розтинали і вичленяли серце. Фрагменти міокарда лівого шлуночка фіксували у суміші 2 % параформальдегіду і 2,5 % глутаральдегіду, яка була виготовлена на 0,1М фосфатному буфері з рН 7,4 при 4⁰С. Матеріал дофіксували в 1 % розчині OsO₄ і заливали в епон та аралдит. Робили серії напівтонких подовжніх та поперекових зрізів міокарда, які забарвлювали толудіновим синім.

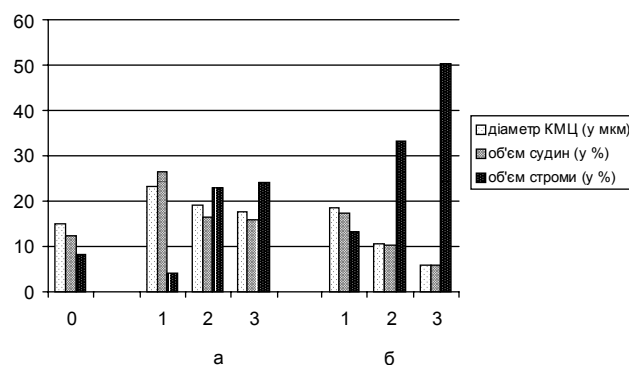
Проводили стереометричні дослідження зрізів за допомогою сітки Автанділова з фіксованим числом тест-крапок [1] при х 600 та окулярною лінійкою з кроком 1,73 мкм. Визначали діаметр (у мкм) кардіоміоцитів (КМЦ), обсяг судин і строми міокарда (в %).

Статистичну обробку даних проводили у пакеті програм "Statgraphics 4.0", достовірність оцінювали за t критерієм Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вихідні морфологічні параметри серця (мал.) відповідають тим, що є у літературі для дорослих нормотензивних щурів тієї ж породи [5], після моделювання ниркової ішемії – різко від них відрізняються. Так, через 15 діб після операції у неопроміненіх щурів з гіпертонією діаметр КМЦ збільшується на 55,3±4,6 % (p<0,05), об'єм судин зростає у 2,2 раза, в основному за рахунок різкого збільшення кількості капілярів. Чисельна щільність останніх, яка розрахована на 1 КМЦ, у нормі складає 0,39±0,06, при нирковій гіпертонії стає рівною 1,49±0,02 (p<0,05).

Враховуючи наявність збільшених у розмірі КМЦ і їх меншу щільність на одиницю площі зрізу, на кожний КМЦ припадає у 3,8 раза більше мікросудин, ніж у контролі, що супроводжується зменшенням обсягу строми міокарда в 1,8 раза.



Мал. Морфометричні показники лівого шлуночка щурів з експериментальною нирковою гіпертонією після роздільного та поєднаного впливу опромінення і кадмію.

Позначення: 0 – операція без ниркової ішемії; 1,2,3 – після моделювання ниркової ішемії: 1-15 діб, 2,3 – 45 діб (2-12 доба після ін'єкції NaCl, 3 – 12 доба після ін'єкції хлориду кадмію); а – гіпертонія без опромінення, б – гіпертонія після опромінення дозою 0,5 Гр.

До цього ж терміну у попередньо опромінених щурів з нирковою гіпертонією діаметр КМЦ практично не змінюється. Обсяг судин декілька зростає ($p > 0,05$) порівняно з контролем, але не за рахунок збільшення капілярів, бо їх чисельна щільність на 1 КМЦ залишається на рівні вихідного показника і складає $0,32 \pm 0,01$ ($p > 0,05$), а за рахунок різкого розширення венозного відділу МЦР, що поєднується з вираженим артеріосклерозом. Обсяг строми серця збільшується 1,6 раза ($p < 0,05$), має місце розвиток дрібноосередкового кардіосклерозу як кінця дегенеративно-некротичних змін у серцевому м'язі.

Через 45 дів після операції у неопромінених тварин діаметр КМЦ і об'єм судин зменшується порівняно з попереднім періодом, але обидва показники залишаються дещо вищими, ніж у контролі ($p > 0,05$). Об'єм строми збільшується у 2,8 раза, розвивається дрібноосередковий кардіосклероз, який у опромінених тварин спостерігається, як відзначалося вище, через 15 дів після операції. У неопромінених щурів, які одержали ін'єкцію кадмію, через добу загинула 1 тварина. У щурів, які залишилися, величини досліджуваних параметрів через 45 дів після операції (12 дів після ін'єкції) практично не відрізнялись від тих, що були характерні для тварин, яким замість хлористого кадмію вводили фізіологічний розчин.

Через 45 дів після операції у опромінених щурів діаметр КМЦ зменшується не тільки порівняно з попереднім періодом, але стає менше, ніж у контролі на $30,0 \pm 2,1\%$ ($p < 0,05$). Об'єм судин також достовірно зменшується, об'єм строми збільшується у 4 рази, має місце великоосередковий кардіосклероз і осередки ішемічного некрозу КМЦ. До цього терміну у опромінених щурів, яким вводили хлористий кадмій, через добу після ін'єкції загинули 3 тварини, потім – ще 2. Загальна смертність через 45 дів після операції склала 50%. У тварин, які вижили, у цій групі діаметр КМЦ і об'єм судин зменшуються порівняно з контролем відповідно у 2,6 і 2,2 раза. Чисельна щільність капілярів на 1 КМЦ знижується до $0,23 \pm 0,04$ ($p < 0,05$). На 1 КМЦ припадає, таким чином, в 1,7 разів менше капілярів, ніж у контролі, при цьому об'єм строми зростає в 1,6 раза. Виявляється поширений дифузний кардіосклероз і масовий некроз КМЦ.

Отримані результати свідчать про те, що у неопромінених щурів розвиток гіпертонії у період, який досліджувався, супроводжується гіпертрофією КМЦ і поєднується з вираженим збільшенням об'єму мікроциркуляторного русла серця. Подібні зміни у міокарді людей з гіпертонічною хворобою розцінюються як компенсаторні явища [7]. Звідси і випливає, що моделювання ниркової ішемії ініціює включення відомого механізму росту серцевого м'яза за рахунок збільшення цитоплазми у постмітотичних КМЦ [3,9,10]. Оскільки між насиченістю цитоплазми КМЦ мітохондріями, що є необхідною умовою активності процесів внутрішньоклітинної регенерації і кровопостачанням існує прямий зв'язок [5]. Цей процес здійснюється, очевидно, завдяки рясній капіляризації міокарда. Останнє забезпечує у даному випадку адекватне підвищення рівня трофічних і енергетичних факторів у тканинних елементах серця, а також адаптацію органа до функціонального навантаження.

Попереднє опромінення тварин дозою 0,5 Гр приводить до зниження здібності КМЦ реалізовувати закладений у них потенціал до збільшення об'єму цитоплазми при посиленні функціонального навантаження. Так, величина і спрямованість змін досліджених показників у опромінених щурів через 15 дів після операції свідчить про наявність менш вираженої гіпертрофії міокарда, ніж у неопромінених тварин. Через 45 дів у них спостерігається виражена атрофія КМЦ. Крім того, для опромінених тварин характерний більш прискорений розвиток артеріосклерозу і редукція капілярного русла серця. У людей з гіпертонічною хворобою подібний стан мікроциркуляції спостерігається у пізній стадії гіпертонії і супроводжується серцевою недостатністю,

яка настає внаслідок вираженого кардіосклерозу [7]. У опромінених тварин, по суті, моделюється стан, який притаманний низькоплоїдному міокарду з малими резервними можливостями [3]. Ризик наслідків інфаркту і інших порушень функцій міокарда у такому серці більший, ніж у серці з підвищеною плоїдністю. Морфологічні феномени, які мають місце у серці опромінених щурів, чітко ілюструють той факт, що реалізація резерву росту серця після моделювання ниркової ішемії лімітується дефіцитом трофічних та енергетичних факторів, які виникають у результаті порушень структури мікроциркуляторного русла міокарда. Судячи по наявності у опромінених щурів, порівняно з неопроміненими, різкого посилення специфічної дії на внутрішньосерцеві артерії вазопресорного фактора ниркової етіології, що демонструється на структурному рівні, як відмічалось вище, наявністю більш вираженого артеріосклерозу, цей процес ініціюється системним ураженням радіацією гладеньком'язових клітин. Крім того, опромінення порушує, очевидно, функцію проліферативного резерву ендотелію судин, що обумовлює редукцію капілярів міокарда, яка у неопромінених щурів не спостерігається у такій вираженій формі. Ефект опромінення є стійким і незворотним та знаменується швидкопрогресуючою атрофією КМЦ і дезадаптацією серця до функціонального навантаження.

На цьому фоні чітко демонструється той факт, що короткотермінова кадмієва інтоксикація у опромінених щурів потенціє ушкоджуючу дію радіації на клітинні елементи судинного русла серця і значно прискорює відмічені вище процеси: облітерацію артерій, редукцію капілярів, атрофію КМЦ і розвиток кардіосклерозу. Це призводить до зниження здібності серцевого м'яза адаптуватися до збільшеного після операції функціонального навантаження і є, очевидно, головною причиною посилення загибелі опромінених тварин після ін'єкції кадмію.

ВИСНОВКИ Таким чином, при ізольованій і поєднаній дії опромінення і кадмію відбувається ушкодження мікроциркуляторного русла серця. Використовування ниркової ішемії як варіанта функціонального навантаження на серцево-судинну систему дозволяє виявити у концентрованій формі ступінь даного пошкодження і установити найважливішу патогенетичну ланку променевого ураження організму.

ЛІТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинск. морфометрия. Руководство. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Бойчук Т. Особливості впливу малих доз талію, кадмію і свинцю на хроноритми фібринолітичної активності серця // ГЛВ, - 1997.-№ 4, С.71-73.
3. Бродский В.Я. Полиплоидия в миокарде. Компенсаторный резерв сердца // Бюлл. экспер. биол. – 1995. - № 5. – С. 454-459.
4. Гончарук Е.И., Коршун М.М., Ткаченко И.И. и др. // Проблемы землепользования в условиях реформирования экономики. -К., 1993. - Вып. 2. - С. 145-148.
5. Коростышевская И.М., Максимов В.Ф., Маркель А.Л., Филюшина Е.Е. и др. Особенности строения миокарда у крыс с наследственной гипертензией, вскармленных нормотензивными самками // Бюлл. экспер. биол. – 2001. – Т.132. - № 9. – С.330-332.
6. Михалева Л.М., Жаворонков А.А., Черняев А.Л., Кошелев В.Б. Морфофункциональная характеристика кадмиевой артериальной гипертензии // Бюлл. экспер. биол. - 1991. - № 4. - С. 420-424.
7. Мясников А.Л. Гипертон. болезнь и атеросклероз. – М.: Медицина, 1965. – 615 с.
8. Палеев Н.Р., Ковалева Л.И., Любченко П.Н. Особенности гемодинамики у лиц, подвергшихся ионизирующему облучению // Вестник РАМН. -1994. - № 5. -С.43-45.
9. Румянцев П.П. Кардиомиоциты в процессах репродукции, дифференцировки и регенерации. – Л., 1982. – 565 с.
10. Саркисов Д.С. Миокард. В кн.: Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций: Руководство/ АМН СССР; Л.И.Аруин, А.Г.Бабаева, В.Б. Гельфанд и др.: Под ред. Д.С. Саркисова. - М.: Медицина, 1987. – С.284-295.
11. Фефев М.И. К вопросу патогенеза экспериментальной (почечной) гипертензии у крыс. В сб.: Состояние и регуляция вегетативных функций в здоровых организмах человека и животных. – Ч. 2. – Владимир, 1975. – С.196-198.

Абрамов А.В., Камишний О.М., Преподобний Є. Ю.

ВПЛИВ L-АРГІНІНУ НА БУДОВУ ЛІМФОЇДНОЇ ПОПУЛЯЦІЇ ТИМУСА

Запорізький державний медичний університет

ВПЛИВ L-АРГІНІНУ НА БУДОВУ ЛІМФОЇДНОЇ ПОПУЛЯЦІЇ ТИМУСА – В експерименті досліджувався вплив L-аргініну на будову лімфоїдної популяції тимуса. Для оцінки морфофункціонального стану тимуса використовувалася метод автоматичного морфометричного аналізу з наступним класифікаційним аналізом. Встановлено, що введення L-аргініну призводить до змін структурно-функціональної організації лімфоїдної популяції тимуса щурів, що проявляється зменшенням питомої щільності лімфоїдних клітин переважно за рахунок зменшення малих лімфоцитів.

ВЛИЯНИЕ L-АРГИНИНА НА СТРУКТУРУ ЛИМФОИДНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ТИМУСА – В эксперименте исследовалось влияние L-аргинина на структуру лимфоидной популяции тимуса. Для оценки морфофункционального состояния тимуса использовался метод автоматического морфометрического анализа с последующим классификационным анализом. Установлено, что введение L-аргинина приводит к изменениям структурно-функциональной организации лимфоидной популяции тимуса крыс, что проявляется уменьшением плотности популяции лимфоидных клеток преимущественно за счет уменьшения малых лимфоцитов.

L-ARGININE INFLUENCE ON THE STRUCTURE OF THYMUS LYMPHATIC POPULATION – The influence of L-arginine on the structure of thymus lymphatic population was researched in experiment. The method of automatic morphometric analysis with next classification analysis was used for evaluation of morphofunctional condition of thymus. It was ascertained that introduction of L-arginine results in changes of structure-functional organization of rat's thymus lymphatic population. It is manifested in decrease of density of lymphatic cells at the expense of decreasing of small lymphocytes.

Ключові слова: L-аргінін, оксид азоту, тимус, лімфоцити.

Ключевые слова: L-аргинин, оксид азота, тимус, лимфоциты.

Key words: L-arginine, nitric oxide, thymus, lymphocytes.

ВСТУП Оксид азоту (NO) являє собою унікальний за своєю природою та механізмами дії вторинний месенджер в більшості клітин організму, що стало причиною його детального вивчення в останні два десятиріччя. В організмі NO синтезується клітинами із амінокислоти L-аргініну [12]. Цей процес являє собою комплексну окислювальну реакцію, що каталізується ферментом NO-синтазою (NOS), що приєднує молекулярний кисень до кінцевого атому азоту в гуанідовій групі L-аргініну. Разом з тим, на сьогодні простої та однозначної картини дії NO на структуру органів імунної системи немає. Це зумовлено, в першу чергу тим, що активність NO сильно залежить від його концентрації. Часто захисну та токсичну дію NO можна спостерігати паралельно. Його унікальна здібність генерувати інтра- та інтерцелюлярні сигнали суттєво ускладнює прогнозування ефектів донорів NO та інгібіторів NOS, що дуже часто ускладнює використання оксиду азоту з терапевтичною метою [10].

У зв'язку з вищезазначеним, **метою даного дослідження** було вивчення впливу L-аргініну на будову лімфоїдної популяції тимуса.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Дослідження проведені на 12 самцях щурів лінії Вістар (віварій НДІ фармакології і токсикології, м.Київ) вагою 230-250 г (вік 5-6 місяців), яким протягом 14 днів вводили L-аргінін (Sigma, США) в дозі 300 мг/кг внутрішньоочередово. Щурів декапітували під наркозом (етамінал натрію 40 мг/кг), виділяли тимус, який піддавали фіксації в рідині Буена і після стандартної гістологічної обробки заливали парафіном. Гістологічні зрізи завтовшки 6 мкм, взяті із різних відділів тимуса, забарвлювали гематоксилін-еозинном. Досліджували субкапсулярну зону, зону глибокої кори, кортико-медулярну та медулярну зони тимуса. Зони тимуса за допомогою високочутливої відеокамери СОНУ-7722 (США), яка була зв'язана з мікроскопом Axioskop (Zeiss, Німеччина) вводили до системи цифрового аналізу зображення V1DAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина). Аналіз відцифрованих за 8-бітну

кольоровою шкалою (256 відтінків сірого кольору) відеокадрів проводили за допомогою оригінального програмного забезпечення, що було розроблено авторами цієї статті разом з професором А.В.Абрамовим та професором Ю.М.-Колесником, на основі макро-мови програмування та бібліотеки функцій з програмного пакету VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Германия) [1]. Статистична оцінка експериментальних даних та достовірність відмінностей в групах визначалась t-статистикою Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Аналізуючи динаміку щільності популяції лімфоїдних клітин у різних зонах тимуса після введення L-аргініну, можна виділити наступні закономірності: майже у всіх зонах вірогідно зменшувалася порівняно з контрольною групою тварин сумарна щільність лімфоцитів та щільність популяції малих лімфоцитів та лімфобластів. Так, в результаті введення L-аргініну щільність малих лімфоцитів в субкапсулярній зоні зменшувалася на 67 % ($p < 0,05$), в зоні глибокої кори в 2,1 раза ($p < 0,05$), кортико-медулярній зоні в 2,2 раза ($p < 0,05$) і в медулярній зоні в 3,4 раза ($p < 0,05$) порівняно з контролем. Найбільш значне зменшення щільності лімфобластів спостерігалось в субкапсулярній зоні - майже в 2,5 раза ($p < 0,05$), а середніх лімфоцитів - в зоні глибокої кори (на 30 %) ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою тварин.

Аналіз динаміки будови лімфоїдної популяції тимуса після введення L-аргініну показав значне зниження частки малих лімфоцитів і зростання частки середніх лімфоцитів без суттєвих змін щільності клітин інших класів. Так, в медулярній зоні тимуса частка малих лімфоцитів знижувалася на 50 % ($p < 0,05$), субкапсулярній зоні - на 20 % ($p < 0,05$), в зоні глибокої кори - на 25 % ($p < 0,05$) і в кортико-медулярній зоні - на 43 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою тварин.

Необхідно також відзначити, що в результаті введення L-аргініну в усіх зонах тимуса разом зі зменшенням сумарної щільності популяції нормальних лімфоїдних клітин не відмічалось змін сумарної щільності деструктивно змінених і апоптотичних лімфоцитів. Частка цих клітин у структурі лімфоїдної популяції також залишалася на рівні контролю чи навіть знижувалася. Останній факт виявився дещо несподіваним. Відомо, що через здатність активізувати апоптоз, NO може відігравати роль ефектора в селекції та розвитку T-лімфоцитів в тимусі [4, 13]. Проапоптотична дія NO може бути обумовлена пригніченням цикліну D₁ (зупинка клітинного циклу), активацією каспаз та D₁ накопиченням р53, збільшенням чутливості клітин до TNF активованої цитотоксичності [7,11]. Крім того, NO може викликати апоптоз клітин паренхіми, деградацію міжклітинної речовини, депозицію матриксу, тобто порушувати контакти клітин з мікрооточенням та стимулювати апоптоз [8]. Поряд з цим, окрім докладно описаних ефектів цитотоксичної дії NO, в літературі є чимало прикладів, коли оксид азоту виявляє цитопротекторну дію. NO, за даними цілого ряду авторів, в невеликих дозах може виявляти антиапоптотичну дію (зокрема, в В-лімфоцитах людини та культурах клітин in vitro, таких як спленоцити, еозинофіли, гепатоцити, ендотеліоцити) [3, 5]. Це підтверджує висновок про те, що дія NO дуже неоднозначна та залежить від багатьох умов.

Одним з механізмів, що пояснює зниження кількості зрілих лімфоїдних клітин в тимусі після введення L-аргініну, на нашу думку, є зміна швидкості дозрівання та диференціювання лімфоцитів в тимусі та інтенсивності процесів міграції і рециркуляції лімфоцитів. Можливість впливу NO

на процеси міграції та рециркуляції лімфоцитів підтверджується тим, що він пригнічує утворення різних молекул клітинної адгезії, таких як VCAM-1, ICAM-1, E-селектин (CD62E), P-селектин (CD62P) [6, 9], проте донині практично немає робіт про вплив NO на T- та B-клітинну адгезію.

В цілому, роль оксиду азота у відповідях організму та клітини на дію зовнішнього середовища дуже різноманітна та не вичерпується тільки цитотоксичністю, чи, навпаки, захисним ефектом. Швидше за все, вона буде визначатися співвідношенням стресових факторів та факторів виживання клітини, що й направить дію NO в той чи інший бік. Не зважаючи на недостатню кількість робіт з вивчення ефектів NO в імунній системі та їх суперечливість, на сьогодні зрозуміло, що оксид азоту активно бере участь в регуляції імунної системи, маючи дію як між- так і внутрішньоклітинної сигнальної молекули, що запускає імунну відповідь.

ВИСНОВКИ 1. Введення L-аргініну призводить до змін структурно-функціональної організації лімфоїдної популяції тимуса щурів, що проявляється зменшенням питомої щільності лімфоїдних клітин, насамперед, за рахунок зменшення функціонально більш зрілих малих лімфоцитів.

2. Введення L-аргініну не викликає змін сумарної щільності деструктивно змінених і апоптотичних лімфоцитів та їх частки у структурі лімфоїдної популяції порівняно з контрольною групою тварин.

Перспективи подальших досліджень Враховуючи, що NO здатний впливати на проліферацію T- та B-лімфоцитів, експресію молекул MHC2, продукцію імунглобулінів, синтез ДНК та факторів транскрипції, зменшувати або збільшувати утворення цілого ряду цитокінів, впливати на диференціювання T-хелперів та здатний викликати дисбаланс між Th1-ro та Th2-го типів та, відповідно, дисбаланс між рівнем цитокінів, які вони утворюють [2], що може лежати в основі патогенезу багатьох хвороб, в тому числі цукрового діабету 1 типу, мають значний інтерес подальші дослідження з вивчення впливу донорів NO

та блокаторів NOS на стан імунної системи при експериментальному цукровому діабеті.

Література

1. Абрамов А.В., Колесник Ю.М., Любомирська В.А., Камишний О.М. Алгоритм автоматичного аналізу лімфоїдної популяції тимуса // Вісник морфології. – 2002, № 2. – С. 361-362.
2. Bauer H. Nitric oxide inhibits the secretion of T-helper 1- and T-helper 2-associated cytokines in activated human T cells // Immunology. – 1997. – Vol. 90. – P. 205-211.
3. Beauvais F., Michel L., Dubertret L. The nitric oxide donors, azide and hydroxylamine, inhibit the programmed cell death of cytokine-deprived human eosinophils // FEBS Lett. – 1995. – Vol. 361. – P. 229-232.
4. Fehsel K., Kroncke K. Nitric oxide induces apoptosis in mouse thymocytes // J. Immunol. – 1995. – Vol. 155. – P. 2858-2860.
5. Genaro A., Hortelano S., Alvarez A., Martinez C. Splenic B-lymphocyte programmed cell death is prevented by nitric oxide release through mechanisms involving sustained Bcl-2 levels // Immunol. – 1998. – Vol. 161. – P. 4122-4128.
6. Lefer D. et al. Leukocyte-endothelial cell interactions in nitric oxide synthase-deficient mice // Am. J. Physiol. – 1999. – Vol. 276. – P. 1943-1950.
7. Lu L., Bonham C. Induction of nitric oxide synthase in mouse dendritic cells by IFN- γ endotoxin, and interaction with allogeneic T-cells: nitric oxide production is associated with dendritic cell apoptosis // J. Immunol. – 1996. – Vol. 157. – P. 3577.
8. Mosser D.D., Caron A.W., Bourget L., Denis-Larose C, Massie B. Role of the human heat shock protein HSP70 in protection against stress-induced apoptosis // Mol. Cell Biol. – 1997. – Vol. 17. – P. 5317-5327.
9. Spiecker M. Differential regulation of endothelial cell adhesion molecule expression by nitric oxide donors and antioxidants // J. Leuk. Biol. – 1998. – Vol. 63. – P. 732-739.
10. Stuehr D. Mammalian nitric oxide synthases // Biochim. Biophys. Acta. – 1999. – Vol. 1411. – P. 217-230.
11. Vigil M. et al. Rat inducible nitric oxide synthase in T cells regulates, T cell death and immune memory // J. Clin. Invest. – 2004. – Vol. 113. – P. 1734-1742.
12. Wu G., Morris S. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond // Biochem. J. – 1998. – Vol. 336. – P. 1-17.
13. Zhou X., Gordon A. et al. Nitric oxide induces thymocyte apoptosis via a caspase-1-dependent mechanism // The Journal of Immunology. – 2000. – Vol. 165. – P. 1252-1258.

Галкін Д.Ю.

МОРФОЛОГІЧНІ ОЗНАКИ РЕГРЕСІЇ ПУХЛИНИ РАКУ ШЛУНКА

Донецький державний медичний університет ім. М. Горького

МОРФОЛОГІЧНІ ОЗНАКИ РЕГРЕСІЇ ПУХЛИНИ РАКУ ШЛУНКА – Проведений аналіз 51 випадку раку шлунка виявив, що елементи спонтанної регресії у різному ступені виразності виявляються у різних видів раку шлунка у вигляді апоптозу, некрозу, незворотної атрофії, термінального диференціювання.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ СПОНТАННОЙ РЕГРЕССИИ ОПУХОЛИ РАКА ЖЕЛУДКА – Проведенный анализ 51 случая рака желудка выявил, что элементы спонтанной регрессии разной степени выраженности встречаются у разных видов рака желудка в виде апоптоза, некроза, необратимой атрофии, терминальной дифференцировки.

MORPHOLOGICAL SIGNS OF SPONTANEOUS REGRESSION OF TUMOR AT GASTRIC CANCER – The performed analysis of 51 cases of stomach cancer showed that elements of spontaneous regression of different stages occur at various types of stomach cancers as apoptosis, necrosis, irreversible atrophy, terminal differentiation.

Ключові слова: спонтанна регресія, рак шлунка.
Ключевые слова: спонтанная регрессия, рак желудка.
Key words: spontaneous regression, gastric cancer.

ВСТУП У літературі є повідомлення про дуже рідкі випадки спонтанної регресії злоякісних пухлин. І хоча це питання багато вивчалось з клінічної точки зору, морфологічні прояви цього феномену досліджені мало. Спонтанна регресія (СР) злоякісних пухлин визначається як часткове або повне зник-

нення доведених злоякісних пухлин без адекватного лікування. Вважається, що СР зустрічається не більш, ніж в одному випадку на 60,000 – 100,000. [6]. СР зафіксована для багатьох типів пухлин, але частіше повідомлялося про СР нейробластом, нирковоклітинних раків, меланом, лімфом і лейкозів. Також описані поодинокі випадки клінічно значущої СР раку шлунка (РШ) [12] і множинні повідомлення про регресію лімфом шлунка, у тому числі одиничний випадок T-клітинної лімфоми шлунка після ерадикації H. pylori [5, 9].

Для пояснення феномена СР були запропоновані наступні механізми: дія імунних медіаторів, інгібіція факторів росту і цитокінів, індукція диференціювання, гормональні впливи, елімінація карциногенів, некроз пухлини, інгібіція ангиогенезу, психологічні фактори, апоптоз і епігенетичні механізми, можлива участь відразу декількох факторів. Кінцевим результатом кожного з цих механізмів вважають диференціювання або клітинну смерть [8]. Багато авторів велике значення в розвитку спонтанної регресії додають апоптозу. На думку Kaiser і співавторів (2000 р.) без апоптозу практично не буває регресії в жодному виді пухлини [10]. При РШ, поряд з раком легень, сечового міхура, товстої і прямої кишки, шийки матки, знайдена кореляція високих значень апоптотичного індексу з більшою трива-

лістю життя хворих, тоді як у раку іншої локалізації апопто-тичний індекс є негативним прогностичним фактором [1].

Для перебігу РШ велике значення має місцева імунна реакція організму, спрямована на індукцію апоптозу пухлинних клітин. Відомо, що стимуляція імунної відповіді, як найбільш важливого ефекторного фактора у СР раку, також частіше реалізується шляхом апоптозу. Лікування пухлин різними препаратами, радіацією чи імунотерапією, – усе включає основний механізм програмованої клітинної смерті або апоптозу. Стимулюючі фактори загибелі пухлинних клітин (ПК) численні, ними можуть бути бактеріальні продукти, ферменти, інфекції, гормони, травма. З 176 випадків, описаних Everson and Cole, 40 % були зв'язані з операційною травмою, у 8 хворих була попередня тяжка інфекція [4].

Часте сполучення СР із гострою інфекцією було відзначено тисячі років тому. У 1890-х William Coley запровадив новий метод лікування, створивши бактеріальну вакцину, що викликала повну регресію поширеної метастатичної хвороби. Є думка, що технології асептики й антибіотики, що істотно знижують частоту післяопераційних інфекцій, а також хіміо- та променева терапія, що придушує імунну активацію навіть у випадках, якщо інфекція є, значно зменшують і частоту СР [11].

Механізми, відповідальні за СР раку можуть бути і неімунногенними, зокрема реалізація некротизуючих властивостей ендотоксину [13]. Причому загибель ПК шляхом некрозу, на відміну від апоптозу, індукує сигнали імунологічної активації, що залучають, активують і сприяють дозріванню антиген-презентуючих клітин, а також підвищує імунногенність пухлини [3]. Наявність гіпоксії чи некрозів у стерильній пухлині індукує синтез факторів, що стимулюють пухлину, інфекція ж зрушує баланс у бік захисної імунної відповіді. Однак, є парадокс у дії гострої і хронічної інфекції. Н. pylori в шлунку, Schistosoma haematobium у сечовому міхурі, papilloma virus у шийці матки спочатку ушкоджують орган, де згодом розвивається рак і придушують імунну відповідь [11].

Одним з місцевих проявів імунної реакції організму на пухлину є клітинна інфільтрація стромі. Однак, наявність тих чи інших клітин у стромі пухлини саме по собі не може бути чітким критерієм прогнозу пухлини, тому що клітини інфільтрату можуть мати як цитотоксичну дію на ПК, так і, навпаки, брати участь у реакціях супресії імунітету і посилення пухлинного зросту [7]. Бережня Н. М. і співавтори вважають, що біологічна роль лімфоцитів, інфільтруючих пухлину (ЛІП) змінюється на різних етапах пухлинного росту в зв'язку зі зміною мікрооточення, фенотипу ЛІП, антигенних властивостей пухлини [2].

Метою даного дослідження є спроба виявити в раку шлунка елементи СР, зокрема, ознаки різних видів заги-

белі ПК шляхом некрозу, апоптозу, атрофії, а також прояви репродуктивної загибелі.

Об'єкт і методи дослідження Досліджено пухлини 51 пацієнта із раком шлунка. Матеріал для дослідження одержували інтраопераційно, у поодиноких випадках – на аутопсії. Зразки пухлини фіксували у 10 % формаліні та парафінували, препарати забарвлювали гематоксиліном та еозином, за Ван-Гізона. Для оцінки продукції муцинів та визначення їх типу використовували PAS- реакцію та забарвлення альціановим синім з рН 2,5 і 1,0. Ендокринну диференційовку виявляли при імпрегнації препаратів сріблом за Гримеліусом і Масоном, забарвленні за Севками, шляхом оцінки активності естерази в клітинах пухлини. Мітотичну активність оцінювали в препаратах, забарвлених галоціанін-хромовими галунами. Ознаки апоптозу виявляли в препаратах, забарвлених гематоксиліном та еозином, а також галоціанін-хромовими галунами.

Результати досліджень та їх обговорення Прояви СР у РШ, з одного боку, різноманітні, а з іншого, – універсальні. Головним морфологічним критерієм, що обумовлює СР, є загибель і/або незворотна альтерація генетичного апарату ПК (каріолізис, каріопікноз, каріорексис) у сполученні з плазмолізмом чи ретракцією їхньої цитоплазми з виходом у коагуляційний чи коагуляційний некроз, а також апоптоз, незворотна атрофія. Варіантами репродуктивної загибелі можуть вважатися різноманітні випадки порушення мітозу і прояви термінальної диференційовки з виходом ПК з мітотичного пулу.

У дослідженому нами 51 випадку РШ у 25,5 % випадків спостерігалася мінімальна СР, у 64,7 % – слабка, і лише в 9,8 % – помірна СР. Вираженої СР не було виявлено в жодному з випадків. Досить частим проявом СР були картини загибелі ПК, комплексів і окремих залоз шляхом апоптозу. Апоптоз відзначався в 34 випадках (66,7 %) раку в просвіті ракових залоз (рис. 1), в епітелії, що вистилає ці залози, в пухлинних комплексах та поодиноких ПК. Як прояв дії несприятливих для ПК факторів був розцінений нерідкий апоптоз ПК у емболах (рис. 2).

Не менш рідкою знахідкою був і некроз пухлинної паренхіми. Вогнища некрозу різних розмірів, від одиничних ПК до декількох полів зору малого збільшення мікроскопа, виявлялися в 33 випадках (64,7 %) досліджених РШ. Загибель ПК шляхом некрозу спостерігалася в краї інвазії пухлини, у пухлинних емболах і серед вираженого клітинного, імунного, лімфоплазмозитарного, і поліморфно-ядерного лейкоцитарного інфільтрату (рис. 3).

Найбільш частим, хоча і, як правило, менш поширеним по площі, проявом СР з'явилася атрофія. Вона була виявлена в 40 випадках (78,4 %). Атрофія мала прояви у вигляді пікнозу ядер ПК, потоншення епітелію (рис. 4), який вистилає залози, що іноді спостерігалось разом з некрозом (рис. 5),

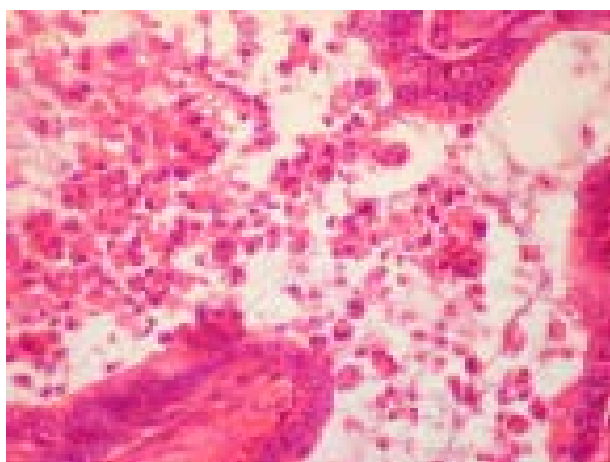


Рис. 1. Забарвлення гематоксиліном та еозином, *400: значний апоптоз клітин аденокарциноми у просвіті залози.

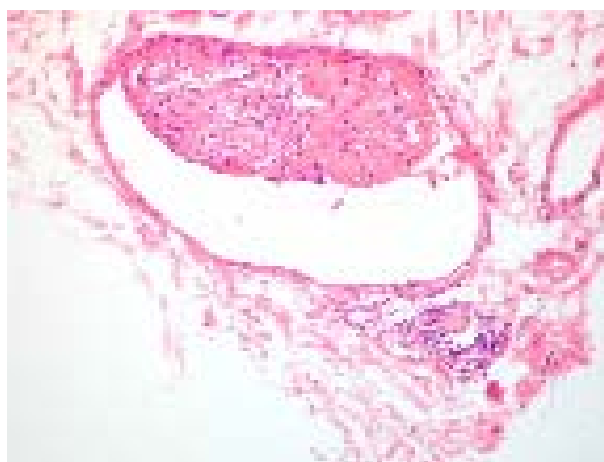


Рис. 2. Забарвлення гематоксиліном та еозином, *200: загибель клітин пухлини у просвіті судини з тромбоутворенням.

а також розривом залоз з виходом слизу в навколишній простір. Прояви атрофії мали місце серед щільної фіброзної стромы та імунного клітинного інфільтрату (рис. 6).

Крім того, спостерігалися прояви термінальної диференційовки, у вигляді значного ендокринно-клітинного дифе-

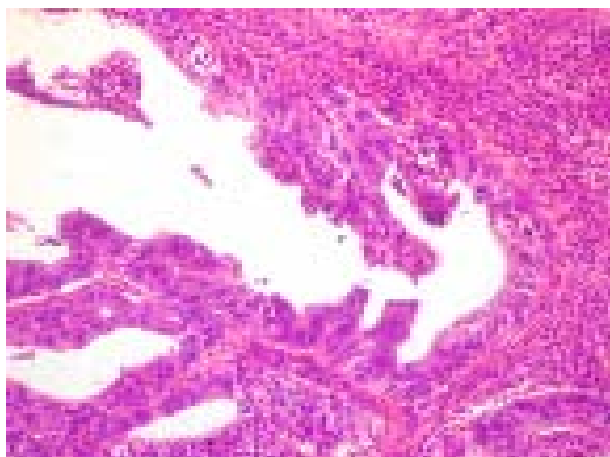


Рис. 3. Забарвлення гематоксилином та еозином, *200: некроз клітин аденокарциноми серед значного поліморфно-ядерного інфільтрату.



Рис. 5. Забарвлення гематоксилином та еозином, *200: некроз і атрофія клітин аденокарциноми серед значного лейкоцитарного інфільтрату.

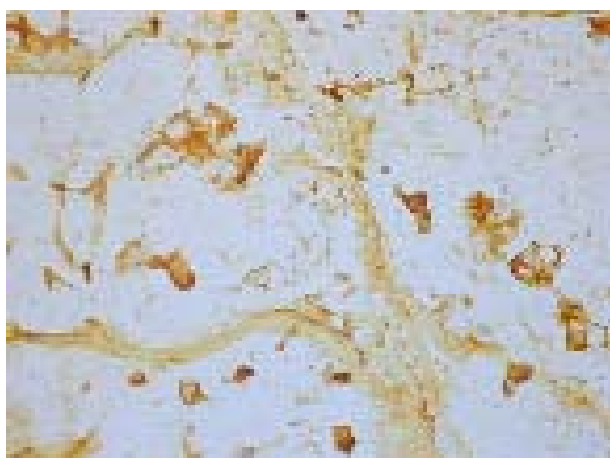


Рис. 7. Забарвлення за Гримеліусом, *400: велика кількість ендокринних гранул у цитоплазмі клітин дифузного раку.

ренціювання (рис. 7), а також у вигляді перснеподібних клітин з максимальною секрецією й атрофією ядер (рис. 8), та, іноді, гіперсекреції слизу в аденокарциномі із загибеллю пухлинних залоз (рис. 9). Прояви термінальної диференційовки були виявлені в 12 випадках (23,5 %).

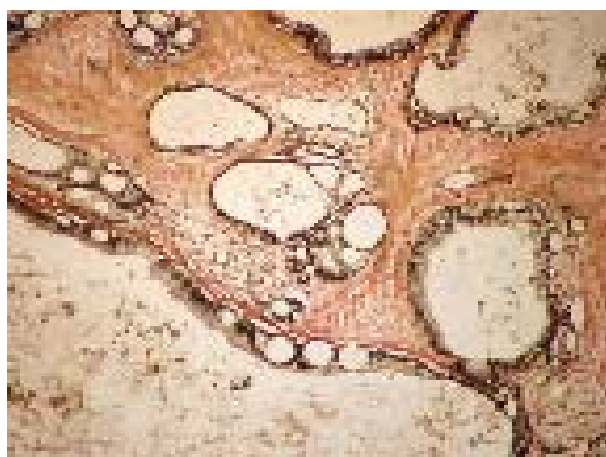


Рис. 4. Забарвлення за Ван-Гізон, *100: різка атрофія епітелію залоз аденокарциноми серед фіброзної тканини.

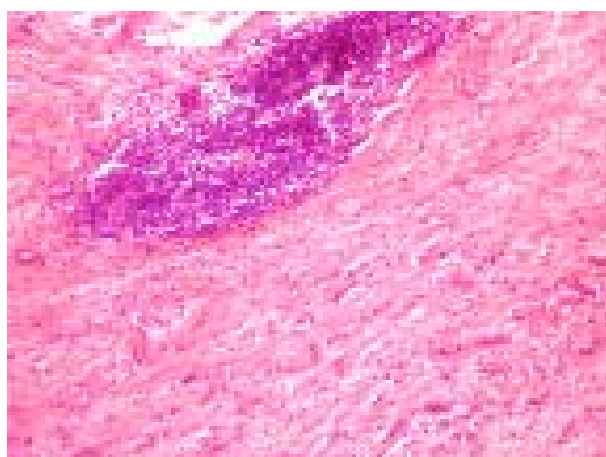


Рис. 6. Забарвлення гематоксилином та еозином, *200: загибель клітин поліморфноклітинного раку зі значним зменшенням їх об'єму, пікнозом ядер серед щільної рубцевої стромы; поряд із лімфоїдним інфільтратом клітини пухлини відсутні.

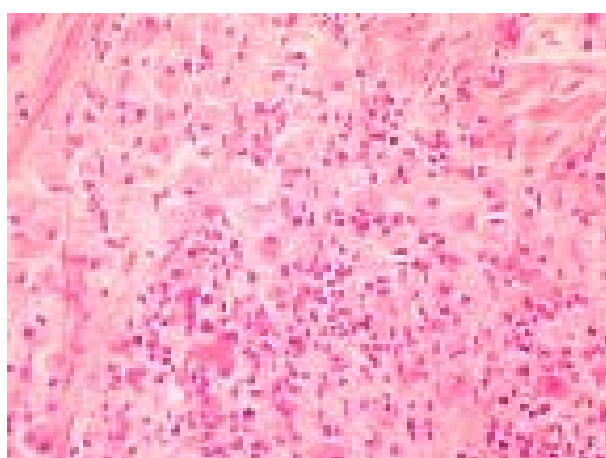


Рис. 8. Забарвлення гематоксилином та еозином, *400: перснеподібні клітини з максимальною секрецією слизу і атрофією ядер в дифузному раці.

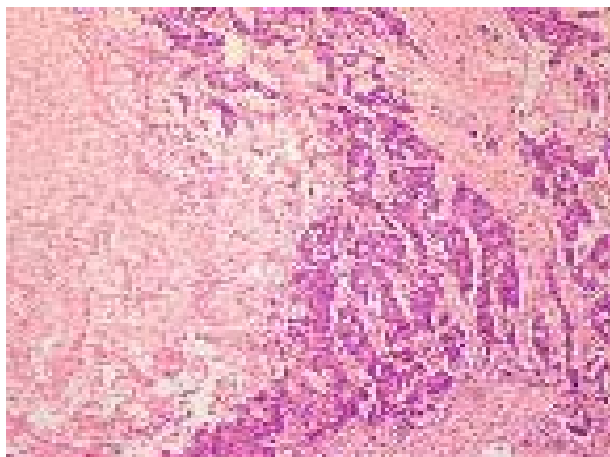


Рис. 9. Забарвлення гематоксилином та еозином, *100: гіперпродукція слизу в центрі пухлини з утворенням озер слизу та загибеллю клітин аденокарциноми.

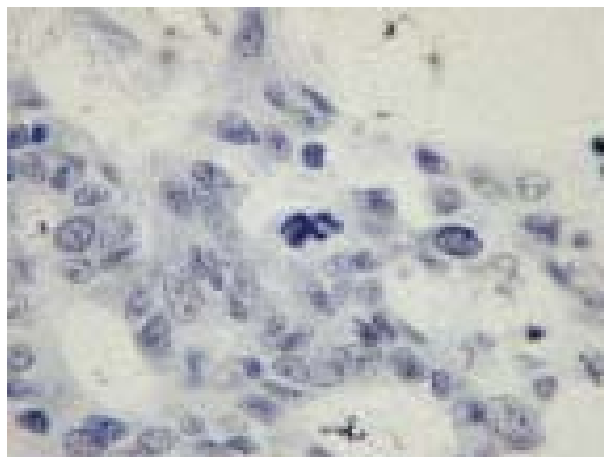


Рис. 10. Забарвлення галоціанін-хромовими галунами, *1000: патологічний мітоз клітини аденокарциноми.

Як менш значущі прояви СР, зрідка відзначалася вогнищева вакуольна дистрофія, патологічні мітози (малюнок 10) і наявність пухлинних гігантів, подібних тим, що виникають при специфічному лікуванні пухлин, і які, можливо, є показником репродуктивної загибелі ПК.

ВИСНОВКИ Таким чином, нами було виявлено, що елементи СР різного ступеня виразності виявляються у більшості РШ у вигляді апоптозу, некрозу, незворотної атрофії, термінального диференціювання. Ми спостерігали такі зміни серед щільної строми, клітинного інфільтрату, в ділянках низької васкуляризації і вважаємо, що в розвитку СР у РШ має значення сукупність цих факторів. Проте ступінь впливу кожного з цих факторів залишається недостатньо вивченим, тому планується продовжувати дослідження цього феномену.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абраменко И. В., Фильченков А. А. Оценка параметров апоптоза в диагностике онкологических заболеваний, их прогнозе и оптимизации схем терапии // Вопросы онкологии – 2003. – Том 49, № 1. – С. 21-30.
2. Бережная Н. М., Горечкий Б. А. Интерлейкин 2 и злокачественные новообразования человека // К.: Наукова думка, 1992. – 202 с.
3. Apoptosis or necrosis for tumor immunotherapy: what's in a name? / A.

- Melcher, M. Gough, S. Todryk, R. Vile // J. Mol. Med. – 1999. – Vol. 77, № 12. – P. 824-833

4. Cole W. H. Efforts to explain spontaneous regression of cancer // J. Surg. Oncol. – 1981 – Vol. 17, № 3. – P. 201-209.

5. Gastric MALT lymphoma and Helicobacter pylori / D. Accardo, M. Apuzzo, M. E. Bazuro, M. Ferrara, G. Tammara, G. Pippa // Recent Prog. Med. – 2000. – Vol. 91, № 4. – P.181-185

6. Markowska J., Markowska A. Spontaneous tumor regression // Ginekol. Pol. – 1998. – Vol. 69, № 1. – P. 39-44.

7. Zembala M., Mytar B., Ruggiero J., Uracs W. et al. // J. Nat. Cancer Inst. – 1983. – Vol. 70. – P. 223-228.

8. Papac R.J. Spontaneous regression of cancer: possible mechanisms // In Vivo. – 1998. – Vol. 12, № 6. – P. 571-578.

9. Regression of gastric T cell lymphoma with eradication of Helicobacter pylori / C. Bariol, A. Field, C. R. Vickers, R. Ward // Gut. – 2001. – Vol. 48, № 2. – P. 269-271.

10. Spontaneous neoplastic regression: the significance of apoptosis / H. E. Kaiser, B. Jr. Bodey, S. E. Siegel, A. M. Groger, B. Bodey // In Vivo. – 2000. – Vol. 14, № 6. – P. 773-788.

11. Spontaneous regression: a hidden treasure buried in time / S. A. Hopton Cann, J. P. van Netten, C. van Netten, D. W. Glover // Med. Hypotheses. – 2002. – Vol. 58, № 2. – P. 115-119.

12. Spontaneous regression of carcinoma of the stomach / D. N. Sharma, B. K. Mohanti, N. K. Shukla, G. K. Rath // Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.). – 2000. – Vol. 12, № 5. – P. 335-336.

13. Thomas L. Possible mechanism in regression // Natl. Cancer Inst. Monogr. – 1976. – Vol. 44. – P. 137-139.

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СТІНКИ ТОНКОЇ КИШКИ ПРИ ОБТУРАЦІЙНІЙ КИШКОВІЙ НЕПРОХІДНОСТІ

Харківська медична академія післядипломної освіти

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СТІНКИ ТОНКОЇ КИШКИ ПРИ ОБТУРАЦІЙНІЙ КИШКОВІЙ НЕПРОХІДНОСТІ – В експерименті на 20 пацюках з моделлю обтураційної кишкової непрохідності (ОКН) вивчений вплив цього виду патології на характер гістоструктурних змін стінки тонкої кишки, а також рівень її мікробної забрудненості. Методами гістологічного дослідження встановлено, що вже через 12 годин від моменту обтурації в стінці тонкої кишки виявляється картина її прогресуючого гнійного запалення. При цьому рівень бактеріальної забрудненості тканин, що початково становив 10^{3-4} КОЕ/г тканини, вже через 36 годин підвищився до 10^{10-11} КОЕ/м. Дослідження показали, що джерелом гнійно-септичних ускладнень при ОКН після санації черевної порожнини є флегмонозно змінена стінка кишки.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТЕНКИ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ ОБТУРАЦИОННОЙ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ – В эксперименте на 20 крысах с моделью обтурационной кишечной непроходимости (ОКН) изучено влияние этого вида патологии на характер гистоструктурных изменений стенки тонкой кишки, а также уровень её микробной обсемененности. Методами гистологического исследования установлено, что уже через 12 часов от момента обтурации в стенке тонкой кишки обнаруживается картина её прогрессирующего гнейного воспаления. При этом уровень бактериальной обсемененности тканей, исходно составлявший 10^{3-4} КОЕ/г ткани, уже через 36 часов повысился до 10^{10-11} КОЕ/г. Исследования показали, что источником гнейно-септических осложнений при ОКН после санации брюшной полости является флегмонозно измененная стенка кишки.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF SMALL INTESTINE WALL AT INTESTINAL OBSTRUCTION – In the experiment on 20 rats with model of obturative intestinal impassability the influence of this kind of pathology on features of histological changes of small intestine wall as well as the level of its microbic dissemination has been studied. By methods of histologic research it is established, that in 12 hours from the moment of obturation in small intestine wall the picture of its progressing purulent inflammation is found out. Thus, the level of bacterial dissemination of the tissues, initially was 10^{3-4} QDU/g, in 36 hours it has raised up to 10^{10-11} QDU/g. Researches have shown, that a source of purulent-septic complications at model obturative intestinal impassability after sanitation of abdominal cavity is flegmonosly changed intestinal wall.

Ключові слова: кишкова непрохідність, стінка тонкої кишки, мікрофлора, транслокація, гнійні ускладнення.

Ключевые слова: кишечная непроходимость, стенка тонкой кишки, микрофлора, транслокация, гнойные осложнения.

Key words: intestine obstruction, small intestine wall, microflora, translocation, purulent complications.

ВСТУП У пліні останніх років в етіологічній структурі гострої кишкової непрохідності (ГКН) відбулися певні зміни. На перше місце виходить група хворих з кишковою непрохідністю, що виникла внаслідок обтурації просвіту кишки пухлиною або жовчним каменем. Особливістю непрохідності такого роду є клінічна симптоматика захворювання. Основні клінічні ознаки механічної ГКН у вигляді переїмоподібного болю, нудоти й блювання проявляються в цих хворих не відразу, а через кілька днів, а іноді й кілька тижнів з моменту виникнення непрохідності. Відповідно до цього, хворі з обтураційною ГКН надходять у стаціонар нерідко в стадії декомпенсації захворювання, а їхнє хірургічне лікування, виконуване в ургентному порядку, нерідко закінчується розвитком гнійних ускладнень, число яких становить від 50 до 75 % (1,5,6).

Запропоновано ряд способів профілактики гнійно-септичних ускладнень у хворих ГКН. Один із найпоширеніших – інтубація тонкої кишки з наступною евакуацією вмісту, селективна декомпресія (2, 3, 4) і субопераційний лаваж кишки (6). Використання кожного із запропонованих методів окремо й у комплексі забезпечує зниження числа гнійних ускладнень у вигляді нагноєння ран, перитоніту, неспроможності анастомозів, до 17-22,5 % (6).

Ціль дослідження Встановити в експерименті джерело й механізми розвитку гнійних ускладнень при обтураційній кишковій непрохідності.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Дослідження виконане на 20 білих пацюках «Вістар» обох полів вагою 190-210 г з моделлю ГКН. Під загальним знеболюванням (кетоналовий наркоз – 25 мг/100г маси) в умовах операційної тваринам виконувалася лапаротомія з наступною перев'язкою товстої кишки лігатурою в середній її третині. З експерименту тварини були виведені через 6, 12, 24 й 36 годин з моменту операції шляхом швидкої декапітації. Ділянки стінки тонкої кишки, розташовані вище місця перешкоди, були піддані гістологічному й бактеріологічному дослідженню; результати зіставлені з даними аналогічних досліджень ділянок стінки тонкої кишки без експериментальної ГКН.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Через 6 годин після моделювання обтурації при гістологічному дослідженні встановлено витончення стінки кишки за рахунок збільшення її просвіту, набрякання слизової оболонки за рахунок збільшення товщини ворсин. Також відзначене підвищене порівняно з незмінною кишкою, кількість бокалоподібних клітин. Через 6 годин після оперативного втручання в посівах розходження у видовому складі мікрофлори і її кількості порівняно з нормою не відзначалося. Загальна кількість мікроорганізмів 10^3-10^4 КСО/г. У складі переважали золотавий й епідермальний стафілокок, нетоксигенні клостридії, бактероїди й гриби.

Через 12 годин виявлені зміни, що свідчать про поглиблення процесів запалення слизового шару – бактеріологічним дослідженням на поверхні епітелію визначаються осередкові скупчення колоній бактерій; кількість нормального мікрофлори різко зменшилася. З'являлася гемолітична кишкова паличка, штами токсигенних клостридій, а також патогенний стафілокок і піогенні стрептококи. Загальна кількість патогенів склала 10^6-10^7 КСО/г тканини. При гістологічному дослідженні через 12 годин різко зросло число міжепітеліальних лімфоцитів. Серед лімфоїдних елементів в основі ворсин з'являються дрібними групами нейтрофільні лейкоцити, які визначаються в епітеліальному покриві ворсинок. Бокалоподібні клітки зосереджені в базальних відділах ворсин. Відзначається виражене повнокрів'я посудин переважно підслизового шару.

Через 24 години на препаратах виявлені процеси деструкції слизової оболонки. На більшій частині ворсинок злущений епітеліальний покрив, а на їхній поверхні перебувають ясні колонії бактерій – у біоптатах переважають штами токсигенних клостридій, вульгарного протей й патогенного стафілокока. Загальна кількість їх виросла до 10^9 КСО/г тканини. Строма ворсинок зі збереженням епітеліальним покривом з проявами набряку. Кількість лімфовузлів у стромі ворсин зменшилася, але різко зросла кількість сегментоядерних лейкоцитів, які визначаються групами в епітеліальному покриві ворсинок.

Через 36 годин у біоптатах виявлені глибокі дегенеративні зміни з боку слизової: покривний епітелій ворсинок повністю відсутній, строма їх імбібована поліморфноядерними лейкоцитами, відбулася транслокація мікрофлори в підслизовий шар. Видовий склад мікрофлори стінки кишки залишався той же, як і через 12 годин, але загальна кількість підвищилася вже до 10^{10-11} КСО/г тканини.

Таким чином, дані гістологічного вивчення приводного відділу тонкої кишки на моделі ГКН показало, що при механічній кишковій непрохідності вже через 6 годин виявляється наявність злущеного покривного епітелію у ділянці верхівки ворсин, через 12 годин у цій зоні виявлені колонії мікроорганізмів, які потім впроваджуються в слизуватий і підслизовий шар стінки кишки, викликаючи явища флегмонозного ентериту, а також вже через 12 годин ви-

никнення механічної КН відбувається зміна складу мікрофлори, вегетуючої у просвіті кишки убик переваги патогенних штамів, кількість яких збільшується в міру розвитку захворювання. Впровадження їх у підслизовий шар стінки кишки викликає її запалення, що підтверджено даними гістологічного й бактеріологічного досліджень.

Аналіз гістологічного й бактеріологічного досліджень стінки кишки показав початок формування гнійного ентериту через 12 годин з моменту виникнення захворювання. Варто припустити, що при кишковій непрохідності, що особливо довгостроково існує, джерелом гнійно-септичних ускладнень є стінка приводного відділу кишки.

ВИСНОВКИ 1. Довгостроково існуючі форми обтураційної кишкової непрохідності ведуть до розвитку флегмонозного ентериту в ділянках кишки, розташованих вище місця перешкоди.

2. Після усунення причини непрохідності, санації просвіту кишки та черевної порожнини основним джерелом бактеріемії й гнійних ускладнень є стінка кишки, що залишилася.

ЛІТЕРАТУРА

1. Воробьев Г.И., Тотиков В.З. Хирургическая тактика при обтурационном нарушении проходимости ободочной кишки // Хирургия. – 1993. – № 5. – С. 47-52.
2. Иванова Ю.В. Коррекция энтеральной недостаточности в комплексном лечении больных распространенным перитонитом // Дис. канд. мед наук. – Харьков. – 2001. – 342 с.
3. Нечаев Э.А., Курыгин А.А., Ханевич М.Д. Дренажное тонкой кишки при перитоните и кишечной непроходимости // С.Пб: Изд-во «Росмедполиое», 1993. – 240 с.
4. Петров В.П., Кузнецов И.В., Домникова А.А. Интубация тонкой кишки при лечении больных перитонитом и кишечной непроходимостью // Хирургия. – 1999. – № 5. – С. 41-44.
5. Саенко В.Ф., Білянський А.С., Лаврик А.С. Сучасні підходи до проблем гострої обструкції ободової кишки // Шпитальна хірургія. – 2005. – № 1. – С. 10-14.
6. Фомин П.Д., Заславський О.В., Беляев-Бельський О.Б. та ін. Результати оперативного лікування обтураційної товстокишкової непрохідності ракової природи // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина». Вип. 14. – 2001. – С. 49-51.

Власов В.В., Малоголовка О.А., Півторак В.І.

ОСОБЛИВОСТІ АНАТОМІЇ ТРАХЕЇ І ГОЛОВНИХ БРОНХІВ ПЛОДІВ ЛЮДИНИ

Вінницький національний медичний університет ім.М.І.Пирогова, обласна лікарня, (м.Хмельницький)

ОСОБЛИВОСТІ АНАТОМІЇ ТРАХЕЇ І ГОЛОВНИХ БРОНХІВ ПЛОДІВ ЛЮДИНИ – Проведено дослідження трахеї і головних бронхів 38 плодів людини 22-40 тижнів утробного розвитку. Використано методи: морфометрія, препарування, комп'ютерна томографія, рентгенографія, розпили за М.І.Пироговим. Зміни, які відбуваються із трахеєю та головними бронхами під час плодового періоду онтогенезу, носять кількісний і якісний характер.

ОСОБЕННОСТИ АНАТОМИИ ТРАХЕИ И ГЛАВНЫХ БРОНХОВ ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА – Проведено исследование трахеи и главных бронхов 38 плодов человека 22-40 недель утробного развития. Использовано методы: морфометрия, препарирование, компьютерная томография, рентгенография, распилы по Н.И.Пирогову. Изменения, которые происходят с трахеей и главными бронхами во время плодового периода онтогенеза, носят количественный и качественный характер.

THE FEATURES OF ANATOMY OF TRACHEA AND MAIN BRONCHES OF THE HUMAN FETUS – The investigation of trachea and main bronches of the 38 human fetus of 22-40 weeks of intrauterine growth was conducted. The methods of morphometry, preparation, computer tomography, X-ray examination, saw into pieces by M.I. Pyrohov were used. We found, that changes which occur with structure of trachea and main bronches during period of fetus ontogenesis, have quantitative and qualitative character.

Ключові слова: плід людини, трахея, бронхи.
Ключевые слова: плод человека, трахея, бронхи.
Key words: human fetus, trachea, bronches.

ВСТУП Трахея (Т), або дихальне горло, одне з тих утворень, які зумовлюють шлях дихання. Простота її форми і будови, яка дає можливість людині дихати, а медичині критичних станів забезпечувати вентиляцію легень, зовсім не означає малу значущість цього органа. У новонародженого при діаметрі Т у 3 мм набряк на 0,25 мм зменшує площу її поперечного перетину більш ніж на 50 % [3]. Особливо трагічно у новонароджених виглядають вроджені вади Т [7, 9, 10]. Будь-які, хоч трохі складні, хірургічні методи лікування, реанімаційні заходи, засоби впливу на кровообіг у малому колі відбуваються з ендотрахеальним втручанням, що передбачає введення в Т дихальної трубки.

Багато класичних робіт присвячено будові Т і бронхів дорослої, і новонародженої людини [1, 5]. Проте поза увагою дослідників залишилися дихальні шляхи передчасно народжених дітей.

Мета Дослідити будову, форму, розміри, розташування Т і бронхів плодів людини 22-40 тижнів внутрішньоутробного розвитку.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Дослідження проведено на 38 трупах плодів 22-40 тижнів внутрішньоутробного розвитку. Для дослідження використовували антропометричні, морфологічні (тонке препарування за допомогою бінокулярного мікроскопа МБС-9, розпили за М.І.Пироговим у горизонтальній, сагітальній, фронтальній площинах), методи, рентгенографію з контрастуванням [2], аксіальну комп'ютерну та магніторезонансну томографію, створення силіконових зліпків. Вік об'єктів дослідження визначали за таблицями Л.И. Фалина [8].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Т являє собою порожнисту циліндричну, дещо стиснену спереду назад трубку, розташовану в передньому відділі шийі і середостінні, яка закінчується біфуркацією – дихотомічним поділом на бронхи. Рівень початку Т у прямому положенні голови плода відповідає $C_{III}-C_{IV}$, рівень біфуркації – $Th_{III}-Th_{IV}$ – або хряща II ребра, якщо дивитись спереду. Більш низьке розташування біфуркації спостерігається у плодів з більш вузькою грудною кліткою. З віком у плода спостерігається несуттєве опускання біфуркації Т. Верхній відділ Т лежить дещо справа від середньої лінії, а відносно більша її частина покрита щитоподібною залозою, тому через шкіру не пальпується. За ходом Т відхиляється вправо (на 4-5°) і наближається до хребта. При повороті голови Т розвертається своєю сагітальною віссю в бік повороту. Т і головні бронхи знаходяться приблизно у фронтальній площині. Площиною апертюра thoracis superior Т ділиться на шийний і грудний відділи [1]. Шийний відділ Т плодів у 2,4-2,6 раза довший від грудного. При повороті голови у бік, а також сильному запрокидуванні голови (яке можливе, напевне, лише у трупа) біфуркація Т піднімається майже до рівня яремної вирізки. При опусканні голови Т дещо стискається, деформується і до середини своєї довжини опускається до грудної клітки. При розгинанні голови Т наближається до поверхні шкіри.

З відомих форм Т [6] в одному випадку спостерігалась форма подібна до пісочного годинника, у 6 (15,8 %) –

веретеноподібна, у 15 (39,5 %) – воронкоподібна, у 16 (42,1 %) – конічна. Залежності форми Т від віку плода не спостерігалось, хоча можна відмітити, що з віком плода форма Т більше наближалася до циліндричної.

По ходу Т, у більшості випадків, форма її перетину не є постійною. За рахунок мембранозної частини, яка могла бути втягнутою, форма перетину змінювалась, особливо при повороті голови в бік. Трикутну форму поперечного перетину Т [4] ми спостерігали не часто і лише в каудальній частині. Поперечний діаметр Т в міру росту плода дещо відстає від збільшення діаметру його грудної клітки (таблиця).

Довжина Т пропорційна віку плода (таблиця). При звичайному положенні голови довжина Т становить 1/9,2-1/11 окружності голови. При поворотах голови і її розгинанні довжина Т збільшується на 10-11 %. Для проведення ендоскопії, визначення довжини інтубаційної трубки, хірургічного втручання на шийній частині Т важливою є відстань від верхніх ясен до біфуркації. Ця відстань у плода пропорційна довжині тіла (таблиця).

Основу Т складає скелет, утворений трахейними хрящами, що мають вигляд півкілець, які займають приблизно 4/5-2/3 її окружності. Решту Т складає перетинчаста частина, яка донизу стає дещо ширшою. Кількість трахейних хрящів незалежно від довжини Т непостійна, становить 16,7±0,2. Форма їх варіює: сусідні кільця з'єднуються між собою, спостерігаються вилоподібні розщеплення, зрощення між сусідніми хрящами, у вигляді місточків. Частіше ширина кілець різномірні, тому при вимірюваннях за ширину кільця брали її середнє значення. Висота (ширина) кілець змінюється з віком (таблиця). У більшості випадків перший трахейний хрящ найбільш широкий. Нижній, зазвичай, - має трикутну форму, іноді розщеплюється, переходячи на бронхи. Товщина стінки Т у плодів збільшується від 0,7 до 1,2 мм. Ширина міжхрящових сполучнотканних зв'язок поступається ширині трахейних хрящів. Відно-

шення висоти усіх трахейних хрящів до висоти всіх міжкілецевих проміжків дорівнює 1:0,5-0,6 при не розтягнутій Т (таблиця).

На місці з'єднання нижніх стінок головних бронхів утворюється невеликий виступ усередину – шпора (киль або карина) Т, яка служить розпізнавальним пунктом при бронхоскопії [6].

Правий головний бронх більш товстий, короткий і розташований в продовженні Т. Основна форма правого головного бронха – циліндрична, значно рідше – у формі пісочного годинника і конуса з розширеним дистальним кінцем. Розміри головних бронхів відповідають віку плода (таблиця). Кількість бронхіальних хрящів – 4,3±0,7.

Лівий головний бронх більше відхиляється в сторону, вужчий, і довший за правий. Найпоширеніша його форма – дуга випуклістю донизу. Кількість бронхіальних хрящів 8,3±1,0.

Просвіт бронхів частіше різний: правий – округлий, лівий – овальний. Форма поперечного перерізу переважно округла і овальна, рідше зустрічається сплюснена. Зрощення між хрящами на головних бронхах спостерігаються часто.

Правий бронх утворює з Т кут 15-30°, лівий – 32-52°. У плодів із вузькою грудною кліткою правий бронх іде більш стрімко. Лівий головний бронх відходить від Т під меншим кутом, ніж правий. Він більше відхиляється вправо і назад. Таким чином, кут розходження бронхів у плодів складає 40-60°. У плодів одного й того ж віку, але з широкою грудною кліткою, цей кут був більшим, ніж у плодів з вузькою грудною кліткою.

У плодів з широкою грудною кліткою просвіт бронхів, як і Т, ширший, ніж у плодів того ж віку, але з вузькою грудною кліткою.

Різниця у величині лінійних розмірів обох бронхів по місяцях дорівнює: VI – 5,9 мм, VII – 6,0 мм, VIII – 6,6 мм, IX – 7,2 мм, X – 82 мм.

Вік (тижнів)		22-24	25-28	29-32	33-36	37-40
Тімнено-п'яткова довжина (мм)		247,0±22,0	297,0±27,0	345,5±20,5	391,8±24,3	442,3±24,8
1	Довжина Т (мм)	19,0±3,0	22,5±2,3	27,4±1,7	29,0±1,1	33,2±3,1
2	Відстань від ясен до біфуркації (мм)	78,5±5,6	94,3±7,1	111,3±7,3	120,4±4,5	135,1±9,0
3	Поперечний діаметр Т(мм)	4,8±0,14	4,9±0,7	5,8±1,18	6,27±0,5	7,0±0,5
4	Відношення діаметру Т і грудної клітки	1:10	1:12	1:12	1:11	1:13
5	Довжина правого бронха (мм)	4,6±0,16	5,5±0,15	6,5±0,15	7,2±1,0	7,7±0,3
6	Поперечний діаметр правого бронха (мм)	2,0±0,3	2,4±0,6	3,0±0,2	3,7±0,3	4,4±0,4
7	Довжина лівого бронха (мм)	10,5±0,6	11,5±1,5	13,1±0,5	14,4±0,36	15,9±1,0
8	Поперечний діаметр лівого бронха (мм)	1,9±0,3	2,2±0,4	2,7±0,4	3,4±0,4	4,0±0,5
9	Загальна висота хрящів Т (мм)	13,1±1,1	14,5±0,51	16,9±0,8	18,8±0,73	20,5±0,3
10	Середня висота хряща Т (мм)	0,75±0,1	0,89±0,1	1,1±0,3	1,11±0,2	1,2±0,2
11	Загальна висота хрящів ПБ (мм)	2,6±0,15	3,2±0,18	4,0±0,2	4,4±0,5	5,0±0,6
12	Середня висота хряща ПБ (мм)	0,65±0,16	0,76±0,17	0,8±0,21	1,1±0,19	1,25±0,2
13	Загальна висота хрящів ЛБ (мм)	6,0±0,57	6,97±0,93	8,1±1,0	9,5±1,2	10,5±1,1
14	Середня висота хряща ЛБ (мм)	0,63±0,11	0,79±0,17	0,79±0,15	1,06±0,18	1,2±0,2

Перспективи подальшого пошуку Визначення вікової розтяжності, еластичності, пружності і здатність до опору трахеї головних бронхів, залежно від фази дихання плода.

ВИСНОВКИ 1. Розташування трахеї у плодів таке саме, як і у людей інших вікових груп, проте у плодів трахея зміщена дещо вправо. 2. Трахея, біфуркація трахеї і головні бронхи змінюють свою скелетотопію при зміні положення голови. 3. Трахея і головні бронхи у плодів мають неоднакову форму і діаметр. 4. Кут розходження бронхів у плодів дорівнює 40-60°, тоді як у плодів з широкою грудною кліткою цей кут є більшим.

ЛІТЕРАТУРА

1. Андронеску А. Анатомія ребенка. – Бухарест: Изд-во «Меридиан», 1970. – 363 с.
2. А.с. № 12932. Україна. Контраст-речовина для променевої діагно-

тики / Малооголка О.А., Кіницька А.Я., Дзиковський С.В., Олексюк (Україна). – 1с.; Опубл. 15.03.2006, Бюл. №3, 2006р.

3. Быстрова Н.Ю., Разумовский А.Ю. Врожденный стеноз трахеи (обзор зарубежной литературы). – Хирургия. - 1996. -№4. - С.77-80.

4. Позмогов А.И., Терновой С.К., Бабий А.С., Лепехин Н.М. Томография грудной клетки. Киев: «Здоровье» 1992. – 288 с.

5. Смирнова А.А. Бронхиальное дерево плода человека: Автореф. дис... канд. мед. наук: -Рязань, 1959. – 17 с.

6. Топографо-анатомические особенности новорожденного / Под ред. Е.М.Маргорина. – Л.: Медицина, 1977. – 280 с.

7. Трудности диагностики врожденного трахеопищеводного свища / Гумеров А.А., Латыпова Г.Г., Ишимов Ш.С., и др. - Российский педиатрический журнал. - 2000, - №2, - С. 51-53.

8. Фалин Л.И. Эмбриология человека. – М.: Медицина. - 1976. – 544 с.

9. Цветков Э.А. Пороки гортани и трахеи у детей. – С.Пб.: Издательство «Сотис», издательство «Лань», 1999. – 128 с.

10. Saleeby M.G., Vustar M., Algren J. Tracheal agenesis: a rare disease with unique airway considerations // Anesth. Analg. – 2003. – Vol. 97, – № 1. – P. 50-52.

**Іщенко І.С., Стеченко Л.О., Куфтирева Т.П., Петренко В.А., Горovenko Л.К.
ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН УЛЬТРАСТРУКТУРИ МІОКАРДА МИШЕЙ, ЯКІ ПЕРЕБУВАЛИ В ЗОНІ
ВІДЧУЖЕННЯ У МІСТІ ЧОРНОБИЛІ**

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Науково-дослідний лабораторний центр

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН УЛЬТРАСТРУКТУРИ МІОКАРДА МИШЕЙ, ЯКІ ПЕРЕБУВАЛИ В ЗОНІ ВІДЧУЖЕННЯ У МІСТІ ЧОРНОБИЛІ – Електронно-мікроскопічно досліджений міокард правого передсердя самок мишей радіочутливої лінії BALB/c, які народились та протягом всього життя перебували в зоні відчуження у місті Чорнобиль. Тварини були поділені на дві групи залежно від віку (статевозрілі - 6 місяців після народження, та старі - 1,5 року). Встановлено, що в обох групах спостерігаються зміни з боку ядерного, скоротливого, енергетичного апаратів передсердних кардіоміоцитів, виразність яких залежить від віку. У статевозрілих тварин превалювали зміни адаптаційного та деструктивного характеру. В судинах гемомікроциркуляторного русла визначалась обтурація форменими елементами крові, що є морфологічним субстратом ішемічного стану міокарда. Зменшення процентного співвідношення молодих гранул, які вміщують ПНУП, поряд із ознаками гіперплазії біосинтетичних структур клітини та збільшенням вмісту гранул, які виводяться, свідчить про підвищення синтезу та прискорення виведення гормону. У старих тварин спостерігались більш виразні деструктивні зміни в скоротливому та енергетичному апаратах порівняно з статевозрілими. В судинах гемомікроциркуляторного русла виявлені ознаки обтурації мікроклазматозними виростами та секвестрами. Вміст молодих гранул в цитоплазмі передсердних кардіоміоцитів підвищується на фоні зниження вмісту гранул, які виводяться, тобто синтез ПНУП переважає над його секрецією.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ В УЛЬТРАСТРУКТУРЕ МИОКАРДА МЫШЕЙ, КОТОРЫЕ НАХОДИЛИСЬ В ЗОНЕ ОТЧУЖДЕНИЯ В ГОРОДЕ ЧЕРНОБЫЛЬ – Електронно-мікроскопічески исследован миокард правого предсердия самок мышей радиочувствительной линии BALB/c, которые находились в зоне отчуждения в городе Чернобыль. Животные были разделены на две группы в зависимости от возраста (половозрелые – 6 месяцев после рождения, и старые – 1,5 года). Установлено, что в обеих группах наблюдаются изменения в ядерном, сократительном, энергетическом аппаратах предсердных кардиомиоцитов, выраженность которых зависит от возраста. У половозрелых мышей превалировали изменения адаптационного и деструктивного характера. В сосудах гемомикроциркуляторного русла наблюдалась обтурация форменными элементами крови, что свидетельствовало об ишемическом состоянии миокарда. Уменьшение процентного соотношения гранул, содержащих предсердный натрийуретический пептид, наряду с признаками гиперплазии биосинтетических структур клетки и увеличением количества гранул, которые выводятся, свидетельствует о повышении синтеза и ускорении выведения гормона. У старых животных наблюдались более выраженные деструктивные изменения в сократительном и энергетическом аппаратах относительно половозрелых мышей. В гемомикрососудах обнаружены признаки обтурации микроклазматозными виростами и секвестрами. Содержание молодых гранул в цитоплазме предсердных кардиомиоцитов повышается на фоне снижения содержания в них гранул, которые выводятся, что свидетельствует о преобладании синтеза ПНУП над его выведением.

AGE-DEPENDENT FEATURES OF MYOCARDIUM ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN MICE WHICH HAVE LIVED IN CHERNOBYL EXPROPRIATION ZONE – Right atrium myocardium of mice females has been investigated by electron microscopic method in BALB/c radiosensitive mice line, which were born in Chernobyl expropriation zone and had lived there all their life. Animals were divided into two age-dependent groups (mature – 6-month-old mice and old – 1,5-year-old mice). We showed age-dependent ultrastructural changes in nucleus, contractive, energy apparatus of atrial cardiomyocytes. Their expression depends on animal age. Destructive and adaptive changes are prevalence in fertile mice group. We saw blood vessels obturation by blood cells, which can lead to myocardium ischemia. We found ANP synthesis increasing and its secretion acceleration signs. They are: biosynthetic apparatus hypertrophy, young granule type decreasing and distinguish granule type increasing in the cells. We showed destructive ultrastructural changes in contractive and energy apparatus, which were more expressive in the old animal groups comparatively to fertile group. We saw blood vessels obturation by microclasmatose appendices and sequestrers. ANP synthesis was more expressive than its secretion. Young granule population increasing against the background of distinguish granule population decreasing is the sign to overnamed postulate.

Ключові слова: радіочутлива лінія мишей, ультраструктура міокарда, малі дози іонізуючої радіації, передсердний натрійуретичний пептид.

Ключевые слова: радиочувствительная линия мышей, ультраструктура миокарда, малые дозы ионизирующей радиации, предсердный натрийуретический пептид.

Key words: radiosensitive mice lines, myocardium ultrastructure, ionized radiation low doses, atrial natriuretic peptide.

ВСТУП Іонізуюче випромінювання, як негативний фактор зовнішнього середовища, за останні десятиріччя, все більше впливає на різний контингент населення України. Велика кількість радіоактивних речовин, які мають довготривалий термін розпаду, потрапили на значні території, що стало причиною зовнішнього та внутрішнього опромінення саме малими дозами радіації [3]. Захворюваність та смертність від серцево-судинних хвороб, серед населення України, зростає. Тому, неабиякий інтерес представляє вплив малих доз іонізуючої радіації на механізми розвитку патологічних процесів, які відбуваються в серцево-судинній системі. На сьогодні відомо, що серце є радіочутливим органом, а ендотеліальні клітини кровоносних судин є клітинами-мішенями для іонізуючого опромінення. Однак при вивченні радіаційного ураження серця увага дослідників була зосереджена, головним чином, на морфофункціональних змінах його скоротливої функції, внаслідок чого досліджувались переважно шлуночки серця [1]. Тому розробка цієї проблеми, насамперед, є важливою як для теоретичної, так і практичної медицини.

На основі вищесказаного, метою даного дослідження стало: вивчити структурні особливості міокарда правого передсердя та стан ультраструктурних еквівалентів ендокринної функції серця різних вікових груп мишей радіочутливої лінії BALB/c для створення передумов запобігання розвитку серцево-судинної недостатності при довготривалій дії малих доз іонізуючого випромінювання.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Самки мишей радіочутливої лінії BALB/c (статевозрілі – 6 місяців після народження та старі тварини – 18 місяців) народились та протягом всього життя перебували в зоні відчуження на території віварію МНТЦ „Укриття” НАН України, (м. Чорнобиль). Територія віварію знаходиться в зоні з аномально високим рівнем вмісту радіонуклідів з наступним співвідношенням: ^{90}Sr -30%, ^{137}Cs -68%, ^{241}Am -0,3%, $^{238-240}\text{Pu}$ -0,3%. Тварини зазнавали радіаційного впливу 2 шляхами: ендогенно – через зерно, яким переважно годували мишей (показник для зерна за в-активними радіонуклідами в середньому 1,550 Бк/кг) та екзогенний фон у місці розташування тварин становив 23-30 мкР/год. Контрольна група мишей радіочутливої лінії BALB/c з моменту народження та протягом життя знаходилась на території віварію у м. Києві. Досліджувався матеріал від 25 тварин.

Для електронно-мікроскопічного дослідження відбирались шматочки міокарда правого передсердя декапітованих мишей після попереднього ефірного наркозу. Матеріал оброблявся за загальноприйнятими методиками [4]. Фотографування проводили при збільшенні від 11000 до 28000 тис. на електронному мікроскопі ПЕМ-125К.

З метою кількісної оцінки трьох типів передсердних гранул серця, які відображають послідовність секреторного циклу передсердного натрійуретичного пептиду (ПНУП), був застосований морфометричний аналіз за допомогою спеціально розробленої комп'ютерної програми „Органела”. Статистична обробка отриманих результатів здійснювалась відповідно до рекомендацій, які містяться в посібниках математичної статистики.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ В результаті проведеного електронно-мікроскопічного дослідження міокарда правого передсердя мишей радіочутливої лінії BALB/c були встановлені для статевозрілих

тварин, які перебували в зоні відчуження, характерні зміни, що найбільше носять реактивний характер, при цьому меншою мірою страждає скоротливий апарат міокарда, а в більшій - енергетичний. Так в кардіоміоцитах спостерігаються активні ядра округлої форми з невеликою кількістю інвагінацій переважно з активним еухроматином. Міофібрили зберігають свою цілісність, хоча в окремих клітинах виявляються ділянки дилатації та їх розходження. Характерним для більшості клітин є розширення каналців гранулярної ендоплазматичної сітки та гіперплазія пластинчастого комплексу Гольджі, що може свідчити про активні синтетичні процеси, які відбуваються в кардіоміоцитах. В енергетичному апараті відмічається поліморфізм, на ряду з гіпертрофованими мітохондріями з ознаками деструкції, спостерігаються багато невеликих за розмірами мітохондрії з кільчастим розташуванням крист. Таке збільшення може свідчити про інтенсивність окислювально-відновних процесів, які відбуваються в клітинах. Про реакцію клітин на негативний вплив іонізуючої радіації, свідчить поява та накопи-

чення в кардіоміоцитах статевозрілих мишей ліпофусцинових включень (рис.1).

Кількісний аналіз гранул з передсердним натрійуретичним пептидом вказує на зменшення вмісту молодих гранул поряд із збільшенням відсоткового вмісту гранул у стадії виведення. Це може свідчити як про гальмування синтезу гормону, так і про швидкий перехід молодих гранул в зрілі та стимуляцію їх виведення. Ознаки підвищеної активності біосинтетичного апарату не дають права говорити про гальмування синтезу молодих гранул, отже, їх зменшення пов'язане з швидким переходом у зрілі форми [2]. За даними морфометрії, молоді гранули становлять – 13,02 %; зрілі – 39,87 %; гранули на стадії виведення – 47,11 % (контрольні цифри: 18,46 %; 45,30 %; 36,24 % - відповідно до трьох типів). Зміни відбуваються і в термінальному відділі гемомікроциркуляторного русла міокарда. Спостерігається обтурація просвіту мікросудин форменими елементами крові, що призводить до порушення реології (рис.2).

При дослідженні міокарда правого передсердя старих мишей радіочутливої лінії BALB/c, які перебували в зоні

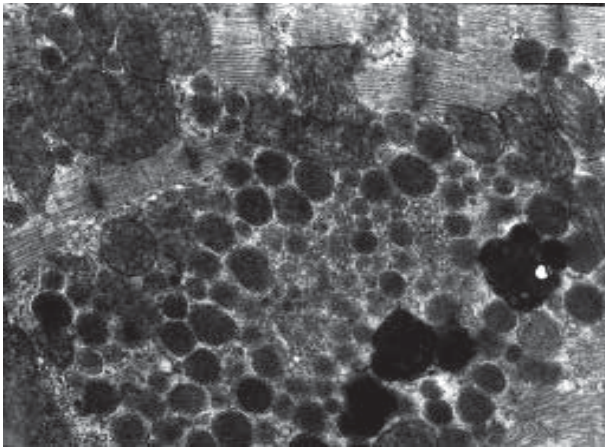


Рис.1. Фрагмент передсердного кардіоміоцита статевозрілої миші радіочутливої лінії BALB/c, яка перебувала в зоні відчуження.

1 - мітохондрії, 2 – гранули з ПНУП навколо гіпертрофованого комплексу Гольджі – 3, міофібрили – 4, 5 – ліпофусцинові включення. Зб. 16 000.

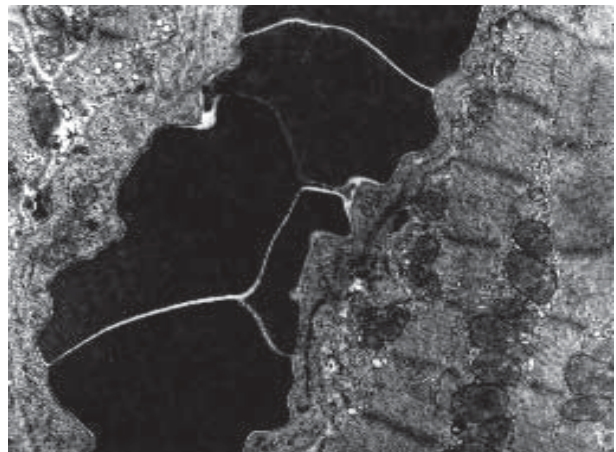


Рис.2. Фрагмент кровеносного капіляра в міокарді правого передсердя статевозрілої миші радіочутливої лінії BALB/c, яка перебувала в зоні відчуження.

1 – еритроцити в просвіті капіляра. Зб. 28 000.

відчуження, було встановлено, що зміни носять дегенеративно-дистрофічний характер. Вони виникають в ядерному, скоротливому та енергетичному апаратах. Звертають на себе увагу ядра з великою кількістю інвагінацій, що обумовлює їх фрагментарний вигляд. Така форма ядра може бути наслідком перескорочення кардіоміоцитів, на що також вказують ділянки контрактур в міофібрилах. Дегенеративні зміни в скоротливому апараті представлені ділянками розходження міофібрил та їх міоцитолізом. Мітохондрії старих мишей переважно гіпертрофовані, щільно прилягають одна до одної, спостерігається пошкодження їх внутрішньої мембрани та деструкція крист. Накопичення ліпофусцинових включень, як пігменту старіння, є характерною ознакою для старих тварин, але в дослідній групі їх кількість значно збільшена, порівнюючи з контролем. Все це можна розцінити як реакцію клітин, не пошкоджуючи ефектів малих доз радіації. Треба відмітити присутність в цитоплазмі кардіоміоцитів вакуолей з рідиною набряку, які зустрічаються також в інтерстиції (рис. 3). Це свідчить про порушення транспортної функції мембран і може бути відображенням початкової стадії балонної дистрофії. Значне підвищення вмісту молодих гранул в цитоплазмі передсердних кардіоміоцитів свідчить про посилення синтезу ПНУП, але

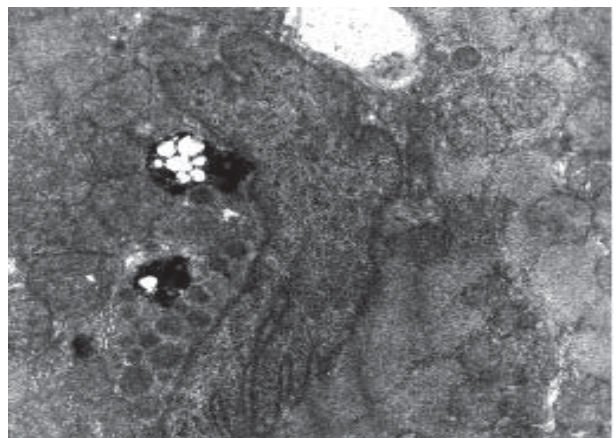


Рис.3. Фрагмент передсердного кардіоміоцита старої миші радіочутливої лінії BALB/c, яка перебувала в зоні відчуження.

1- мітохондрії, 2 – гранули з ПНУП, 3 - ядро, 4 - міофібрили, 5 – ліпофусцинові включення, 6 – вакуоль з рідиною набряку. Зб. 18 000

виразно гальмується його секреція клітиною, на що вказує зниження вмісту гранул в стадії виведення [2]. Морфометричні показники співвідношення різних типів гранул у старих тварин: 21,12 % становлять молоді гранули; 49,85 % – зрілі; 29,03 % – на стадії виведення (контрольні цифри: 12,36 %; 37,64 %; 50 % – відповідно до трьох типів гранул). Тобто, знижується активність системи натрійуретичних пептидів [5].

Кровоносні мікросудини міокарда правого передсердя у старих мишей обтуровані, як форменими елементами крові так і мікроклазматозними виростами та секвестрами. Іноді зустрічаються капіляри з оголеними ділянками без ендотеліальних клітин. Такі зміни можуть бути причиною порушень реології крові в системі гемомікроциркуляції міокарда (рис. 4).

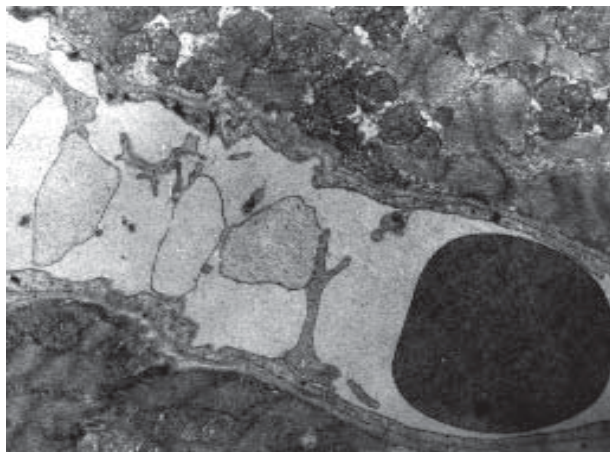


Рис. 4. Фрагмент кровоносного капіляра в міокарді правого передсердя старої миші радіочутливої лінії BALB/c, яка перебувала в зоні відчуження.

1 – еритроцит, 2 – мікроклазматозні вирости, 3 – секвестри в просвіті капіляра. Зб. 11 000.

Висновки 1. Самки мишей радіочутливої лінії BALB/c, які перебували в зоні відчуження, незалежно від віку, мають певні ультраструктурні зміни в міокарді правого передсердя, які носять односторонній характер, але різняться за ступенем виразності.

2. Міокард правого передсердя статевозрілих мишей радіочутливої лінії BALB/c, що перебували в зоні відчуження, зазнає змін, які носять реактивний та адаптивний характер, а в термінальному судинному руслі відмічається обтурація мікросудин форменими елементами крові, що може бути підґрунтям для розвитку ішемічно-гіпоксичного стану в міокарді. При цьому стимулюється синтез ПНУП та прискорюється його виведення з передсердних кардіоміоцитів. 3. У міокарді правого передсердя старих мишей радіочутливої лінії BALB/c, що перебували в зоні відчуження, на фоні компенсаторно-приспосувальних змін відмічаються і дистрофічні, які пов'язані, в першу чергу, з пошкодженням скоротливого та метаболічного апаратів. В кровоносних мікросудинах цих тварин найбільших пошкоджень зазнає ендотелій, як клітина-мішень до дії іонізуючої радіації. Активується синтез ПНУП на фоні значно порушеного його виведення з передсердних кардіоміоцитів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бычковская И.Б., Степанов Р.П., Федорцева Р.Ф. Особые долговременные изменения клеток при воздействии радиации в малых дозах // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2002. – Т. 42, – № 1. – С. 20-35.
2. Воскобойник Л.Г. Морфофункциональные эквиваленты изменения эндокринной активности сердца при экспериментальном сахарном диабете 1-го типа // Патология. – 2005. – Т.2, – №2. – С. 24-30.
3. Лось И.П. Гигиеническая оценка дозообразующих источников ионизирующих излучений природного и техногенного происхождения и доз облучения населения Украины: Автореф. Дис... докт. биол.наук. – К., 1993. – 39с.
4. Уикили Б. Электронная микроскопия для начинающих. – М.: Мир, 1975. – 324с.
5. Ellis R., Levin M. D. Natriuretic peptides // The New English Journal of Medicine. – 1998. –V. 339, № 5. – P. 321-328.

Абдуллін Р.Ф.

ИМУНОЭКСПРЕСИЯ ПАНЦИТОКЕРАТИНОВ ЯК МАРКЕР СТУПЕНЯ ЕПІТЕЛІАЛЬНОГО ДИФЕРЕНЦІЮВАННЯ ПУХЛИНИ ВІЛЬМСА

Донецкий державний медичний університет ім. М.Горького, обласна дитяча клінічна лікарня, м. Донецьк

ИМУНОЭКСПРЕСИЯ ПАНЦИТОКЕРАТИНОВ ЯК МАРКЕР СТУПЕНЯ ЕПІТЕЛІАЛЬНОГО ДИФЕРЕНЦІЮВАННЯ ПУХЛИНИ ВІЛЬМСА – Работа базується на імуногістохімічному типуванні тканини 15 нефробластом та 6 нефробластом дітей у віці від 1,5 місяця до 14 років. Використовували мишачі моноклональні антитіла (МАТ) до панцитокератинів (клон АЕ1/АЕ3, DАКО), виментину (клон Vim 3V4, DАКО), гладком'язового актину SMA (клон 1A4, DАКО), CD10 (клон 56C6, Novocastra), p63 (клон 4A4, DАКО) і поліклональні антитіла до протеїну S-100 (DАКО). Показано, що імуногістохімічне типування тканини пухлин з комплексним використанням моноклональних антитіл до панцитокератинів, епітеліального мембранного антигену (ЕМА), виментину, гладком'язового актину (SMA), протеїну S-100, CD10, онкогену p63 підвищує надійність патоморфологічного диференціального діагнозу між епітеліальним компонентом нефробластом і псевдорозетками нефробластом. Відзначено, що недооцінка ступеня катаплазії епітеліального компоненту багатокомпонентної пухлини призводить до постановки не цілком коректного діагнозу «диференційована» нефробластома, який не повною мірою відображає біологічну сутність пухлини Вільмса. Рівень експресії панцитокератинів відображає епітеліальне диференціювання в пухлинах Вільмса: посилення імуноекспресії АЕ1АЕ3 у протокових структурах епітеліального компонента пухлини Вільмса, що прямо пов'язано з їх морфологічною зрілістю та ембріональним розвитком.

ИМУНОЭКСПРЕССИЯ ПАНЦИТОКЕРАТИНОВ КАК МАРКЕР СТЕПЕНИ ЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ДИФЕРЕНЦИРОВКИ ОПУХОЛИ ВИЛЬМСА – Работа базируется на иммуногистохимическом типировании ткани 15 нефробластом и 6 нефробластом детей в возрасте от 1,5 месяца до 14 лет. Использовали мышинные моноклональные антитела (МАТ) к панцитокератинам (клон АЕ1/АЕ3, DАКО), виментину (клон Vim 3V4, DАКО), гладкомышечному актину SMA (клон 1A4, DАКО), CD10 (клон 56C6, Novocastra), p63 (клон 4A4, DАКО) и поликлональные антитела к протеину S-100 (DАКО). Показано, что иммуногистохимическое типирование ткани опухоли с комплексным использованием моноклональных антител к панцитокератинам, эпителиальному мембранному антигену (ЕМА), виментину, гладкомышечному актину (SMA) протеину S-100, CD10, онкогену p63 повышает надежность патоморфологического дифференциального диагноза между эпителиальным компонентом нефробластом и псевдорозетками нефробластом. Отмечено, что недооценка степени катаплазии эпителиального компонента многокомпонентной опухоли ведет к постановке не вполне корректного диагноза «дифференцируемая» нефробластома, который не в полной мере отражает биологическую сущность опухоли Вильмса. Уровень экспрессии панцитокератинов отражает эпителиальную дифференцировку в опухолях Вильмса: усиление иммуноэкспрессии АЕ1АЕ3 в протоковых структурах эпителиального компонента опухоли Вильмса, что прямо связано с их морфологической зрелостью и эмбриональным развитием.

IMMUNOEXPRESSION OF PAN-CYTOKERATINS AS A MARKER OF EPITHELIAL DIFFERENTIATION DEGREE OF WILMS' TUMOUR – The work is based on immunohistochemical research of a tissue of 15 cases of nephroblastoma and 6 cases of neuroblastoma at children aged from 1,5 months to 14 years. Mouse monoclonal antibodies (MAB) to pan-cytokeratins (clone AE1/AE3, DAKO), vimentin (clone Vim 3V4, DAKO), smooth muscular actin SMA (clone 1A4, DAKO), CD10 (clone 56C6, Novocastra), p63 (clone 4A4, DAKO) and polyclonal antibodies to protein S-100 (DAKO) were used. It was shown, that immunohistochemical research of Wilms' tumour tissues with complex use of immunohistochemical monoclonal antibodies (MAB) to pan-cytokeratin, vimentin, smooth muscular actin SMA, CD10, oncogene p63 increases the reliability of the pathological differential diagnosis between epithelial component of nephroblastoma and pseudo-sockets of neuroblastomas. It was marked, that the underestimation of cataplasia degree of epithelial component of multicomponent tumour results in not quite correct diagnosis "differentiated" nephroblastoma, which incompletely reflects a biological essence of Wilms' tumour. The level of pan-cytokeratins expression reflects epithelial differentiation in Wilms' tumours: the amplification of immunoeexpression AE1AE3 in ductal structures of epithelial component of Wilms' tumour, that is directly connected with their morphological maturity and embrional development.

Ключові слова: пухлина Вільмса, імуногістохімічне дослідження.

Ключевые слова: опухоль Вильмса, иммуногистохимическое исследование.

Key words: Wilms' tumour, immunohistochemical research.

ВСТУП Пухлина Вільмса є однією з найчастіших со-лідних злоякісних дизембріональних нефрогенних неоплазій дитячого віку. Передбачається, що розвиток пухлини Вільмса тісно пов'язаний з аномаліями розвитку уrogenітальної системи. Приблизно в 15 % хворих з пухлиною Вільмса зустрічаються наступні аномалії: гемігіпертрофія, синдром Беквіта-Вайдемманна (Beckwith-Wiedemann), аніридія, аномалії кістково-м'язового апарата, нейрофіброматоз і широкий спектр сечостатеви аномалій, таких як гіпоспадія, крипторхізм, подвоєння нирки, ектопія, незарощення. Найчастіше цими аномаліями є так звані «нефрогенні залишки». «Нефрогенний залишок» практично є персистуючим ембріональним залишком у нирці й нерідко випадково виявляється в нормальній нирці немовлят, але звичайно регресує під час першого року життя [3]. Класична трикомпонентна пухлина Вільмса складається з різного кількісного співвідношення бластемних, епітеліальних і стромальних елементів, які є похідними диференціювання загальних клонів примітивних стовбурних клітин нирки [10]. Пухлина Вільмса, представлена зрілими елементами і невеликою кількістю анапластичних клітин, прогностично найбільше сприятлива і визначається як сприятливий гістологічний варіант. Несприятливий варіант представлений фокальною чи дифузною анаплазією, рабдоїдною або світлоклітинною саркомою. Несприятливий варіант зустрічається в 12 % дітей і при цьому смертність складає 90 %. Більшість авторів вважає, що морфологічним критерієм нефробластоми, з яких би тканин вона не складалася, є обов'язкова присутність в ній нефрогенної тканини в будь-якому варіанті її диференціювання [2, 5]. З морфологічної точки зору нефробластома є поєднанням епітеліальних і мезенхімальних елементів в різних пропорціях. Гістологічна картина різноманітна, але завжди наявні клітини двох типів: епітеліальні і сполучнотканні. Морфологічним критерієм нефробластоми є обов'язкова присутність в нирці недиференційованої пухлинної тканини або нефрогенних структур, які знаходяться на різних рівнях розвитку. Епітеліальні елементи можуть зустрічатися в різних сполученнях, мати різний ступінь диференціювання і навіть бути настільки недиференційованими, що інколи важко визначити їх гістогенез [6, 7].

Цитокератини - це інтрацелюлярні фібрилярні білки, що знаходяться в тканинних попередниках епітелію. Вони є членами родини білків проміжних філаментів, що включають 20 різних підкласів білків, згрупованих відповідно до їх молекулярної маси або експресії в простому або складному епітелії. Вони можуть бути візуалізовані за допомогою

комбінованої панелі моноклональних антитіл у формі «коктейлів». Одним з таких коктейлів є AE1AE3, що розпізнає основні і кислі цитокератини. Він широко використовується для відмінності епітеліальних від неепітеліальних пухлин [4]. Використання антитіл з діагностичною метою повинно бути погоджене з клінічними даними і морфологічними аспектами пухлини, тому що пухлинні клітини можуть або підсилювати, або знижувати експресію під час процесу диференціювання. Раніше нами було показано, що помилки морфологічної діагностики обумовлені недооцінкою ступеня катаплазії епітеліального і мезенхімального компонентів багатокомпонентної пухлини, що призводить до постановки не цілком коректного діагнозу «диференційована» нефробластома, який не повною мірою відображає біологічну сутність пухлини Вільмса [1].

Мета дослідження – визначити критерії ступеня диференціювання епітеліального компонента нефробластоми (пухлини Вільмса) у дітей за допомогою імуногістохімічного типування тканини пухлини з використанням моноклональних антитіл AE1AE3 для оптимізації диференціального діагнозу та прогнозу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Матеріалом дослідження послужили морфологічні дані про 159 випадків нефробластом у дітей у віці від 1,5 місяця до 14 років з клінічним і/або верифікованим морфологічним діагнозом нефробластоми (пухлина Вільмса), з них в 133 спостереженнях це був операційний матеріал, в 26 – аутопсійний матеріал прозектури обласної дитячої клінічної лікарні за період з 1955 по 2005 роки. У роботі використаний архівний матеріал обласної дитячої клінічної лікарні, а також банк даних про нефробластоми відділу патоморфології Центральної науково-дослідної лабораторії Донецького державного медичного університету ім.М.Горького.

В 43 секційних спостереженнях нефробластом шматочки тканини, фіксовані в 10 % розчині нейтрального формаліну, заливали в парафін за стандартною методикою. На ротаційному мікротомі МПС-2 виготовляли серійні гістологічні зрізи товщиною 5±1 мкм, які потім забарвлювали гематоксиліном та еозином, за Ван-Гізон, толудіновим синім при рН 2,6 і 5,3, ставили ШИК-реакцію з обробкою контрольних зрізів амілазою.

У 21 випадку проведено імуногістохімічне типування операційного матеріалу (15 випадків тканини пухлини Вільмса і в 6 випадках (група порівняння) – тканина нейробластоми) з використанням моноклональних антитіл до панцитокератинів, епітеліального мембранного антигену (EMA), виментину, гладком'язового актину (SMA), протеїну S-100, CD10, онкогену p63. Реактивність панцитокератинів визначалася за допомогою моноклональних антитіл (AE1AE3, Dako), які попередньо відповідно до стандартної методики були розведені 1:200. Первинні антитіла визначалися в зрізах тканин, використовуючи авідин-біотин-пероксидазний метод. Аналіз зображення здійснювався на універсальному мікроскопі Hund H 500 з телевізійною системою, з'єднаною з персональним комп'ютером 486 DX4 120. Статистична обробка отриманих даних здійснювалася за допомогою програми Excel на комп'ютері OEM IBM PC/AT Pentium. Обчислено значення середньої арифметичної (M), середнього квадратичного відхилення (y), помилки визначення середньої арифметичної (m), коефіцієнт варіації (W), визначали рівень достовірності розходжень (p) порівнюваних групових середніх за допомогою t-критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Пухлина Вільмса в більшості наших спостережень локалізувалася інтрааренально, в одній масі з ниркою, оточена її щільною, гладкою фіброзною капсулою. Макроскопічно нефробластома, як правило, це солітарна пухлина, добре відмежована від тканини нормальної нирки. Макроскопічно у всіх випадках були виражені вторинні зміни у виг-

ляді вогнищ некрозу, крововиливів, ослизнення тканини, формування кістозних порожнин, заповнених частіше серозною, гнійною рідиною або некротизованим детритом пухлинної тканини. Епітеліальний компонент характеризувався двома особливостями свого росту. В одних випадках можна було чітко простежити формування аденоматозних структур, в інших – розростання епітелію супроводжувалося формуванням сосочків. Цікавість викликає сосочкове розростання, яке формується в пухлинній тканині. Сосочки як зсередини, так і ззовні оточені пухкою волокнистою сполучною тканиною. В міру росту сосочків спостерігається атрофія і загибель центральної розташованої волокнистої сполучної тканини, яка нібито формує стому цього сосочка. Епітеліальні клітини витягуються, набувають веретеноподібної форми, ядра в них гіперхромні, – такі клітини здатні до проліферації в підлеглі структури. Пухка волокниста сполучнотканнна основа по периферії сосочків також підпадає під вторинні зміни, зокрема ослизненню або гіалінозу. Другий тип епітеліальних клітин – це великі плоскі клітини з гіперхромними ядрами і вираженою еозинофілією цитоплазми. Клітини найчастіше мають полігональну форму, але місцями вони витягуються у досить широкі стрічки і в цих ділянках вони дуже подібні на гладком'язові клітини або рабдоміобласти ембріонального типу. Ці клітини розташовуються навколо судини, здатні до проліферації та інвазії в просвіт судин, є матеріалом пухлинної емболії. Інколи ці клітини розташовуються поодинокі, набувають круглої форми, з невеликими відростками і нагадують гангліозні клітини. Розподіл кровоносних судин в тканині пухлини нерівномірний. Кровопостачання тканини здійснюється, головним чином, за рахунок атипичних судин синусоїдного типу. Стінки окремих судин мають елементи м'язового диференціювання. Місцями спостерігається скупчення атипичних судин з різко ектазованими просвітами і такі ділянки нагадують капілярну або кавернозну гемангіому. У всіх пухлинах, як правило, спостерігаються розлади кровообігу у вигляді тромбозу і діapedезних свіжих і старих крововиливів.

Морфологічна діагностика цих пухлин, особливо у випадках переважання катаплазованого епітеліального компонента в нефробластомах або метастазах в печінку, представляє значні труднощі. Маркерами для верифікації пухлин Вільмса служили виражена імунореактивність до панцитокератинів, епітеліального мембранного антигену (EMA), гладком'язового актину. Виражена реактивність для протеїну S-100 мала місце в нейробластомах. У всіх біоптатах нейробластом і нефробластом експресувався антиген CD10 та онкоген р63 і мала місце дифузна реактивність для віментину.

Серед 15 спостережень пухлин Вільмса в 14 визначалися трикомпонентні пухлини з бластемним, стромальним та епітеліальними компонентами і 1 пухлина без епітеліального диференціювання (при забарвленні гематоксилином+еозином) складалася з різних пропорцій бластемного і стромального компонентів. Серед випадків з епітеліальним диференціюванням, у 9-ти з 14-ти були наявні незрілі структури, які нагадують слабозвинені протоки, розетки і мікрокісти, у 2-х випадках мало місце безліч зрілих структур, які нагадують протоки і гломерули, у 3-х були як незрілі, так і зрілі структури. Нефрогенні залишки були виявлені в 6 випадках. Усі нефрогенні залишки показували експресію при імунозабарвленні AE1AE3 у зрілих тубулярних струк-

турах, але не давали експресію в гломерулоїдних структурах.

Таким чином, у незрілих епітеліальних структурах, що нагадують розетки, мікрокісти і слабозвинені («абортівні») каналці, виявляється нерегулярне позитивне імунозабарвлення. Більшість диференційованих структур давали більш інтенсивне і добре визначене позитивне імунозабарвлення AE1AE3. Гломерулоїдні тільця у всіх випадках були імунонегативні. У нефрогенних залишках спостерігалися каналці, які були імунореактивні, однак клубочки були негативні для AE1AE3, що відповідало даним відносно нормальних нирок.

Епітеліальне диференціювання в напрямку збірних проток пухлин супроводжувалося посиленням експресії цитокератину AE1AE3. Негативними до цитокератину AE1AE3 були зачатки клубочків під час ембріонального диференціювання, що розвиваються з метанефрогенної мезенхіми.

ВИСНОВКИ 1. Одна з причин помилок морфологічної діагностики – це недооцінка ступеня катаплазії епітеліального і мезенхімального компонентів багатоконпонентної пухлини, що призводить до постановки не цілком коректного діагнозу «диференційована» нефробластома, який не повною мірою відображає біологічну сутність пухлини Вільмса. 2. Комплексне використання моноклональних антитіл до панцитокератинів, епітеліального мембранного антигену (EMA), віментину, гладком'язового актину (SMA), протеїну S-100, CD10, онкогену р63 підвищує надійність патоморфологічного диференціального діагнозу між епітеліальним компонентом нефробластом і псевдорозетками нейробластом. 3. Рівень експресії панцитокератинів відображає епітеліальне диференціювання в пухлинах Вільмса: посилення імуноекспресії AE1AE3 у протокових структурах епітеліального компонента пухлини Вільмса, що прямо пов'язано з їх морфологічною зрілістю та ембріональним розвитком.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абдуллин Р.Ф. Особливості гістоструктури епітеліального та мезенхімального компонентів нефробластоми (пухлина Вільмса) у дітей // Питання експериментальної та клінічної медицини. – 2006. – Вип.10, Т.1. – С.7.-11.
2. Аляев Ю.Г., Григорян В.А., Крапивин А.А., Султанова Е.А. Опухоль почки. – М.: Гэотар-Мед. – 2002. – 53 с.
3. Beckwith J.B., Kiviat N.B., Bonadio J.F. Nephrogenic rests, nephroblastomatosis, and the pathogenesis of Wilms' tumor // *Pediatr. Pathol.* – 1990. – Vol. 10, № 1-2. – P.1-36.
4. Chen B.F., Tzen C.Y., Liang D.C. Immunohistochemical expression of Wilms' tumor 1 protein in nephroblastoma // *J. Chin. Med. Assoc.* – 2004. – Vol.67, № 10. – P. 506-510.
5. Rivera M.N., Haber D.A. Wilms' tumour: connecting tumorigenesis and organ development in the kidney // *Nat. Rev.Cancer.* – 2005. – Vol. 5, № 10. – P.699-712.
6. Somers G.R., Smith C.R., Perrin D.G. et al. Sudden Unexpected Death in Infancy and Childhood Due to Undiagnosed Neoplasia: An Autopsy Study // *Am. J. Forensic Med. Pathol.* – 2006. – Vol. 27, № 1. – P. 64-69.
7. Spreafico F., Bellani F.F. Wilms' tumor: past, present and (possibly) future // *Expert Rev Anticancer Ther.* – 2006. – Vol.6, №2. – P. 249-258.
8. Sun J., Ye W.J., Zhao H.T., Shi C.R. Bilateral intrarenal pelvis Wilms' tumor with fibroepithelial polyp // *J. Pediatr. Surg.* – 2005. – Vol. 40, № 10. – P. 1670-1672.
9. Varan A., Buyukpamukcu N., Caglar M. et al. Prognostic significance of metastatic site at diagnosis in Wilms' tumor: results from a single center // *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* – 2005. – Vol. 27, № 4. – P. 188-191.
10. Zhuang Z., Merino M.J., Vortmeyer A.O. et al. Identical genetic changes in different histologic components of Wilms' tumors // *J. Natl. Cancer Inst.* – 1997. – Vol. 89, № 15. – P. 1148-1152.

Бенедикт В.В., Волков К.С., Гнатюк М.С.

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ТОНКОЇ КИШКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МЕХАНІЧНІЙ НЕПРОХІДНОСТІ

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ТОНКОЇ КИШКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МЕХАНІЧНІЙ НЕПРОХІДНОСТІ – З використанням комплексу гістологічних, електронно-мікроскопічного, морфометричного методів вивчена структура стінки тонкої кишки при змодельованій механічній непрохідності тонкої кишки. Встановлено, що в умовах даної патології в оболонках стінки досліджуваного органа виникають виражені деструктивні, інфільтративні процеси і виражені судинні розлади, які необхідно враховувати при прогнозуванні та попередженні ускладнень у хворих на непрохідність кишки.

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕХАНИЧЕСКОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ – С использованием комплекса гистологических, электронно-микроскопического, морфометричного методов исследована структура стенки тонкой кишки при моделированной механической непроходимости тонкой кишки. Установлено, что в условиях данной патологии в оболочках стенки исследуемого органа возникают выраженные деструктивные, инфильтративные процессы и выраженные сосудистые расстройства, которые необходимо учитывать при прогнозировании и предупреждении осложнений у больных непроходимостью кишки.

STRUCTURAL CHANGES OF SMALL INTESTINE AT EXPERIMENTAL MECHANICAL OBSTRUCTION – The structure of small intestine wall at the modelled mechanical obstruction of small has been studied with the use of complex of histological, electronic-microscopic, morphometric methods. Was been set, that in the conditions of the given pathology the expressed destructive, infiltrative processes and expressed vascular disorders occur in the wall membranes of the investigated organ. It is necessary to take them into account at prognostication and prevention of complications at patients with intestinal obstruction.

Ключові слова: гостра непрохідність кишки, структурні зміни тонкої кишки.

Ключевые слова: острая непроходимость кишки, структурные изменения тонкого кишечника.

Key words: acute intestinal obstruction, structural changes of small intestine.

ВСТУП Найбільш поширеними формами патології тонкого кишечника у людей є функціональні розлади цього органа [4]. При вказаній патології істотно змінюється моторика травного каналу, з'являються деструктивні зміни в стінці кишки, що призводить до розвитку порушень мембранного травлення [8]. Порушення пасажу по травному каналу внаслідок механічної обструкції призводить до тяжких, а інколи й критичних ситуацій [3]. Крім цього, вказані зміни супроводжуються різними ступенями структурної перебудови даного органа. Вивчення структурних змін в тонкій кишці з метою визначення можливих напрямків корекції цієї патології в клінічних умовах для покращення результатів лікування хворих на гостру непрохідність кишки є метою нашого повідомлення.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ При вивченні структурних змін в оболонках тонкої кишки при механічній непрохідності кишки нами проведено експеримент на 66 білих ставеозрілих щурах-самцях масою 196-204 г, які були розділені на 3 групи: 1-а група нараховувала 11 практично здорових інтактних тварин, що знаходилися в звичайних умовах віварію, 2-а – 13 щурів, яким для виключення впливу лапаротомії, проводився тільки розтин черевної порожнини, 3-я – 42 тварини із змодельованою тонкокишковою механічною непрохідністю, яка здійснювалася шляхом перев'язки лігатурою тонкої кишки на відстані 2 см від ілеоцекального кута [6,12]. Всі оперативні втручання на експериментальних тваринах проводили в умовах тіопентал-натрієвого наркозу та з дотриманням правил асептики та антисептики. В кінці експерименту етаназію тварин здійснювали швидкою декапітацією в умовах тіопентал-натрієвого наркозу.

Для морфологічних досліджень вирізували шматочки клубової кишки, фіксували їх у 10 % нейтральному розчині

формаліну, рідинах Карнуа, Ценкера, 96° етиловому спирті. Після проведення через зростаючі концентрації етилового спирту матеріал заливали в парафін [10]. Мікротомні зрізи фарбували гематоксилін-еозинном, за Ван-Гізон, за Вейгертом. Морфометрично визначали товщини слизової, підслизової, м'язової та серозної оболонок, висоту стовпчастих епітеліоцитів, діаметр їхніх ядер, ядерно-цитоплазматичні співвідношення, довжину, товщину ворсинок. При проведенні морфометричних досліджень дотримувалися рекомендацій Г.Г. Автанділова [1]. Для електронно-мікроскопічних досліджень маленькі шматочки кишки фіксували в 1 % розчині чотириокису осмію, зневоднювали в спиртах і ацетоні та заливали в епоксидній смолі. Ультраструктурні зрізи досліджували в електронному мікроскопі EM – 125 K. Цифрові величини обробляли методом варіаційної статистики. Різницю між порівнювальними величинами визначали за Стьюдентом [5].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Проведені морфометричні дослідження показали, що в інтактних білих щурів товщина слизової оболонки клубового відділу тонкої кишки складала (377,5±8,4) мкм, товщина м'язової – (90,8±2,0) мкм, товщина підслизової основи – (19,7±0,44) мкм, довжина ворсинок – (215,0±4,8) мкм, їхня товщина – (56,50±1,59) мкм. Площа ворсинок складала (12147,5±271,8) мкм². Висота стовпчастих епітеліоцитів на бічних поверхнях ворсинок тонкої кишки цих тварин дорівнювала (11,35±0,25) мкм, діаметр ядер епітеліоцитів – (2,55±0,06) мкм. Ядерно-цитоплазматичне відношення дорівнювало 0,0104.

Результати гістологічних досліджень показали, що у білих щурів на першу добу після лапаротомії в судинах слизової оболонки тонкої кишки, підслизової основи та м'язової оболонки спостерігали помірно виражені розлади гемодинаміки у вигляді розширення та повнокрів'я судин, незначного периваскулярного набряку. Однак, морфометричні параметри тонкої кишки статистично не відрізнялися від аналогічних величин у інтактних тварин.

Таким чином, лапаротомія в експерименті, крім незначних гістологічних змін не викликає суттєвих структурних порушень в оболонках стінки тонкої кишки.

В експериментальних тварин з гострою кишковою непрохідністю, внаслідок механічного розтягнення кишечника, спостерігалися суттєві структурні зміни мікроциркуляторного русла тонкої кишки – артеріол, прекапілярів, посткапілярів, венул. При цьому відмічалось збільшення діаметрів вищеперахованих структур, а також тенденція до зростання щільності капілярів на одиницю площі слизової оболонки. В цих експериментальних умовах діаметри артеріол та прекапілярів зростали на 4-6 %, капілярів – на 8-12 %. Разом з тим аналогічні розмірні характеристики посткапілярів та венул збільшувалися на 15-19 %, щільність капілярного русла підвищувалася на 5-8 %. Зовнішній діаметр дрібних артерій в стінці тонкої кишки при цьому зростав на 12-15 %, внутрішній зменшувався на 16-20 %, що вказувало на зниження пропускну здібності вказаних судин та погіршення кровопостачання досліджуваного органа.

Гістологічно в мікропрепаратах тонкої кишки відмічалось розширення та повнокрів'я судин мікроциркуляторного русла, стази в капілярах та дрібновогнищеві паравазальні крововиливи, некротичні, дистрофічні зміни в епітеліоцитах, вогнищеві лімфоїдноклітинні інфільтрати в стромі. Отже, при непрохідності кишки виникає розширення всіх ланок мікроциркуляторного русла із істотним переважанням дилатації посткапілярів та венул, тобто веноз-

них структур, що викликає утруднення кровотоку у венозному руслі, і призводить до посилення тканинної гіпоксії, що збігається з думкою А.М Чернух і співавт. [11].

Морфометричне дослідження шарів стінки тонкої кишки при експериментальній механічній кишковій непрохідності підтвердило наявність суттєвих змін цих характеристик. Так, спостерігалось значне витончення м'язової оболонки стінки тонкої кишки з $(90,8 \pm 2,0)$ до $(42,3 \pm 2,7)$ мкм, збільшення товщини підслизової основи з $(19,75 \pm 0,44)$ до $(32,6 \pm 0,81)$ мкм. Товщина слизової оболонки складала $(350,3 \pm 7,2)$ мкм. Довжина ворсинок зменшилася до

$(170,8 \pm 11,4)$ мкм, а їх товщина збільшилася до $(68,3 \pm 3,9)$ мкм (рис.1). Площа ворсинок суттєво не змінилася. В цих експериментальних умовах також відмічалось істотне зниження висоти стовпчастих епітеліоцитів і збільшення діаметру їхніх ядер, що призводило до порушення ядерно-цитоплазматичних співвідношень у досліджуваних структурах. Остання величина зростала з $(0,0104 \pm 0,0002)$ до $(0,0120 \pm 0,0003)$, тобто більше, ніж у 1,15 раза. Знайдені перетворення останнього параметру свідчили про напруженість та нестабільність досліджуваних структур при механічній кишковій непрохідності [9].

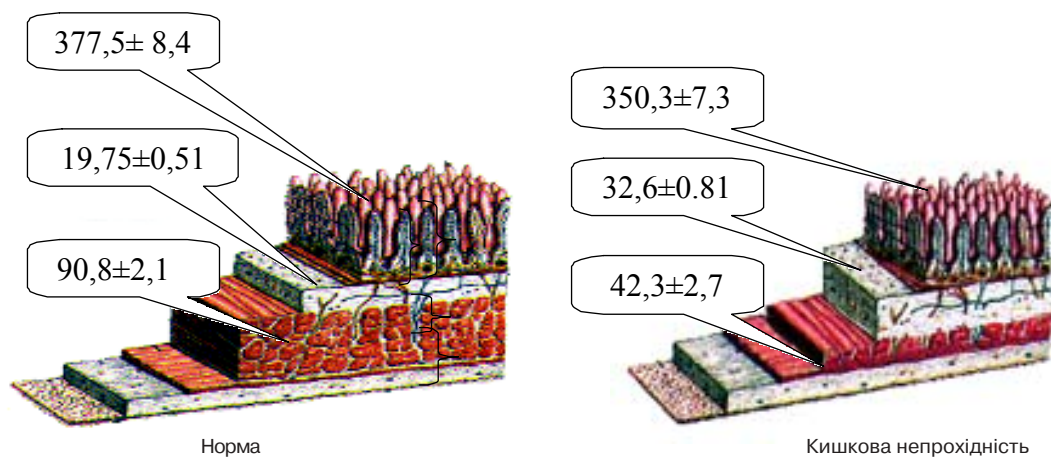


Рис. 1. Морфометричні зміни оболонок стінки тонкої кишки при експериментальній непрохідності кишки (в мкм). Позначення: 1) слизова оболонка; 2) підслизова основа; 3) м'язова оболонка.

Ультраструктурне вивчення гладких міоцитів м'язової оболонки стінки тонкої кишки в умовах механічної кишкової непрохідності (рис.2) показали, що в полі зору електронного мікроскопа та невеликих збільшеннях постійно спостерігаються клітини з світлою електронно-прозорою та темною осміофільною цитоплазмою. Глибокі деструктивні зміни у світлих міоцитах проявляються значним лізисом міофібрил, руйнуванням багатьох органел. Окремі пучки міофіламентів частково зберігаються по периферії міоцитів. Більшість мітохондрій мають світлий матрикс, редуковані кристи, навіть пошкоджені зовнішні мембрани. Цистерни і каналці ендоплазматичної сітки та комплексу Гольджі нерівномірно потовщені, фрагментовані. Плазмолема міоцитів майже не утворює кавеол, а біля неї мало пухирців. У тем-

них міоцитах міофіламенти частково гомогенізовані, склеєні, утворюють осміофільні подовгасті структури. Органели в таких міоцитах погано виявляються, вони деструктивно змінені. Ядра клітин мають видовжену форму, електронно-щільну каріоплазму, на окремих ділянках нечітку каріолему та нерівномірно збільшені перинуклеарні простори. Знайдені структурні зміни в міоцитах м'язової оболонки тонкої кишки суттєво впливають на її моторику [7].

Субмікроскопічно значні зміни встановлені в судинах мікроциркуляторного русла (рис. 3). Для них характерне розширення просвітів, кровонаповнення, порушення структури ендотеліоцитів і базальної мембрани. Так, в більшій частині артеріол, гемокапілярів і особливо венул спостерігається багато формених елементів крові, цитоплазма ен-

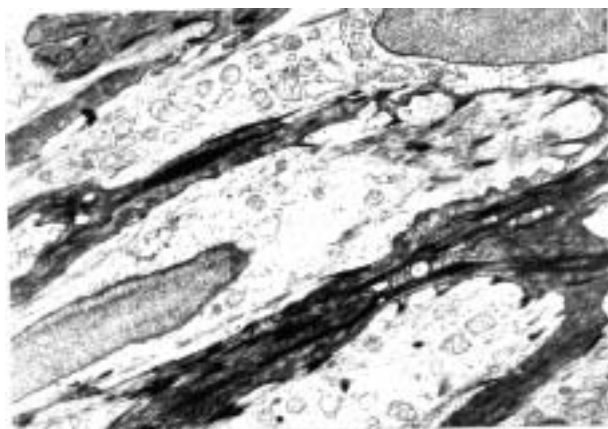


Рис.2. Глибокі зміни ультраструктурної організації м'язової оболонки стінки тонкої кишки білих щурів при експериментальній механічній непрохідності кишки. $\times 9000$.



Рис. 3. Субмікроскопічні зміни мікроциркуляторного русла м'язової оболонки стінки тонкої кишки білого щура при експериментальній механічній непрохідності кишки. $\times 5000$.

дотеліоцитів набрякла, просвітлена, має пошкоджені органи. Мікрворсинок на поверхні ендотеліоцитів та піноцитарних міхурців небагато. Базальна мембрана в артеріолах витончена, порушена структура міоцитів в складі їх стінки. Найвизначеніший виражений периваскулярний набряк.

Змінюється ультраструктурна організація нейроцитів, гліальних клітин та нервових волокон у складі інтрамуральних між'язових сплетень. Реакція нейроцитів проявляється розширенням просвітів, фрагментацією, дегрануляцією каналів ендоплазматичної сітки, значним зменшенням числа рибосом та полісом, що є електронно-мікроскопічними ознаками тігролізу. В нейроплазмі спостерігаються просвітлені з редукованими кристами мітохондрії, фрагментовані, розширені цистерни і вакуолі комплексу Гольджі, значна кількість лізосом. Ці зміни свідчать про погіршення іннервації досліджуваного органа, що істотно впливає на функцію тонкої кишки [2].

Цитоплазма гліальних клітин просвітлена, у ній мало органел, які деструктивно змінені. У нервових волокнах погано виявляються нейрофіламенти та нейротрубочки.

ВИСНОВКИ Отже, результати проведених експериментальних досліджень свідчать, що гостра механічна непрохідність кишки призводить до суттєвих змін структурної організації тонкої кишки на органному, тканинному, клітинному та субклітинному рівнях, що істотно впливає на функціональний стан даного органа. Встановлені морфологічні порушення тонкої кишки необхідно вра-

ховувати при лікуванні та прогнозуванні ускладнень у пацієнтів на гостру її непрохідність.

ЛІТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия.- М.: Медицина, 1990.- 318с.
2. Гнатюк М.С., Виклюк Л.Т. Особливості адренергічної іннервації в тонкій кишці при отруєнні бідою поганкою //Гістологія та ембріогенез периферійної нервової системи.- К., 2004.- С. 33-34.
3. Ерюхин И.А., Петров В.П., Ханевич М.Д. Кишечная непроходимость: руководство для врачей.- С.Пб: Издательство « Питер», 1999.- 448 с.
4. Логинов А.С., Парфенов А.И. Болезни кишечника: Руководство для врачей.- М.: Медицина, 2000.- 632 с.
5. Лопач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях Excel. – К.: Морион, 2001. – 410 с.
6. Лопухин Ю.М. Экспериментальная хирургия М.: Медицина, 1971.- 266с.
7. Паулов В.С., Орехова Е.В. Изменения мышечной оболочки и межмышечного сплетения кишечника при экспериментальном перитоните у крыс //Архив патологии.- 1990.- Т.52, № 9.- С. 56-62.
8. Попов В.А. Мембранное пищеварение при хирургической патологии.- Л.: Медицина, 1982.- 192 с.
9. Саркисов Д.С. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций.- М.: Медицина, 1987.- 448 с.
10. Сорочинников А.Г., Доросевич А.Е. Гистологическая и микроскопическая техника.- М.: медицина, 1987.- 448с.
11. Чернух А.М., Александров П.Н., Алексеев О.В. Микроциркуляция.- М.: Медицина, 1994.- 430 с.
12. Шалимов А.А., Радзиховский А.П., Кейсевич Л.В. Руководство по экспериментальной хирургии. – М.: Медицина, 1989. – 272 с.

Гончарова С.В.

МОРФОЛОГІЯ ПРОТОВОКИХ КАРЦИНОМ IN SITU МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Донецький державний медичний університет ім.М.Горького, міська лікарня № 2 « Енергетик», м. Донецьк

МОРФОЛОГІЯ ПРОТОВОКИХ КАРЦИНОМ IN SITU МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ – Робота заснована на морфологічному вивченні 34 клінічних спостережень новоутворень молочної залози з використанням рутинних загальногістологічних та імуногістохімічних методик дослідження, з них атипова протокова гіперплазія (6), протоковий рак in situ молочної залози (17), інвазивні карциноми молочної залози (11). Середній вік хворих склав 37±4,9 років. Показано, що карцинома in situ (CIS) є формою раку, представленого пулом злоякісних клітин, обмежених епітелієм, які не втягають у процес базальну мембрану, але потенційно здатних до інвазії. Одним із додаткових об'єктивних морфологічних критеріїв преінвазивних та інвазивних карцином, поряд зі встановленням рівня експресії HER-2/NEU, ER, PR, PCNA в епітеліальному компоненті новоутворень молочної залози, є кількісні показники експресії CD45R0, CD45RA, CD20 CD68 у клітинах стромальних інфільтратів. Серед імуногістохімічних маркерів, що відображають функціональний стан пухлинних клітин і дозволяють оцінити перебіг, результат захворювання і ймовірно відповідь на лікувальні впливи, на першому місці стоять маркери ампліфікації онкогенів, насамперед це онкоген HER-2/NEU і маркер мутації генів-супресорів (p53). Ki67 - маркер проліферативної активності, корелював з виразністю ангиогенезу. Оптимальним маркером проліферативної активності є реакції на антиген Ki67, який відображає величину проліферативного пулу.

МОРФОЛОГІЯ ПРОТОВОКИХ КАРЦИНОМ IN SITU МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ – Робота заснована на морфологічному вивченні 34 клінічних спостережень новоутворень молочної залози з використанням рутинних загальногістологічних та імуногістохімічних методик дослідження, з них атипова протокова гіперплазія (6), протоковий рак in situ молочної залози (17), інвазивні карциноми молочної залози (11). Середній вік хворих склав 37±4,9 років. Показано, що карцинома in situ (CIS) є формою раку, представленого пулом злоякісних клітин, обмежених епітелієм, які не втягають у процес базальну мембрану, але потенційно здатних до інвазії. Одним із додаткових об'єктивних морфологічних критеріїв преінвазивних та інвазивних карцином, поряд зі встановленням рівня експресії HER-2/NEU, ER, PR, PCNA в епітеліальному компоненті новоутворень молочної залози, є кількісні показники експресії CD45R0, CD45RA, CD20 CD68 у клітинах стромальних інфільтратів. Серед імуногістохімічних маркерів, що відображають функціональний стан пухлинних клітин і дозволяють оцінити перебіг, результат захворювання і ймовірно відповідь на лікувальні впливи, на першому місці стоять маркери ампліфікації онкогенів, насамперед це онкоген HER-2/NEU і маркер мутації генів-супресорів (p53). Ki67 - маркер проліферативної активності, корелював з виразністю ангиогенезу. Оптимальним маркером проліферативної активності є реакції на антиген Ki67, який відображає величину проліферативного пулу.

разований молочної залози, являються кількісні показники експресії CD45R0, CD45RA, CD20 CD68 в клітинах стромальних інфільтратів. Серед імуногістохімічних маркерів, які відображають функціональний стан пухлинних клітин і дозволяють оцінити перебіг, результат захворювання і ймовірно відповідь на лікувальні впливи, на першому місці стоять маркери ампліфікації онкогенів, прежде всего это онкоген HER-2/NEU и маркер мутации генов-супресоров (p53). Ki67 - маркер проліферативної активності, корелював з виразністю ангиогенезу. Оптимальним маркером проліферативної активності є реакції на антиген Ki67, який відображає величину проліферативного пулу.

MORPHOLOGY OF DUCTAL CARCINOMAS IN SITU OF BREAST – The article is based on morphological study of 34 clinical observations of neoplasms of breast with usage of routine histological and immunohistochemical research techniques, among them atypical ductal hyperplasia (6), ductal cancer in situ of breast (17), invasive breast carcinoma (11). The average age of the patients was 37±4,9 years. It is shown, that the carcinoma in situ (CIS) is the form of a cancer represented by a pool of malignant cells, limited by epithelium which do not involve a basal membrane int. the process, but potentially capable to invasion. One of additional objective morphological criterions of preinvasive and invasive carcinomas, alongside with installation of expression level of HER-2/NEU, ER, PR, PCNA in the epithelial component of breast neoplasms, are the quantitative indexes of expression CD45R0, CD45RA, CD20 CD68 in cells of stromal infiltrates. Among immunohistochemical markers, which reflect a functional condition of tumours cells and permit to estimate the course, treatment of disease and probable response to medical treatment, on the first place the markers of oncogenes amplification, first of all it is oncogene HER-2/NEU and marker of of gene mutations (p53). Ki67, the marker of proliferative activity, correlated with angiogenesis. An optimum marker of proliferative activity are the reactions on antigene Ki67 which reflects the size of proliferative pool.

Ключові слова: преінвазивний та інвазивний рак молочної залози, морфологія та імуногістохімічні маркери.

Ключевые слова: преинвазивный и инвазивный рак молочной железы, морфология и иммуногистохимические маркеры.

Key words: preinvasive and invasive breast cancer, morphology, immunohistochemical markers.

Внутрішньопротокові епітеліальні новоутворення молочної залози на сьогодні розділяють на три групи: звичайна епітеліальна гіперплазія, атипова протокова гіперплазія і протоковий рак *in situ* [4, 9]. З морфологічної точки зору, протокова карцинома *in situ* (DCIS) достатньо гетерогенне захворювання. Протоковий рак *in situ* більшість авторів розглядають як хворобу частки молочної залози, що виникає одночасно або асинхронно усередині однієї чи декількох її часток [1]. Внутрішньопротокову карциному *in situ* відносять до преінвазивного або неінвазивного раку, оскільки вона відмежована молочними протоками молочної залози і не поширюється на оточуючі тканини. До впровадження маммографії в більшості випадків виявлення даної патології було випадковою знахідкою при взятті біопсії із доброякісних новоутворень [2, 7]. За своїми морфологічними характеристиками DCIS виникають з епітеліального шару протоки. Аналіз великого числа спостережень показав, що гістоструктура раку молочної залози деякою мірою впливає на перебіг захворювання. Є безліч класифікацій. Згідно з Європейською класифікацією виділяють три категорії DCIS: низько-, помірно- і високодиференційовану [8]. В основі більшості класифікацій лежить морфологічна структура пухлини, що дозволяє виділити два основні типи DCIS – комедо (вугроподібна) і некомедо DCIS. Такий розподіл, з одного боку, пов'язаний з діаметральною протилежною прогностичною значущістю цих типів DCIS, а з другого боку, подібністю цих морфологічних маркерів некомедо-форм DCIS.

На сьогодні більшість авторів дотримується положення, що карцинома *in situ* - це форма раку, який з самого початку представлений пулом злякисних клітин, обмежених епітелієм, які не втягають у процес базальну мембрану, але потенційно здатних до інвазії. Це не протирічить сучасним представленням про карциному *in situ* як про інтраепітеліальну фазу розвитку істинного раку молочної залози, а не пердраковий стан.

Однією із сучасних класифікацій, запропонованих за останнє десятиріччя, є гістологічна класифікація, в основі якої лежать два чинники – це ступінь злякисності (заснована на патоморфології ядерної атипії, або Nuclear grade (NG) I, II, III ступеня) і наявність комедо-некрозу. Виходячи з цієї класифікації, було запропоновано виділити три ступені гістологічної злякисності карциноми *in situ* DCIS: високий, помірний і низький [6]. Автори запропонували розглядати сполучення NG III і комедо-некроз як DCIS високого ступеня гістологічної злякисності (BCG3). Помірний ступінь гістологічної злякисності (ПСГЗ) характеризується наявністю NGII або NGI з комедо-некрозом. При низькому ступені гістологічної злякисності (НСГЗ) виявляється NGI або NGII без комедо-некрозу.

Не всі форми DCIS перетворюються в інвазивний рак, однак, якщо у пацієнтки виявляється карцинома *in situ*, то ймовірність розвитку інвазивного раку у неї більша, ніж у жінки без DCIS [3, 5]. DCIS високого ступеня гістологічної злякисності перебігають агресивніше і володіють більш високим інвазивним потенціалом, ніж DCIS низького ступеня гістологічної злякисності [8]. Успіх лікування карциноми *in situ* залежить від вибору оптимального об'єму лікування, який базується на детальній оцінці прогностичних критеріїв і оцінці ризику розвитку рецидиву [10].

Мета дослідження - виявити основні морфологічні та імуноморфологічні ознаки протокових карцином *in situ* молочної залози для оптимізації диференціального діагнозу та прогнозу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Матеріалом морфологічного дослідження послужили біоптати 34 хворих з діагнозом но-

воутворення молочної залози, які перебували на лікуванні в Донецькому протипухлинному центрі (ДОПЦ), а також у міській лікарні № 2 «Енергетик» м.Донецьк. З них атипова протокова гіперплазія (6), протоковий рак *in situ* молочної залози (17), інвазивна карцинома молочної залози (11). Середній вік хворих склав $37 \pm 4,9$ років. Взяття матеріалу проводилося за допомогою трепанобіопсії, що дозволяє одержати стовпчик тканини, достатній як для гістологічного дослідження, так і визначення рецепторів естрогенів і прогестерону. Шматочки тканини фіксували в нейтральному забуференому формаліні (pH 7,4) протягом 24 годин. Після дегідратації шматочки заливали у високоочищений парафін з полімерними добавками (Richard-Allan Scientific, США) при температурі не більше 60°C. Зрізи товщиною 5 ± 1 мкм виконували на ротаційному мікротомі Microm HM325 з системою переносу зрізів STS (Carl Zeiss, Німеччина). Отримані зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином, за Ван-Гізона, за Вергоффом, толуїдиновим синім при pH 2,6 і 5,3, ставили ШИК-реакцію з обробкою контрольних зрізів амлазою. Частина серійних гістологічних зрізів, депарфін-нованих за стандартною методикою, обробляли монокліональними антитілами до поверхневих антигенів p53, Ki67 і HER-2/NEU, до панцитокератинів, PCNA, віментину, а також антигенів епітеліальних мембран, CD45R0 (Т-лімфоцити), CD45RA, CD20 (В-лімфоцити), CD68 (макрофаги) і до рецепторів естрогену (ER) та прогестерону (PR) (PharMingen, USA). Дослідження препаратів проводили на мікроскопі Olympus AX70 (Японія) з використанням програми AnalySIS Pro 3.2 (фірма SoftImaging, Німеччина) згідно з рекомендаціями виробника програмного забезпечення. Статистичну обробку проводили за допомогою пакета програм Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Клінічно великі за розмірами DCIS (більше 1 см) проявлялися пальпуючим новоутворенням і виділеннями різного характеру із соска. При гістологічному дослідженні досить важко відрізнити часточкову від протокової карциноми *in situ* або від атипової часточкової гіперплазії, оскільки в процес нерідко втягаються як ациноси часток, так і термінальні відділи проток. Із 17 вивчених на серійних гістологічних зрізах протокових карцином *in situ* молочної залози 6 випадків характеризувалися мультифокальним ростом. Безліч фокусів виявлялися як в неінвазивних DCIS, так і в інвазивних карциномах (в 4 із 6 спостережень). З усіх вивчених 34 хворих з діагнозом новоутворення молочної залози (атипова протокова гіперплазія – 6 випадків, протоковий рак *in situ* молочної залози - 17, інвазивна карцинома молочної залози - 11) найчастіше зустрічався папілярний варіант (14 випадків), який характеризувався формуванням сосочкових структур з добре розвинутою стромою, помірним поліморфізмом клітин і небагаточисельними мітозами. Клітини вугровго раку (комедо-карцинома) гіперхромні, з ядерним поліморфізмом, наявністю великого числа патологічних мітозів, цілком закупорювали просвіт протоки. Скупчення в просвіті збільшених проток великої кількості анаплазованих поліморфних гіперхромних клітин з атипичними мітозами, без утворення якихось структур, вказує на солідний варіант протокового неінвазивного раку. В ряді випадків виявлені дрібні вогнища некрозів. Найчастіше дуже важко відрізнити від солідного варіанта протокового проліферуючого фіброаденоматозу, для якого все-таки характерний дисгормональний поліморфізм (клітин багато, але вони переважно однакових розмірів, звичайні ядра, немає гіперхромності, відсутні патологічні мітози, некрози). Кріброзний протоковий неінвазивний рак спостерігали у 2 випадках, клітини однотипні, гіперхромні, мітози в невеликій кількості. Характерне утворення кріброзних структур з безліччю дрібних отворів, може бути некроз у центрі. При кріброзній формі проліферативного протокового фіброаденоматозу клітини монотипні, мітози відсутні. Формують кріброзні структури рівномірно або по периферії, немає некрозу. У кріброзному DCIS клітини одно-

типні, гіперхромні, мітози в невеликій кількості. Відносною ознакою злоякісності є наявність 12 ± 3 кальцинатів на 1 см^2 тканини молочної залози. При карциномі *in situ* мікрокальцинати, як правило, мали різну щільність, розміри і форму. Вони або тісно згруповані, або розсіяні по паренхімі органа. Однак слід підкреслити, що вогнища мікрокальцифікації при DCIS в більшості випадків не відображають істинне поширення пухлини і ступінь її злоякісності.

Існує велике число імуноморфологічних маркерів прогнозу раку молочної залози, однак, на думку провідних спеціалістів, необхідна подальша робота зі стандартизації всіх етапів досліджень і розробка кількісних оцінок тих чи інших реакцій. У пацієнток з інвазивними карциномами молочної залози, за даними проведеного дослідження, експресія HER-2/NEU, ER, PR, PCNA значно вища, ніж у пацієнток з протоковим раком *in situ*, звичайною епітеліальною та атиповою протоковою гіперплазією. Експресія HER-2/NEU не пов'язана з гістологічним типом, розміром пухлини і лімфосудинною інвазією. У складі клітинних інфільтратів протокового раку *in situ* та інвазивних карцином молочної залози імуногістохімічно була виражена імунореактивність до CD45R0 (Т-лімфоцити), CD45RA, CD20 (В-лімфоцити) та CD68 (макрофаги); при інвазивних карциномах молочної залози домінуючим пулом є клітини з CD45R0+. Серед імуногістохімічних маркерів, що відображають функціональний стан пухлинних клітин і дозволяють оцінити перебіг, результат захворювання і ймовірну відповідь на лікувальні впливи, на першому місці стоять маркери ампліфікації онкогенів, насамперед – це онкоген HER-2/NEU і маркер мутації генів-супресорів (p53). Ki67 – маркер проліферативної активності, корелював з виразністю ангиогенезу. Оптимальним маркером проліферативної активності є реакції на антиген Ki67, який відображає величину проліферативного пулу. У всіх вивчених випадках позитивна реакція чітко корелювала зі ступенем катаплазії пухлини і обернено пропорційно з рецепторами естрогену і прогестерону. Мала місце також позитивна кореляція рецепторного статусу пухлини: так, наприклад, при позитивності до рецепторів естрогену (ER+) пухлинах діагностовані високодиференційовані форми раку молочної залози, навпаки, низькодиференційований рак, як правило, характеризувався відсутністю рецепторів.

ВИСНОВКИ 1. Мікрокальцинати при карциномі *in situ* (DCIS) є відносною ознакою злоякісності при щільності їх

розподілу, який дорівнює 12 ± 3 кальцинатів на 1 см^2 тканини молочної залози і не відображають істинне поширення пухлини і ступінь її злоякісності. 2. Оптимальним маркером проліферативної активності при карциномі *in situ* є реакції на антиген Ki67, який відображає величину проліферативного пулу, а також маркери ампліфікації онкогенів (онкоген HER-2/NEU) і маркер мутації генів-супресорів (p53). 3. При карциномі *in situ* має місце позитивна кореляція між рецепторним статусом пухлини: при позитивних до рецепторів естрогену (ER+) пухлинах частіше діагностовані високодиференційовані форми раку молочної залози, а низькодиференційований рак характеризувався відсутністю рецепторів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бондар Г.В., Сєдаков І.Є., Шлопов В.Г. Первинно-неоперабельний рак молочної залози. – Донецьк: "Каштан", 2005. – 346 с.
2. Adepoju L.J., Symmans W.F., Babiera G.V. et al. Impact of concurrent proliferative high-risk lesions on the risk of ipsilateral breast carcinoma recurrence and contralateral breast carcinoma development in patients with ductal carcinoma *in situ* treated with breast-conserving therapy // *Cancer*. – 2006. – Vol.106, № 1. – P. 42-50.
3. Auvinen P., Tammi R., Tammi M. et al. Expression of CD 44 s, CD 44 v 3 and CD 44 v 6 in benign and malignant breast lesions: correlation and colocalization with hyaluronan // *Histopathology*. – 2005. – Vol.47, № 4. – P. 420-428.
4. Davis W.G., Hennessy B., Babiera G. et al. Metaplastic Sarcomatoid Carcinoma of the Breast With Absent or Minimal Overt Invasive Carcinomatous Component: A Misnomer // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2005. – Vol. 29, № 11. – P. 1456-1463.
5. Garcia-Caballero T., Menendez M.D., Vazquez-Boquete A. et al. HER-2 status determination in breast carcinomas. A practical approach // *Histol. Histopathol.* – 2006. – Vol. 21, N3. – P.227-236.
6. Prati R., Apple S.K., He J. et al. Histopathologic characteristics predicting HER-2/neu amplification in breast cancer // *Breast J.* – 2005. – Vol. 11, № 6. – P. 433-439.
7. Shiraishi A., Kurosaki Y., Maehara T. et al. Extension of ductal carcinoma *in situ*: histopathological association with MR imaging and mammography // *Magn. Reson. Med. Sci.* – 2003. – Vol. 2, №4. – P. 159-163.
8. Tse G.M., Tan P.N., Ma T.K. et al. CD44s is useful in the differentiation of benign and malignant papillary lesions of the breast // *J. Clin. Pathol.* – 2005. – Vol. 58, № 11. – P. 1185-1188.
9. Van de Vijver M.J. Biological variables and prognosis of DCIS // *Breast*. – 2005. – Vol.14, № 6. – P. 509-519.
10. Vogl G., Dietze O., Hauser-Kronberger C. Angiogenic potential of ductal carcinoma *in situ* (DCIS) of human breast // *Histopathology*. – 2005. – Vol. 47, №6. – P. 617-624.

Заячківська О.С., Гаврилюк О.М., Нектегаєв І.О., Терлецька О.І., Ковальчук С.М., Паніна Л.В., Гжегоцький М.Р.

ФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ МЕЛАТОНІНУ ЯК ГЕПАТОПРОТЕКТОРА ЗА УМОВ СТРЕС-ІНДУКОВАНИХ УРАЖЕНЬ

Львівський національний медичний університет

ФІЗІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ МЕЛАТОНІНУ ЯК ГЕПАТОПРОТЕКТОРА ЗА УМОВ СТРЕС-ІНДУКОВАНИХ УРАЖЕНЬ – Показані експериментальні дослідження про вплив мелатоніну на стрес-індуковані ушкодження печінки у щурів залежно від індивідуальних патологічних особливостей поведінки, попередньо тестованих в тесті "відкрите поле", як високостресрезистентні (ВСР) і низькостресрезистентні (НСР) групи; використані гістологічні і біохімічні параметри оксидативного стресу і при введенні мелатоніну. Результати досліджень свідчать, що мелатонін здійснює гепатопротекцію через апоптотичні і NO_2 медіюваний мембраностабілізуючий вплив.

ФІЗІОЛОГІЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ МЕЛАТОНИНА КАК ГЕПАТОПРОТЕКТОРА В УСЛОВИЯХ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ – Представлены экспериментальные исследования о влиянии мелатонина на стресс-индуцированное повреждение печени у крыс в зависимости от индивидуальных-типологических особенностей поведе-

ния, предварительно тестированных в тесте „открытое поле“, как высокостресрезистентные (ВСР) и низкостресрезистентные (НСР) группы; использованы гистологические и биохимические параметры оксидативного стресса без и при введении мелатонина. Результаты исследований свидетельствуют, что мелатонин оказывает гепатопротекцию через проапоптотическое и NO_2 медируемое мембраностабилизирующее влияние.

PHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF MELATONIN EFFECT AS HEPATOPROTECTOR IN CONDITIONS OF STRESS-INDUCED INJURY – The aims of the present study were to evaluate the effect of melatonin on the stress-induced liver injury, and to indicate profound differences in the susceptibility for stress to the development of injury via individuals' genotypes. Rats were tested by "open field test" for high (HRG) and low resistant groups (LRG); histological method for rat liver biopants and biochemical parameters of oxidative stress were used under stress without and with melatonin pretreatment. Our results suggest that

melatonin promoted protection against stress-induced liver injury may be mediated by upregulation of apoptosis and cytoprotection via increased activity of protective antioxidative enzymatic systems.

Ключові слова: стрес, цитопротекція, NO₂, ліпопероксидація, антиокислювальна система.

Ключевые слова: стресс, цитопротекция, NO₂, липопероксидация, антиокислительная система.

Key word: stress, cytoprotection, NO₂, lipoperoxidation, antioxidative enzymatic system.

ВСТУП Упродовж останніх років в Україні стійко утримується висока захворюваність на гастроентерологічну патологію, яка, не зважаючи на високі стандарти лікування, набуває ознак хронічного перебігу. Еволюція медичних знань засвідчила появу захворювань, які пов'язані з молекулярними і функціональними порушеннями, більшість з яких спричинена екзогенними факторами, що залучують *over-* чи *under-*експресію нормальних генів або мутаціями, які генерують аномальні генні продукти. Це сприяє появі уражень всередині клітин та клітинних мембран, модифікуванню мікросередовища, що включає клітини стромы, судин та крові, створення важливого підґрунтя для особливостей перебігу, розвитку та появи хвороби. Головним механізмом, що визначає цитопротекторні властивості організму є функціонування природної стрес-лімітуючої системи, що характеризується багатокомпонентністю і є основою онтогенетичного функціонального резерву організму. Невпинне збільшення випадків ураження печінки внаслідок дії екстремальних факторів, поява неалкогольної жирової хвороби печінки (стеатоз, стеатогепатит, фіброз і цироз) робить актуальним дослідження функціонування гепатоцитів за різних умов. Відомо, що гострий стрес різної природи характеризується надмірним вільнорадикальним окисненням, за рахунок утворення активних форм кисню (АФК), що стають сигнальними індукторами молекулам захисних систем організму [2, 13]. Важливим питанням в галузі фізіології є дослідження активаторів локальної стрес-лімітуючої системи (ЛСЛС) з метою розширення діапазону засобів для профілактичної та терапевтичної модуляції [14, 39, 40]. Особлива роль належить системі антиоксидантного захисту (АОЗ) та ендотеліозалежній активності, яка визначає виділення й утилізацію оксиду азоту – важливого універсального ендогенного регулятора кровотоку, клітинного дихання та енергогенезу, апоптозу, що є альтернативою від деструктивних змін некрозу.

Нині велика увага приділяється природному біорегулятору мелатоніну, що синтезується окрім епіфізу, також клітинами шлунково-кишкового тракту (ШКТ) [18, 29], слизових залоз, сітківки [27] та циліарного тіла, нирки [34], дихальних шляхів, лейкоцитами [26] та тромбоцитами [30]. Плейотропна дія мелатоніну реалізується через мембранні (MT1 та MT2) та нуклеарні рецептори, внутрішньоклітинні сайти чи хімічну взаємодію. Відомий фізіологічний вплив мелатоніну на регулювання циклу сон/будьористість та інших циркадних [1, 3] та сезонних ритмів [5], терморегуляцію та репродуктивні функції людини [36]. Новітні дані свідчать про антиоксидантну [20, 21, 23], антигіпоксичну [19, 20, 31], проапоптотичну [41], онкостатичну [31], геропротекторну [5], ліполітичну [15, 16] та імунomodельючу [35] дії мелатоніну [26], що робить його потенційним активатором локальної стрес-лімітуючої системи.

Підтверджено даними імунохімічних досліджень, що мелатонін знаходиться в ентерохроматофільних (ЕС) клітинах слизової оболонки ШКТ [28] у значно більшій кількості, ніж концентрація цього індолу в циркулюючій крові [24]. Велика кількість мелатоніну виявлена в жовчі [29]. Проте не дивлячись на відому цитопротекторну роль мелатоніну в стрес-індукованих ураженнях ШКТ [17, 37], його гепатопротекторна дія *in vivo* остаточно не з'ясована.

Метою нашої роботи було дослідження морфофункціонального стану печінки за умов експериментального стресу у відповідь на дію мелатоніну з урахуванням ключового аспекту - схильності та опірності до цього процесу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Досліди проведені на білих лабораторних дорослих щурах – самцях масою 180-220 г згідно з міжнародними вимогами щодо гуманного відношення до тварин у стандартних умовах віварію. Вони одержували збалансований раціон і воду за потребою, перед відтворенням гострого стресу застосовували харчову депривацію, не обмежуючи тварин водою. Для оцінки індивідуальної спадкової стресрезистентності тварин попередньо типували за поведінковими реакціями в тесті „відкрите поле” протягом 10 хв за орієнтувально-дослідницьким суматційно-пороговим показником, що включав обрахування рухової активності (спонтанну та орієнтувальну), грумінг (число умивань різного типу) „норковий рефлекс”, число актів урнації та дефекації (болюсів). Протестовані тварини були розділені на високорезистентні (ВСР) на низькорезистентні (НСР), з яких було виділені інтактні та сформовані 6 експериментальних груп по 8-10 щурів в кожній [8, 11]. Для моделювання стресу використовували стандартну методику – 3,5 годинний водно-імобілізацій стрес за Takagi et al. [38]. ВСР щури склали I-III групи, а НСР тварини – IV – V групи. Тваринам I та IV групи моделювали стрес, тваринам II і V груп вводили 1мл фізіологічного розчину per os, а III та VI групи – вводили мелатонін (віта-мелатонін, ЗАТ “Київський вітамінний завод” Україна) per os в дозі 20,0 мг/добу.

Для верифікації ступеня структурних уражень печінки застосовували гістологічні дослідження печінки, матеріал фіксували у 10% розчині формаліну. Для візуалізації клітинних та тканинних компонентів печінки проводили виготовлення серійних гістологічних зрізів товщиною 5 мкм з наступним фарбуванням гематоксиліном та еозином. Дослідження проводились за допомогою мікроскопа Olympus BX 41 при збільшенні x200 та x400.

У крові тварин контрольної та дослідних груп визначали вміст метаболіту оксиду азоту нітриту визначали за ідентифікацією нітрит-іона за специфічною кольоровою реакцією Грісса [22], кількість продуктів ліпопероксидації (малонового діальдегіду, МДА) [4], активність основних ферментів АОЗ – супероксиддисмутази (СОД) [7], каталази (КАТ) [6]. Для розрахунку відповідності мобілізації антиоксидантних систем ступеню активації реакцій ліпопероксидації розраховували коефіцієнт контролю пероксидації, $K = \text{СОД}/\text{МДА}$; $K = \text{СОД} \cdot \text{КАТ}/\text{МДА}$, які мають універсальний характер і є високоінформативними [10]. Всі вищеперелічені параметри визначали спектрофотометрично на мікроаналізаторі PV 125 1C SOLAR.

Результати досліджень опрацьовували за допомогою програмного забезпечення STATISTICA for Windows 5.0 за допомогою процедури множинного порівняння – апостеріорні порівняння середніх з використанням критерію Newman-Keuls. Значення $p < 0,05$ вважали достовірними.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Показано, що дослідження поведінки щурів після тесту „відкрите поле”, розташування у незнайомому відкритому просторі, втеча з якого неможлива, викликає збільшення латентного періоду і часу перебування в центрі поля, змінює горизонтальну активність, збільшує вертикальну активність і посилює вегетативні реакції. Тварини, в яких СПП складав 0-15 балів відносили до ВСР, а 15-30 – до НСР груп. Оцінка ефективності стреспротекторної дії виконується на основі кластерного аналізу (кількісної оцінки різниці об'єктів дослідження з урахуванням багатьох параметрів). Тому попереднє типування тварин дозволяє одержати більш стабільні показники по окремих експериментальних групах і водночас уможливити виявлення співвідношення ефектів стресу на активацію обмежуючих систем та засобів корекції стосовно до спадкових особливостей тварин. Донедавна було відомо, що активність ЛСЛС у протидії АФК багатофункціональна, залучення вільнорадикальних пероксидних перетворень підтверджує участь АОЗ та системи оксиду азоту. Згідно з отриманими результатами [табл. 1], для тварин різних експериментальних груп характерні істотні зміни вмісту нітрит-іону у крові. Незаперечним є незначне збільшення вмісту NO₂⁻ у ВСР щурів порівняно до НСР у інтакт-

тних групах (Рис.1). Судячи з наростання концентрації NO_2^- , стрес-відповідь спричинила мобілізацію системи оксиду азоту у тварин II та V груп, що є наслідком нормального фізіологічного процесу, причому суттєвої відмінності між ВСР та НСР тваринами не відмічено. Вплив мелатоніну збільшив вміст NO_2^- , особливо, у тварин III та, в меншій мірі, у VI групі, що можна пояснити дисфункцією вазодилаторних ендотелій-залежних факторів регуляції судинного тону у НСР щурів. Концентрація МДА у інтактних ВСР та НСР щурів була дуже низькою (Рис.2). Виявлено, що після дії 3,5 годинного стресу у ВСР (II група) тварин спостерігалось значне збільшення вмісту МДА в 2,48 раза, а для НСР (V група) в 1,7 разів порівняно з інтактними групами тварин. Отримані результати можна пояснити особливостями дії екстремальних чинників та активацією оксигеназних реакцій за рахунок зниження потужності аеробних енергопродуруючих систем і формуванням неспецифічної опірності до стресу (39). Введення мелатоніну спричинувало зменшення МДА до $66,50 \pm 1,61$ мкмоль/мл у тварин III групи і до $83,19 \pm 1,49$ мкмоль/мл у VI групі. Однак, середні значення у цих групах достовірно різняться між собою, відповідно становлячи 79,93% для НСР тварин проти показників ВСР групи, що можна узагальнити як специфічне метаболічне підтвердження зниження резистентності попередньо визначених поведінкових реакцій тварин. Як показано на Рис.3, вміст СОД для щурів I групи складав $269,83 \pm 1,58$ од.акт./мл×хв, що було відмінним від тварин IV групи. Після моделювання стресу характерним було зменшення активності антиоксидантних ензимів. Зареєстровано збільшення вмісту СОД в крові у щурів II групи на 131%, тоді як для IV групи лише на 89%, після введення мелатоніну порівняно з аналогічними параметрами у інтактних тварин. Післястресова каталазна активність у крові для ВРТ тварин після введення мелатоніну перевищувала контрольні значення II групи у 1,87 раза, сягаючи найвищих значень, що свідчить про активну мобілізацію антиоксидантних реакцій, тоді як для тварин VI групи у 1,25 разів порівняно

із значеннями IV групи (Рис.4). Для об'єктивної оцінки отриманих результатів у системі про- та антиоксидантних перетворень, а, отже, оцінки впливу АФК використані коефіцієнти, за якими оцінюється мобілізація антиоксидантних систем стосовно ступеня активації реакцій ліпопероксидації (Табл.1).

При дослідженні тканини печінки були виявлені значні альтеративні зміни та гемодинамічні розлади у тварин II і V груп (Рис.5), яким індукували стрес порівняно із інтактними ВСР (I група) та НСР (IV група) тваринами (Рис.6). Ураження паренхіми включали дистрофічні зміни та загибель гепатоцитів шляхом некрозу та апоптозу. Практично у всіх випадках виявлялись ознаки нерівномірно вираженої великовакуольної жирової дистрофії, що спричинені молекулярними медіаторами ураженням печінки (23). Причому у тварин V групи визначались ділянки некрозу – множинні дрібні вогнища, що включали 3-5 уражених гепатоцитів та більш за розміром ділянки, які захоплювали значні зони дисконкомплексації балок. Некротизовані гепатоцити виявляли посилену еозинофілію та гомогенізацію цитоплазми, але найбільш вираженими були зміни ядер – каріопікноз, каріорексис та каріолізис. Клітинна реакція навколо зон некрозу була виражена мінімально і проявлялась наявністю поодиноких лейкоцитів у прилягаючих синусоїдах. Виявлялись також окремі гепатоцити з початковими ознаками апоптозу. Зауважено, що ступінь стрес-індукованого пошкодження гепатоцитів є більшим у групі НСР тварин.

У разі використання мелатоніну (III та VI групи) комплексна будова часточок була збережена, але частина гепатоцитів характеризувалась досить однотипними ядерними змінами – виражена периферійна конденсація хроматину з просвітленням центральної зони. Цитоплазма в таких клітинах була еозинофільна та дещо зморщена. Місцями спостерігались дрібні еозинофільні округлі апоптозні тільця, розташовані у просторах Діссе. Фокуси некрозу у цих випадках

Таблиця 1. Зміни вмісту нітрит-іона (NO_2^-) та показників інтенсивності процесів ПОЛ і системи АОЗ у крові щурів за умов гострого стресу та його корекції мелатоніном (Mean \pm Std.Dev, n=8-10).

	I група	II група	III група	IV група	V група	VI група
NO_2^- , мкМ	$7,59 \pm 0,16^{**\alpha\beta}$	$9,25 \pm 0,37^{**}$	$9,71 \pm 0,15^{**\alpha\beta}$	$6,91 \pm 0,11^{**\alpha\beta}$	$9,13 \pm 0,18^{**}$	$8,98 \pm 0,10^{**}$
МДА, мкмоль/мл	$56,74 \pm 7,08^{**\alpha\beta}$	$141,43 \pm 10,79^{**\alpha\beta}$	$66,50 \pm 1,61^{**\alpha\beta}$	$55,63 \pm 2,36^{**\alpha\beta}$	$99,58 \pm 0,99^{**\alpha\beta}$	$83,19 \pm 1,49^{**\alpha}$
СОД, од.акт./мл×хв	$269,83 \pm 1,58^{**\alpha}$	$400,68 \pm 29,29^{**\alpha\beta}$	$194,69 \pm 4,60^{**\alpha\beta}$	$244,76 \pm 2,66^{**\alpha\beta}$	$333,27 \pm 6,22^{**\alpha\beta}$	$279,07 \pm 4,05^{**\alpha\beta}$
КАТ, мкмоль H_2O_2 /мл×год	$29,80 \pm 5,41^{**\alpha\beta}$	$48,08 \pm 3,71^{**\alpha\beta}$	$90,22 \pm 1,15^{**\alpha\beta}$	$22,07 \pm 1,39^{**\alpha\beta}$	$57,34 \pm 1,68^{**\alpha\beta}$	$71,89 \pm 0,80^{**\alpha}$
СОД/МДА	$4,82 \pm 0,58^{**\alpha\beta}$	$2,84 \pm 0,24^{**\alpha\beta}$	$2,94 \pm 0,10^{**\alpha}$	$4,47 \pm 0,21^{**\alpha\beta}$	$3,35 \pm 0,07^{**}$	$3,36 \pm 0,07^{**}$
СОД×КАТ/МДА	$143,62 \pm 31,04^{**\alpha\beta}$	$137,04 \pm 19,22^{**\alpha\beta}$	$265,62 \pm 9,63^{**\alpha\beta}$	$98,1 \pm 7,31^{**\alpha\beta}$	$192,04 \pm 6,60^{**\alpha\beta}$	$241,72 \pm 5,96^{**\alpha}$

Примітки: * $p < 0,05$ порівняно з II групою; † $p < 0,05$ порівняно з III групою; ‡ $p < 0,05$ порівняно з IV групою; ° $p < 0,05$ порівняно з V групою; β $p < 0,05$ порівняно з VI групою

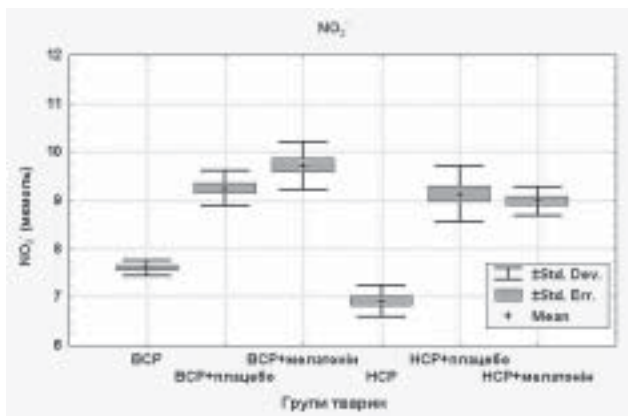


Рис.1. Динаміка вмісту нітрит-іону (NO_2^-) у крові щурів за умов гострого стресу та його корекції мелатоніном (20,0 мг/добу).

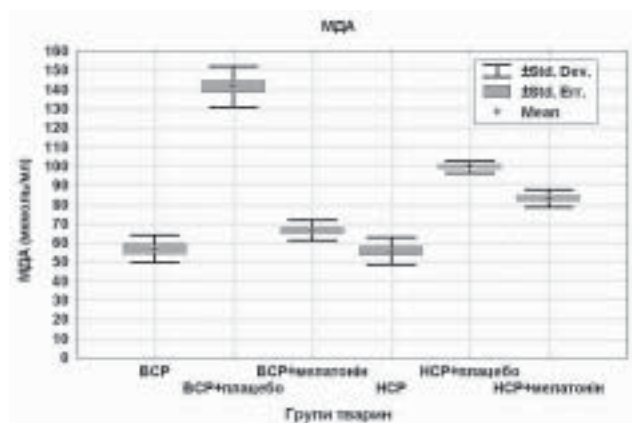


Рис.2. Динаміка вмісту малонового діальдегіду у крові щурів за умов гострого стресу та його корекції мелатоніном (20,0 мг/добу).

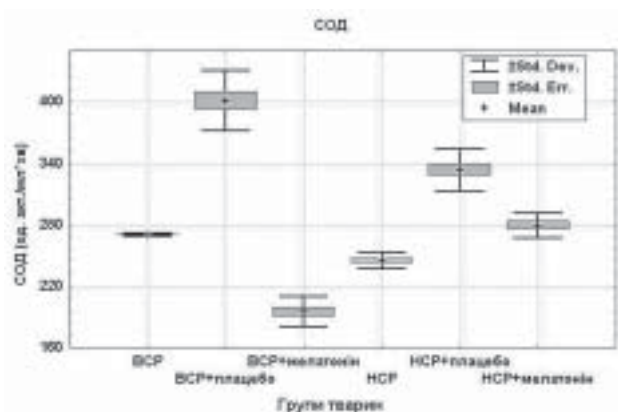


Рис.3. Динаміка вмісту супероксиддисмутази у крові щурів за умов гострого стресу та його корекції мелатоніном (20,0 мг/добу).

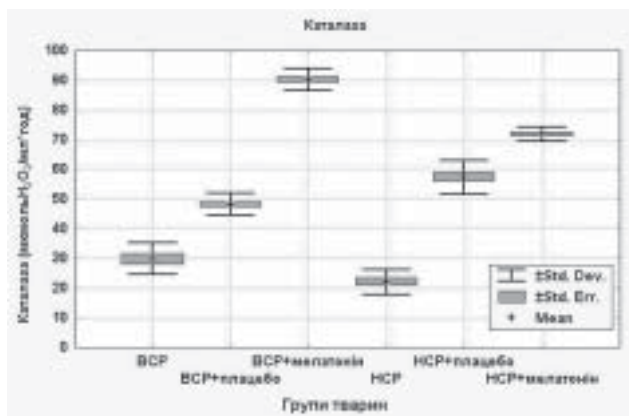


Рис.4. Динаміка вмісту каталази у крові щурів за умов гострого стресу та його корекції мелатоніном (20,0 мг/добу).

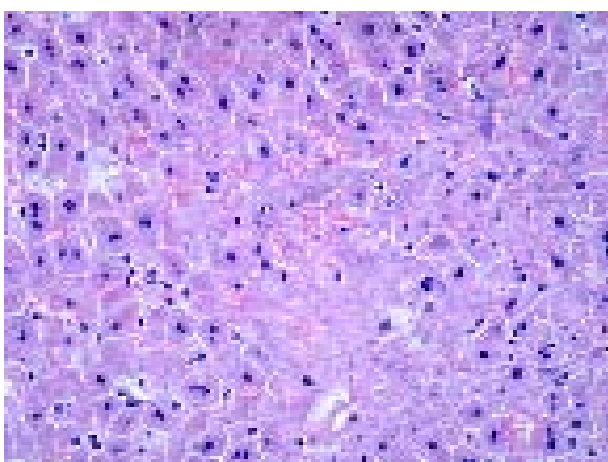


Рис.5. Гістологічний зріз печінки (HCP щур, випадок 4 з групи V). Ділянка некрозу з повним лізисом ядер та геморагічною інфільтрацією. В прилеглих гепатоцитах ядра з ознаками фрагментації. Гематоксилін –еозин x 400.

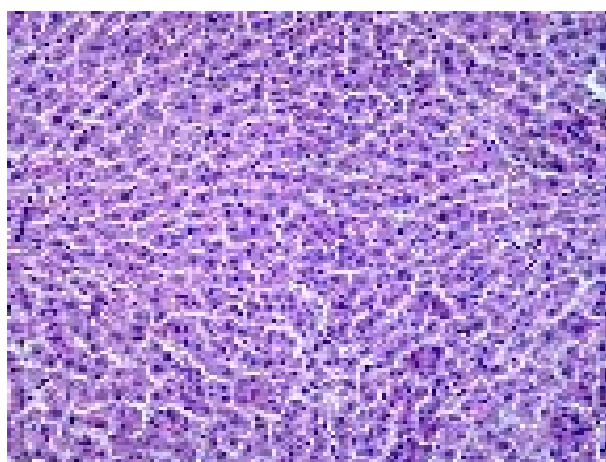


Рис.6. Гістологічний зріз печінки (HCP щур, випадок 7 з групи IV). Збережена балкова структура часточок. Гепатоцити без ознак пошкодження. Гематоксилін –еозин x 400.

були поодинокими, дрібними і проявлялись фрагментацією ядер (Рис.7). Одночасно виявлені гемодинамічні розлади, що супроводжували альтеративні зміни, практично у всіх випадках і були неспецифічними: розширення синусоїдів, гіперемія центральних вен, дрібні геморагії у ділянках не-

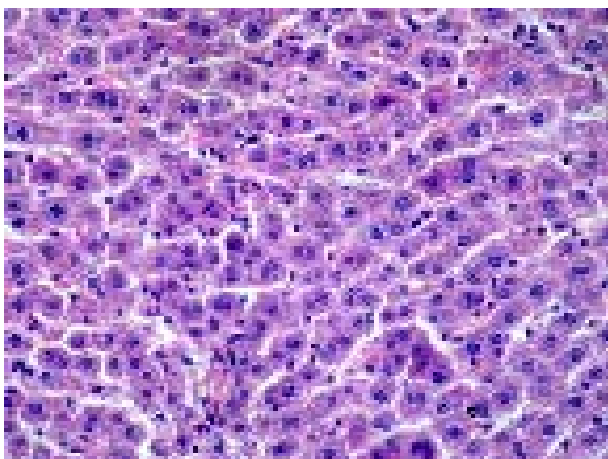


Рис.7. Гістологічний зріз печінки (HCP щур, випадок 6 з групи VI). Ядра частини гепатоцитів з ознаками вираженої периферійної конденсації хроматину, що характерно для апоптозу. Окремі гепатоцити з ознаками каріолізу. Гематоксилін –еозин x 400.

крозу. Зареєстровані зміни паренхіматозних структур часточок печінки свідчать про цитопротекторний вплив мелатоніну, який можна пояснити зменшенням незворотних змін клітини та залученням фізіологічного механізму апоптозу, індукованого стресреакцією (Рис.8).

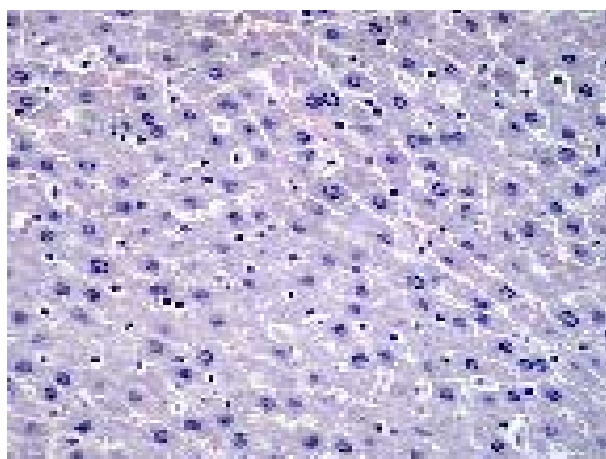


Рис.8. Гістологічний зріз печінки (BCP щур, випадок 7 з групи III). Більшість гепатоцитів з чіткими ядрами, в поодиноких клітинах початкові ознаки апоптозу. Гематоксилін –еозин x 400.

ВИСНОВКИ Отримані дані можна пояснити тим, що індивідуальні-типологічні особливості поведінкових реакцій зумовлюють специфіку метаболічних процесів і відмінність у дисбалансі про- та антиоксидантних процесів. Стрес-індуковані зміни супроводжуються активуванням ЛСЛС з односпрямованими змінами вмісту нітрит-іонів продуктів та ПОЛ, що підтверджує участь ендотеліязалежної системи оксиду азоту в регуляції вільнорадикальних процесів, клітинного дихання, а, відповідно, і мембранозалежного окисного метаболізму в цілому. Введення мелатоніну, як демонструють результати, окрім прямої дії, як скавенджера радикалів, є ефективним для активування ЛСЛС за рахунок NO-шляху та *up*-регулювання антиоксидантних і *down*-регулювання прооксидантних ензимів, ендотеліязалежної активності, покращення клітинного метаболізму та проапоптичної цитопротекторної дії.

ЛІТЕРАТУРА

- Байда О.А., Мастягин С.С., Арушанян Є.Б., Попов А.В. Изменение вариабельности сердечного ритма у здоровых людей разного хронотипа под воздействием мелатонина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2005. – 68 (5). – С. 23–25.
- Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-восстановительный гомеостаз в норме и патологии / Под общ. ред. Ю.А. Зозули. – К.: Наук. Думка, 1997. – 20 с.
- Бутенко Г.М., Лабунец І.Ф., Коркушко О.В., Терезина О.П. и др. Коррекция нарушений циркануальных ритмов функционального состояния иммунной и эндокринной систем пептидным фактором эпифиза эпителином у больных хронической ишемической болезнью сердца пожилого и старческого возраста // Журн. АМН України. – 2005. – 11 (1). – С. 105–116.
- Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекиси липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33 – 35.
- Коркушко О.В., Шатило В. Б. Шишковидная железа: физиологическая роль в организме, функциональная недостаточность в пожилом возрасте, возможные пути коррекции // Медицинский всевіт. – 2003. – 2. – С. 84–93.
- Корлюк М.А. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – 1. – С. 16 – 19.
- Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии. – 1990. – 2. – С. 88–91.
- Маркель А.Л., Хусаинов Р.А. Метод комплексной регистрации поведенческих и вегетативных реакций у крыс при проведении теста „открытое поле” // Журн. высш. нерв. деят. – 1976. – Т. 26 (6). – С. 1314–1318.
- Мартынюк В.Б., Ковальчук С.М., Тимочко М.Ф., Панасюк Е.Н. Индекс антиокислительной активности биологического материала // Лаб. дело. – 1991. – 3. – С. 19 – 22.
- Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лаб. дело. – 1986. – 6. – С. 724–727.
- Пивина С.Г., Акулова В.К., Орден Н.Є. Характеристика поведения и стрессорреактивности гипофизарно-адренортикальной системы у крыс с пренатальным нарушением метаболизма тестостерона // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2005. – 91 (9). – С. 1071–1079.
- Тимирбулатов Р.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. – 1981. – 4. – С. 209 – 211.
- Bolukbas C. et al. Increased oxidative stress associated with the severity of the liver disease in various forms of hepatitis B virus infection // BMC Infect. Dis. – 2005. – Vol. 5, № 1. – P. 95.
- Bonior J., Jaworek J., Konturek S.J., Pawlik W.W. Increase of heat shock protein gene expression by melatonin in AR42J cells // J. Physiol. Pharmacol. – 2005. – Vol. 56, № 3. – P. 471–481.
- Bongiorno D. et al. Localization and interactions of melatonin in dry cholesterol/lecithin mixed reversed micelles used as cell membrane models // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 38, № 4. – P. 292–298.
- Borges-Silva C.N. et al. Reduced lipolysis and increased lipogenesis in adipose tissue from pinealectomized rats adapted to training // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 2. – P. 178–184.
- Brzozowski T. et al. Importance of the pineal gland, endogenous prostaglandins and sensory nerves in the gastroprotective actions of central and peripheral melatonin against stress-induced damage // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 4. – P. 375–385.
- Bubenik G.A. Gastrointestinal melatonin, localization, function and clinical relevance // Dig. Dis. Sci. – 2002. – Vol. 10. – P. 2336–2348.
- Chang H.M. et al. Melatonin restores the cytochrome oxidase reactivity in the nodose ganglia of acute hypoxic rats // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 2. – P. 206–214.
- Esparza J.L. et al. Melatonin reduces oxidative stress and increases gene expression in the cerebral cortex and cerebellum of aluminum-exposed rats // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 2. – P. 129–136.
- Gitto E. et al. Melatonin reduces oxidative stress in surgical neonates // J. Pediatr. Surg. – 2004. – Vol. 39. – P. 184–189.
- Green L.C., Wagner D.A., Glogovski J.G. Analysis of nitrate, nitrite and 15N-nitrate in biological fluids // Anal. Biochem. – 1982. – Vol. 126, № 1. – P. 131–138.
- Janovic N. et al. Melatonin prevents methotrexate-induced hepatorenal oxidative injury in rats // J. Pineal Res. – 2003. – Vol. 34. – P. 282–287.
- Jaworek J. et al. Melatonin and its precursor; L-tryptophan: influence on pancreatic amylase secretion in vivo and in vitro // J. Pineal Res. – 2004. – Vol. 36. – P. 156–164.
- Browning J. D., Horton J. D. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury // J. Clin. Invest. – 2004. – Vol. 114, № 2. – P. 147–152.
- Kuhlwein E., Irvin M. Melatonin modulation of lymphocyte proliferation and Th1/Th2 cell cytokine expression // J. Neuroimmunol. – 2001. – Vol. 117. – P. 51–57.
- Liang F.O. et al. Melatonin protects human retinal pigmental epithelial (RPE) cells against oxidative stress // Exp. Eye. Res. – 2004. – Vol. 78. – P. 1069–1075.
- Malinovskaya N.K. et al. Gastrointestinal melatonin: cellular identification and biological role // Neur. Endocrinol. Lett. – 2002. – Vol. 23, № 2. – P. 121–132.
- Messner M. et al. Presence of melatonin in the human hepatobiliary –gastrointestinal tract // Life Sci. – 2001. – Vol. 69, № 5. – P. 543–551.
- Moreira A.L., Abreu P. Existence of melatonin in human platelets // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 4. – P. 432–433.
- Muc-Wierzgon M. et al. Circadian fluctuations of melatonin, tumor necrosis factor-alpha and its soluble receptors in the circulation of patients with advanced gastrointestinal cancer // J. Exp. Clin. Cancer Res. – 2003. – Vol. 22, № 2. – P. 171–178.
- Ohta Y. et al. Successively postadministered melatonin prevents disruption of hepatic antioxidant status in rats with bile duct ligation // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 4. – P. 367–374.
- Pan M. et al. Lipid peroxidation and oxidant stress regulate hepatic apolipoprotein B degradation and VLDL production // J. Clin. Invest. – 2004. – Vol. 113. – P. 1277–1287.
- Reiter R.J., Tan D.X., Maldonado M.D. Melatonin as an antioxidant: physiology versus pharmacology // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 2. – P. 215–216.
- Rodrigues M.R. et al. Interferon-gamma independent oxidation of melatonin by macrophages // J. Pineal Res. – 2003. – Vol. 34, № 1. – P. 69–74.
- Secreto G. et al. Soy isoflavones and melatonin for the relief of climacteric symptoms: a multicenter, double-blind, randomized study // Maturitas. – 2004. – Vol. 20–47(1). – P. 11–20.
- Song G.H., Gwee K.A., Moochhala S.M., Ho K.Y. Melatonin attenuates stress-induced defecation: lesson from a rat model of stress-induced gut dysfunction // Neurogastroenterology and Motility. – 2005. – Vol. 17, № 5. – P. 744.
- Takagi K.Y., Kayuya Y., Watanabe K. Studies on drugs for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcer in rats // Chem. Pharm. Bull. – 1964. – Vol. 12. – P. 465–472.
- Taysi S. et al. Effect of melatonin on lipid peroxidation, glutathione and glutathione-dependent enzyme activities in experimental otitis media with effusion in guinea pigs // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 3. – P. 283–286.
- Tomas-Zapico C., Coto-Montes A. A proposed mechanism to explain the stimulatory effect of melatonin on antioxidative enzymes // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 2. – P. 99–104.
- Trubiani O. et al. Melatonin provokes cell death in human B-lymphoma cells by mitochondrial-dependent apoptotic pathway activation // J. Pineal Res. – 2005. – Vol. 39, № 4. – P. 425–431.

**Козлов В.О., Шаторна В.Ф., Савенкова О.О., Козлов С.В., Козловська Г.О.
ФОРМОУТВОРЕННЯ СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ СЕРЦЯ В НОРМІ ТА ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ВАД
РОЗВИТКУ**

Дніпропетровська державна медична академія

ФОРМОУТВОРЕННЯ СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ СЕРЦЯ В НОРМІ ТА ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ВАД РОЗВИТКУ – Метою дослідження було встановлення механізмів, етапів розвитку серця в нормі і формування вад розвитку під дією гіпоксії. Матеріалом дослідження послужили серця ембріонів і плодів людини в кількості 23 і курячі ембріони (30 шт.), які зазнали впливу гіпоксії під час інкубації. Встановили основні етапи і механізми розвитку структурних компонентів серця людини в нормі і формування вад розвитку під дією гіпоксії в експерименті на курячих ембріонах. Виявили, що основні формуючі процеси в ембріональному серці відбуваються за участю ендокардіальних подушок атриовентрикулярного каналу і делямінації міокарда шлуночків. Під впливом гіпоксії спостерігалися порушення у формуванні серцевої стінки ембріонів. Аномальний розвиток трабекул міокарда частіше спостерігався в середній третині шлуночків і майже зовсім не зустрічався в ділянці верхівки серця. В середній третині шлуночків серця ми спостерігали в окремих випадках “двошаровий міокард”, що свідчить про порушення механізмів утворення серцевої стінки під впливом гіпоксії. В стінці передсердя формуються аномальні трабекули з тонкою основою і масивними потовщеннями на кінцях, які містять численні судини, що в нормі на даному етапі розвитку не зустрічається.

ФОРМОБРАЗОВАНИЕ СТРУКТУРНЫХ КОМПОНЕНТОВ СЕРДЦА В НОРМЕ И ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПОРОКОВ РАЗВИТИЯ – Целью исследования было установление механизмов, этапов развития сердца в норме и формирование пороков развития под действием гипоксии. Материалом исследования послужили сердца эмбрионов и плодов человека в количестве 23 и куриные эмбрионы (30 шт.), которые подвергались влиянию гипоксии во время инкубации. Установили основные этапы и механизмы развития структурных компонентов сердца человека в норме и формирование недостатков развития под действием гипоксии в эксперименте на куриных эмбрионах. Выявили, что основные формообразовательные процессы в эмбриональном сердце происходят при участии эндокардиальных подушек атриовентрикулярного канала и деляминации миокарда желудочков. Под влиянием гипоксии наблюдались нарушения в формировании сердечной стенки эмбрионов. Аномальное развитие трабекул миокарда чаще наблюдалось в средней трети желудочков и почти совсем не встречалось в области верхушки сердца. В средней трети желудочков сердца нами наблюдался в отдельных случаях “двухслойный миокард”, что свидетельствует о нарушении механизмов образования сердечной стенки под влиянием гипоксии. В стенке предсердия формируются аномальные трабекулы с тонким основанием и массивными утолщениями на концах, которые содержат многочисленные сосуды, что в норме на данном этапе развития не встречается.

FORMATION OF STRUCTURAL COMPONENTS IN THE NORMAL HEART AND DURING ANOMAL DEVELOPMENT MODELLING – The purpose of the current study was to determine mechanisms, stages of development of normal heart and under hypoxia effect. The 23 hearts of human embryos and fetuses and 30 chicken embryos after hypoxia action during incubation were used. The basic stages and mechanisms of development of normal human heart and abnormal chick heart after hypoxia were determined. It was revealed that the basic formation processes in an embryonic heart took place with the participation of endocardial cushions of atrioventricular channel and delamination of ventricular myocardium. The abnormal formation of the heart wall after hypoxia was observed. The abnormal development of trabeculae was observed in middle third of ventricles more frequently and could almost not be found in the apex of heart. In some cases the heart wall consisting of two layers in middle third of ventricles was observed, suggesting about the altered mechanisms of formation of cardiac wall under hypoxia. The anomalous trabeculae with thin base and massive bulges on the ends with numerous vessels were formed in the wall of auricles that has never been found during normal development.

Ключові слова: ембріогенез, серце, міокард, клапани серця.

Ключевые слова: эмбриогенез, сердце, миокард, клапаны сердца.

Key words: embryogenesis, heart, myocardium, valves of heart.

Актуальність Бажання зрозуміти механізм формування уроджених пороків і аномалій серця і судинної системи обумовлює подальший інтерес до проблеми ембріонального розвитку серця. Ранні дослідження, що стосуються серця ембріона, забезпечили основу для розуміння закономірностей розвитку серця, однак процес утворення вад розвитку тих чи інших структур серцево-судинної системи зали-

шається невисвітленим. Основні гіпотези, що стосуються пороків і аномалій формування серця, великих судин ґрунтуються на концепції затримки філогенетичного розвитку. Останнім часом використання нових методів істотно розширило знання і дозволило досліджувати функцію серця, внутрішньосерцевий кровообіг, формування позаклітинного матриксу, клітинну проліферацію, клітинну смерть, міграцію клітин при нормальному й аномальному розвитку серця [1, 2, 3]. В цьому аспекті набувають значення медична ембріологія і порівняльна ембріологія та їх методи дослідження. Результати порівняльно-анатомічних та порівняльно-ембріологічних досліджень мають теоретичне (вияв шляхів та механізмів еволюції) та практичне (вибір експериментальних варіант для вірної інтерпретації даних та їх екстраполяції на організм людини) значення. Розробка методів експериментальних моделей уроджених вад серця та магістральних судин привертає увагу дослідників [4, 5, 6].

Метою дослідження було встановлення механізмів, етапів розвитку серця в нормі та формування вад розвитку під дією гіпоксії. Матеріалом дослідження послужили серця ембріонів і плодів людини в кількості 23 та курячі ембріони (30 шт.), які зазнавали впливу гіпоксії під час інкубації. Використовувалися такі морфологічні методики як препарування, виготовлення серійних гистологічних зрізів, інкубація, вплив гіпоксії під час інкубації та морфометрія.

Результати дослідження Під час петлеутворення серце складається тільки з трьох шарів: міокарда, кардіогелю, ендокарда. Після завершення петлеутворення, на той час, коли ембріон має довжину 5-6 мм, зовнішня форма серця нагадує форму зрілого серця. Внутрішня структура серця – залишається простою трубкою з декількома розширеннями. Загальне передсердя, як і раніше, з'єднується з впускним сегментом (примітивним шлуночком) через нерозділений атриовентрикулярний канал. Процес поділу серця перегородками відбувається завдяки декільком механізмам, при цьому завершення формування різних структур здійснюється в різний час. Цілоком цей процес завершується між 26 і 37 днем ембріонального розвитку. Перед поділом серця кров проходить через єдиний отвір з передсердя у впускний сегмент і через первинний отвір у випускний сегмент. Поділ перегородкою атриовентрикулярного каналу починається з появи злиття безкліткових мас ендокардіальних подушок на верхній і нижній межі атриовентрикулярного отвору в ембріона довжиною приблизно 6 мм (ТКД). Ці ендокардіальні подушки збільшуються, стають вираженими структурами. На цій стадії вони функціонують як провізорні клапани.

Природа ендокардіальних подушок і механізм їхнього формування – предмет численних досліджень і припущень. Кардіогель дивно рівномірно розподіляється в стінці серцевої трубки на ранніх стадіях, але пізніше редукується в області передсердя та шлуночку і зберігається лише в атриовентрикулярному каналі. Коли подушки сформовані, вони відносно малоклітинні, але ендокардіальні клітини починають мігрувати в подушки і відбувається епітеліально-мезенхімна трансформація. Атриовентрикулярний отвір збільшується, подушки розширюються і сягають одна одної. В ембріонів при тім'яно-куприковій довжині 10-11 мм подушки зливаються, розділяючи атриовентрикулярний канал на правий і лівий отвори. Наші дослідження показали, що ендокардіальні подушки атриовентрикулярного каналу відіграють значну роль у формуванні листків передсердно-шлуночкових клапанів, а міокард шлуночків бере участь у формуванні апарата, що напружує. Одночасно з поділом

каналу завершується формування первинної перегородки в передсердях. Об'єм ендокардіальних подушок на цей час майже повністю побудований мезенхімними клітинами внаслідок епітеліально-мезенхімних перетворень, що відбуваються в ендокарді.

Формування клапана починається розшаруванням (делямінацією) верхньої частини міокарда шлуночків. Обсяг подушок на цей період продовжує збільшуватися в лівій половині серця від 11% від обсягу серця на ранніх стадіях до 22% на більш пізніх стадіях. Розшарування продовжується разом з посиленням процесів трабекуляції і завершується відокремленням подушки разом з підлеглим шаром міокарда. Делямінація шлуночка призводить до розшарування верхньої частини стінки на два неоднакові товщини шари. Внутрішній шар міокарда тонкий і несе на собі залишки ендокардіальної подушки, а зовнішній шар, який утворює саму стінку шлуночка, зостається набагато товщим. Делямінація стінки шлуночка не поглиблюється донизу, а залишається у вигляді щілини верхньої частини стінки. Порожнина у міокарді, що утворюється внаслідок делямінації, вкрита шаром ендотелію, який зостається від ендотеліального шару первинних трабекул шлуночка.

Закладка та формування колагенових волокон відбувається одночасно у стулці клапана, у соскоподібному м'язі та передсердношлуночкової борозні і міокарді. Тобто, колагенові волокна формуються єдиним пластом, який з'єднує міокард, стулку клапана та соскоподібний м'яз. Самі стулки клапана мають складчасту форму, бо мають надмірний розмір, тому на фотографіях зрізів серця ми бачимо лише частину цих складок. Речовина стулок на даній стадії розвитку – це мезенхімні клітини, що мають класичну зірчасту форму, серед яких з'являються перші колагенові волокна (прошарки синього кольору). Таким чином, шар колагенових волокон з самого початку процесу делямінації поєднує речовину стінки шлуночка, клапана та майбутнього соскоподібного м'яза у єдине ціле, всупереч уявленню про з'єднання виступу передсердношлуночкової борозни та виступу міокарда шлуночка назустріч одне одному. Ця гіпотеза не здається вірогідною, тому що зустріч цих закладок (виступів) ускладнена скороченнями серця ембріона.

З самого початку свого існування усі елементи майбутнього клапанного апарату є єдиною структурою, яка на цей час вже існує як провізорний клапан. При цьому склад залишків ендокардіальних подушок являє собою скупчення мезенхімних клітин, вкритих шаром ендотелію і розташованих на тонкій пластинці компактного міокарда. Первинна сухожилкова струна складається з компактного міокарда та тонкого прошарку мезенхімних клітин. Первинний соскоподібний м'яз – це «підірваний» шар міокарда шлуночка, що не втратив з ним зв'язку.

Гістологічні дослідження на людині з 3-го тижня гестації до 10 років життя установили вікові зміни в напівмісячних клапанах. На стадії 15 випускний канал, що має форму букви Н, формується чотирма ендокардіальними подушками. На стадії 16 (ТКД 9 мм) аортальний і легеневої випускний тракти чітко відокремлюються один від одного, і на стадії 17 останній за течією крові кінець ендокардіальних подушок набуває клапаноподібного вигляду. Кожна з великих подушок розділяється і дає початок двом листкам кожного клапана, уставне клапанне узвишся дає початок третьому листку.

Виділяючи основні етапи у формуванні серцевих камер, перегородок та клапанів як критичні періоди розвитку серця ми спробували в такі ж моменти розвитку курячого зародка провести вплив гіпоксії та провести моделювання вад розвитку серця. Досліджуючи вплив такого тератогенного чинника як гіпоксія, ми спостерігали невластиву для нормального кардіогенезу картину нещільного прилягання епікарда до міокарда шлуночка. Це свідчить про затримку формування серцевої стінки. В наших дослідженнях

епікард шлуночків ембріонального серця птахів після впливу гіпоксії розташовувався досить пухко по відношенню до міокарда, чого не спостерігається в нормі. Міокард шлуночків під впливом гіпоксії утворював «містки» між окремими трабекулами, що також було аномальним явищем (рис. 1). Це порушення формування стінки шлуночка пов'язане зі зсувом процесу делямінації стінки шлуночка на ранніх етапах розвитку. Порушення формування делямінаційної пластинки призводить до порушення утворення клапанів передсердно-шлуночкових отворів та трабекул внутрішнього шару шлуночків. Трабекули вкриті шаром ендотелію, який повністю зберігається і на поверхні «містків», але вкриває їх досить пухко, на відміну від самих трабекул.

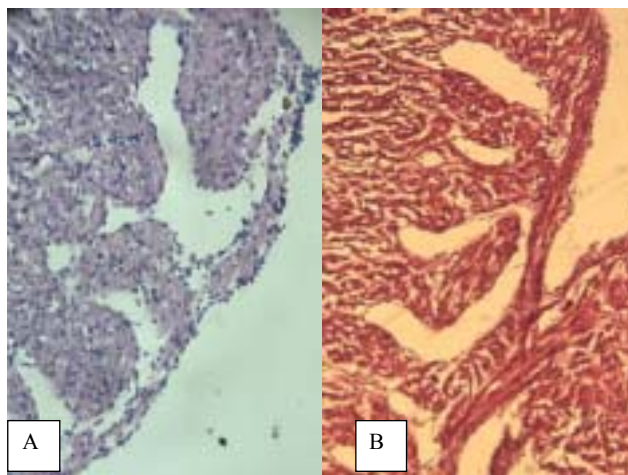


Рис. 1. Утворення «містків» між трабекулами міокарда шлуночків серця під впливом гіпоксії у ембріона курчати 9 днів (А) та 12 днів (В) інкубації. Фарбування гематоксилін-еозином, збільшення: об. х 20, ок. х 40 (А), об. х 20, ок. х 20 (В).

У міокарді шлуночків і передсердь нами виявлено більш високий ступінь васкуляризації, порівняно з нормою. Очевидно, гіпоксія провокує активне проростання судин у межах компактного міокарда. Описаний період ембріогенезу в нормі характеризується формуванням протокапілярів шляхом каналізації міжклітинних просторів за рахунок агрегації веретеноподібних мезенхімних клітин. Але в серці ембріона, підданого впливу гіпоксії, істотно підвищувалася кількість функціонуючих розгалужених судин. У трабекулярному шарі проростання судин нами помічено не було в міокарді в обох групах, тому що живлення цих елементів серцевої стінки здійснюється з порожнини серця. Привертає увагу також те, що збільшується периваскулярний простір, а також збільшені інтерстиціальні проміжки між пучками кардіоміоцитів.

В описаний період кардіогенезу в стінці передсердь формуються аномальні трабекули з тонкою основою й масивними стовщеннями на кінцях. При великому збільшенні видно, що вони містять численні судини з елементами крові. Епікард передсердь місцями багаточаровий, пухко впакований. Такі зміни в серцевій стінці не можуть не викликати порушень у механізмі скорочення серцевої стінки.

ВИСНОВКИ В результаті дослідження ранніх етапів розвитку серця виявили, що утворення клапанного апарату серця та його внутрішнього рельєфу відбувається завдяки розвитку ендокардіальних подушок атріовентрикулярного каналу та делямінації міокарда шлуночків. Спочатку свого утворення обсяг подушок заповнений кардіогелем, який на більш пізніх стадіях заміщується мезенхімними клітинами. Самі подушки відіграють роль

провізорного клапана. Утворення клапанів відбувається завдяки процесу делямінації міокарда стінки шлуночків. На курячих ембріонах встановили основні етапи і механізми розвитку серцевої стінки в нормі та формування вад розвитку під дією гіпоксії. Під впливом гіпоксії спостерігали порушення у формуванні серцевої стінки ембріонів. Аномальний розвиток трабекул міокарда частіше спостерігався в середній третині шлуночків і майже зовсім не зустрічався в області верхівки серця. В середній третині шлуночків серця ми спостерігали в окремих випадках «двошаровий міокард», що явно свідчить про порушення механізмів утворення серцевої стінки під впливом гіпертермії. В стінці передсердь формуються аномальні трабекули з тонкою основою й масивними стовщеннями на кінцях, які містять численні судини (в нормі на даному етапі розвитку ми не зустрічали судин в стінці передсердь). В перспективі подальших досліджень цікавими виглядають моделювання пороків клапанного апарату та крупних судин серця.

ЛІТЕРАТУРА

1. Горелова Н.І., Сілкина Ю.В. Гістогенетичні процеси в ранньому кардіогенезі людини // Вісник проблем біології і медицини. – 2004. – №4. – С. 78-84.
2. Козлов В.А., Шаторная В.Ф., Довгаль Г.В., Крамар С.Б., Абдул-Оглы Л.В., Зозуля Е.С. Закладка папиллярных мышц и сухожильных нитей сердца в раннем эмбриогенезе // Матеріали першої всеукраїнської науково-практичної конференції «Україна наукова 2001». – Дніпропетровськ, 2001. – С. 17-18.
3. Экспериментальное моделирование врожденных пороков сердца и магистральных сосудов/ Под ред. Г.С.Кирьякулова.- Київ: «Вища школа»- 1994.- 158 с.
4. Anderson R.H., Wenink A.C. Thoughts on concepts of development of the heart in relation to the morphology of congenital malformation // *Experientia*. – 1988. – № 11. – P. 951-960.
5. Development of the papillary muscles of the mitral valve: morphogenetic background of parachute-like asymmetric mitral valves and other mitral valve anomalies / P.W. Oosthoek, A.C. Wenink, L.J. Wisse, A.C. Gittenberger-de Groot // *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery*. – 1998. – Vol. 116, № 1. – P. 36-46.
6. Khloponin P.A. Fluorescence and electron-microscopic analysis of differentiation of the myocytes of the ventricles and atria of the avian heart in ontogenesis // *Pflugers Arch*. – 1976. – Vol. 365, № 2-3. – P. 159-166.

Постолок І.Г.

СТАН РЕЦЕПТОРНОГО АПАРАТУ ДО СТЕРЕОЇДНИХ ГОРМОНІВ В МІОЕПІТЕЛІАЛЬНИХ ПУХЛИНАХ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К. Гусака АМН України, м. Донецьк

СТАН РЕЦЕПТОРНОГО АПАРАТУ ДО СТЕРЕОЇДНИХ ГОРМОНІВ В МІОЕПІТЕЛІАЛЬНИХ ПУХЛИНАХ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ – Робота базується на імуногістохімічному типуванні тканини інвазивних форм раку молочної залози 25 пацієнтів. Використовували мишачі моноклональні антитіла (МАТ) до панцитокератинів (клон АЕ1/АЕ3, DАКО), епітеліального мембранного антигену ЕМА (клон Е29, DАКО), виментину (клон Vim 3V4, DАКО), гладком'язового актину SMA (клон 1A4, DАКО), CD10 (клон 56C6, Novocastra), p63 (клон 4A4, DАКО) і поліклональні антитіла до протеїну S-100 (DАКО). Показано, що імуногістохімічне типування тканини пухлинного вузла дозволяє надійно діагностувати міоепітеліальний компонент пухлини, адекватно визначити ступінь її злоякісності і сприяє розкриттю біологічної сутності раку молочної залози. Імуногістохімічно міоепітеліальні карциноми характеризуються вираженою реактивністю витягнутих клітин для гладком'язового актину (SMA), CD10, p63 та цитокератину (АЕ1/АЕ3), помірною реактивністю до протеїну S-100 і дифузною реактивністю до виментину. Відмітною морфологічною характеристикою міоепітеліальних карцином є відсутність в рецепторах міоепітеліоцитів експресії стероїдних (ER- і PR-) гормонів.

СОСТОЯНИЕ РЕЦЕПТОРНОГО АППАРАТА К СТЕРЕОИДНЫМ ГОРМОНАМ В МИОЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ – Работа базируется на иммуногистохимическом типировании ткани инвазивных форм рака молочной железы 25 пациентов. Использовали мышинные моноклональные антитела (МАТ) к панцитокератинам (клон АЕ1/АЕ3, DАКО), эпителиальному мембранному антигену ЭМА (клон Е29, DАКО), виментину (клон Vim 3V4, DАКО), гладкомышечному актину SMA (клон 1A4, DАКО), CD10 (клон 56C6, Novocastra), p63 (клон 4A4, DАКО) и поликлональные антитела к протеину S-100 (DАКО). Показано, что иммуногистохимическое типирование ткани опухолевого узла позволяет надежно диагностировать миоепителиальный компонент опухоли, адекватно определить степень ее злокачественности и способствует раскрытию биологической сущности рака молочной железы. Иммуногистохимически миоепителиальные карциномы характеризуются выраженной реактивностью витянутых клеток для гладкомышечного актина (SMA), CD10, p63 и цитокератина (АЕ1/АЕ3), умеренной реактивностью к протеину S-100 и диффузной реактивностью к виментину. Отличительной морфологической характеристикой миоепителиальных карцином является отсутствие в рецепторах миоепителиоцитов экспрессии стероидных (ER- и PR-) гормонов.

CONDITION OF RECEPTOR APPARATUS TO STEROID HORMONES IN MYOEPITHELIAL CARCINOMAS OF BREAST – The work is based on immunohistochemical research of tissue of invasive breast tumors of 25 women. Mice immunohistochemical monoclonal antibodies (MAB) to pan-cytokeratins (clone АЕ1/АЕ3, DАКО), epithelial membrane antigene EMA (clone Е29, DАКО), vimentin (clone Vim 3V4, DАКО), smooth muscular actin SMA (clone 1A4,

DAKO), CD10 (clone 56C6, Novocastra), p63 (clone 4A4, DАКО) and polyclonal antibodies to protein S-100 (DАКО) were used. It was shown, that immunohistochemical research of tissue of the tumour allows to diagnose reliably myoepithelial component of tumour, to determine adequately a degree of its malignancy and promotes disclosure of biological essence of breast cancer. Immunohistochemistry of myoepithelial carcinomas is characterized by expressed response of cells for smooth muscular actin SMA, CD10, p63 and cytokeratin (АЕ1/АЕ3), moderate response to protein S-100 and diffuse response to vimentin. Distinctive morphological feature of myoepithelial carcinomas is the lack of myoepithelial cells of steroid expression in receptors (ER- and PR-) hormones.

Ключові слова: міоепітеліальні карциноми, рак молочної залози, імуногістохімія.

Ключевые слова: миоепителиальные карциномы, рак молочной железы, иммуногистохимия.

Key words: myoepithelial carcinomas, breast cancer, immunohistochemistry.

ВСТУП В останні роки в клінічній онкології активно вивчаються різноманітні молекулярно-біологічні чинники – маркери клітинного та іншого походження, які підпадають під зміни при виникненні і прогресії неоплазії [2]. Дослідження цих чинників дозволяє прогнозувати відповідь на хімотерапію та ендокринотерапію, перебіг хвороби і віддалені результати лікування. До них відносяться чинники, відповідальні за пухлинне диференціювання (HER-2/neu, p53 тощо), показники проліферативної активності (PCNA, Ki-67), апоптозу (Bcl-2), ангиогенезу (VEGF), а також експресію клітинами пухлинного вузла рецепторів до стероїдних гормонів – естрогенів і прогестерону.

На сьогодні гормонотерапія, поряд з хірургічним, променевим, хіміотерапевтичним та іншими відомими методами лікування раку молочної залози, є одним із ключових моментів у досягненні максимального ефекту комплексної терапії. Досить добре вивчені механізми дії гормональних препаратів. Виділено чинники прогнозу гормоночутливості, найважливішими з яких є вік хворої, її менструальний статус і рівень рецепторів стероїдних гормонів у клітинах пухлини [7]. Доведено, що висока кількість рецепторів естро-

генів (ER) і прогестерону (PR) є сприятливим прогностичним чинником перебігу раку молочної залози. У хворих з високою їх кількістю антиестрогенна терапія дозволяє вірогідно збільшити показники безрецидивного та загального виживання [1].

Доведено, що пухлини молочної залози, позитивні як за ER, так і за PR, як правило, реагують на ендокринну терапію краще, ніж пухлини, негативні за PR або за обидвома видами рецепторів. Визначення рецепторів стероїдних гормонів значною мірою полегшує підбір хворих для подальшої гормонотерапії. Прогностична значущість цього параметра зберігається незалежно від виду гормонотерапії. На сьогодні ER і PR є найважливішими параметрами, які характеризують гормоночутливість клітин раку молочної залози. За різними даними літератури, загальний відсоток позитивних пухлин молочної залози за обидвома видами рецепторів варіює від 49,8 до 82,3% [6]. Вивчення рецепторного статусу пухлини має першорядне значення в індивідуалізації програми адекватної гормонотерапії і формуванні прогностичних чинників перебігу пухлинного процесу [3].

В нечисленних роботах, присвячених даній проблемі в пухлинах молочної залози з міоепітеліальним диференціюванням, наводяться дані, які вказують на несприятливий перебіг і прогноз даних неоплазій [5]. При імуногістохімічному вивченні випадку раку молочної залози з міоепітеліальним компонентом встановлено, що клітини пухлинного вузла не експресували рецептори до естрогенів і прогестерону, а тому застосування гормонотерапії при даній неоплазії малоефективне і прогноз несприятливий [4].

Мета дослідження – установити стан рецепторного апарату до стероїдних гормонів у злоякісних новоутвореннях молочної залози з міоепітеліальним диференціюванням для визначення прогнозу і доцільності проведення гормонотерапії у даного контингенту хворих.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Матеріалом морфологічного дослідження послужив біопсійний матеріал інвазивних форм раку молочної залози з різним ступенем виразності міоепітеліального диференціювання 25 пацієнтів, які поступили на лікування в Донецький обласний протипухлинний центр. Біопсійний матеріал досліджували за допомогою рутинного методу забарвлення гематоксиліном та еозином. Для подальшого імуногістохімічного дослідження було відібрано 15 випадків з достатньою кількістю матеріалу у блоках. Біопсійний матеріал фіксували в нейтральному забуференому формаліні (рН 7,4) протягом 24 годин. Після дегідратації шматочки заливали у високоочищений парафін з полімерними добавками (Richard-Allan Scientific, США) при температурі не вище 60°C. Зрізи товщиною 5 мкм виконували на ротаційному мікромомі Microm HM325 з системою переносу зрізів STS (Carl Zeiss, Німеччина). Зрізи поміщували на покриті адгезивом скло Super Frost Plus (Menzel, Німеччина). Для «демаскування» антигенів регідратовані зрізи піддавали термічній обробці в розчині Target Retrieval Solution (DAKO, Данія) з використанням водяної випарної бані GFL1023. Після блокування неспецифічного зв'язування білків протеїновим блоком (DAKO) і ендогенної пероксидазної активності пероксидазним блоком (DAKO) наносили первинні антитіла. Використовували мишачі моноклональні антитіла (MAT) до панцитокератинів (клон AE1/AE3, DAKO), віментину (клон Vim 3V4, DAKO), гладком'язового актину SMA (клон 1A4, DAKO), p63 (клон 4A4, DAKO) і поліклональні антитіла до протеїну S-100 (DAKO), а також MAT до рецепторів естрогенів (клон 1D5, DAKO) та прогестерону (клон 1A6, DAKO). Візуалізацію первинних антитіл проводили за допомогою полімерної системи детекції DAKO EnVision+. У ролі субстрату для пероксидази хрому використовували DAB+ (DAKO). Препарати дозабарвлювали гематоксиліном Майєра. Далі забарвлені зрізи заключали в напівсинтетичне середовище Permanent Mounting Medium (DAKO).

Дослідження препаратів в прохідному світлі проводили на дослідницькому мікроскопі Olympus AX70 (Японія) з використанням програми AnalySIS Pro 3.2 (фірма SoftImaging, Німеччина) згідно із рекомендаціями виробника програмного забезпечення.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Пухлини з міоепітеліальним диференціюванням (25 випадків) гістологічно на всьому протязі або на обмежених ділянках були представлені гіперклітинними зонами різної протяжності з витягнутих клітин зі світлою цитоплазмою з помірним ядерним і клітинним поліморфізмом, а також розрізненими клітинами, розташованими серед фіброзованої стромы, веретеноподібної форми з високим ядерно-цитоплазматичним співвідношенням, неправильними ядрами і вираженими ядерцями. Мало місце помірне число фігур мітозу (3-5 на 10 полів зору при збільшенні x600). В інших ділянках мали місце залозистоподібні або папілярні структури, в яких окрім проліферації міоепітеліального компонента, спостерігалася проліферація протокового секретуючого епітелію.

Оскільки рецептори естрогенів (ER) і прогестерону (PR) виключно ядерні антигени, при оцінці імуноферментного забарвлення враховували тільки кольорові реакції (від жовтого до темно-коричневого забарвлення), розташовані в проекції ядер міоепітеліальних клітин пухлини. Неспецифічне зв'язування, яке виявлялося в стромі пухлини, зрідка в лімфоїдних клітинах, а також у цитоплазмі ракових клітин, не враховували. Облік позитивних реакцій проводили за кількістю відредагованих клітин (виражали у відсотках до загальної кількості злоякісно трансформованих клітин на площі гістологічного препарату), і за інтенсивністю їх імунозабарвлення. Досліджувану пухлину вважали негативною як за естрогеновими, так і за прогестероновими рецепторами при виявленні специфічного забарвлення менш ніж у 10 % позитивних клітин. Всі інші варіанти розглядалися як рецепторопозитивні. Імуногістохімічно була виражена реактивність витягнутих клітин для гладком'язового актину (SMA) і цитокератину (AE1/AE3), що визначало міоепітеліальну лінію клітин пухлини. Була також помірна реактивність для протеїну S-100 і дифузна реактивність для віментину. Якщо клітини пухлини були імунопозитивні при використанні міоепітеліальних маркерів, таких як віментин, гладком'язовий актин (SMA), протеїн S-100, CD10 та p63, у цих випадках такі клітини розцінювалися як міоепітеліальні.

Експресія рецепторів до стероїдних гормонів була проведена в 15 випадках інвазивних форм раку молочної залози з різним ступенем виразності міоепітеліального диференціювання. Дослідження було виконане на серійних зрізах і результати забарвлення оцінювалися виключно в міоепітеліальному компоненті пухлин. У більшості випадків (13 випадків) нами виявлена відсутність рецепторів до естрогенів і прогестерону (ER-PR-) в міоепітеліальному компоненті пухлин. Жодна з чисто міоепітеліальних карцином не експресувала рецептори до стероїдних гормонів. Експресія рецепторів естрогенів і прогестерону (ER+PR+) в міоепітеліальному компоненті інвазивної карциноми діагностована лише в одному випадку, ще в одному ми виявили експресію рецепторів естрогенів при відсутності рецепторів прогестерону (ER+PR-). Відсутність рецепторів статевих гормонів (ER-PR-) у клітинах пухлин молочної залози є одним з основних несприятливих прогностичних чинників у пацієнток будь-якої вікової групи внаслідок неможливості одержання відповіді на гормонотерапію. Лише рецептор-позитивний статус пухлин молочної залози надає адекватну відповідь на застосувану системну гормонотерапію, що свідчить про сприятливіший прогноз перебігу захворювання. При цьому інтенсивність забарвлення імунокомпетентних клітин у пухлинах молочної залози прямо пропорційна очікуваній відповіді на гормонотерапію.

При відсутності рецепторів стероїдних гормонів у клітинах раку молочної залози (ER-PR-) ендокринна терапія ефективна лише в 6-11 % випадків, а трирічне виживання у цій групі пацієнток складає 51,4 % (42,3 % < D < 60,3 %) [1]. Механізм втрати або зниження експресії ER в міоепітеліальних клітинах невідомий, але, на наш погляд, може бути результатом декількох причин. По-перше, ці клітини можуть бути в стані активної проліферації. Попередні імуногістохімічні дослідження тканини молочної залози показали, що ні один з епітеліоцитів з експресією ER та експресією PR не проліферував, і ні одна з проліферуючих клітин не показала експресію або ER, або PR [5]. По-друге, ER ген в цих клітинах міг би бути інактивованим метилюванням в процесі прогресії пухлини. Також попередні дослідження показали, що прогресія пухлин грудей йде паралельно до прогресії гормональної незалежності [4, 6, 7]. По-третє, ці клітини могли б експресувати різні типи ER, включаючи варіанти β -ER. Недавнє дослідження показало, що α -ER і β -ER окремо локалізовані в субпопуляціях пухлин молочної залози і, як вважається, мають різні функції. І зрештою, ці пухлини могли виникнути з вихідної клітини шляхом клональної швидкої проліферації і не є достатньо зрілими, щоб експресувати ER білок. Дослідження продемонстрували, що стан експресії ER пов'язаний з віком або станом диференційованих клітин [2, 3].

Застосування імуногістохімічних методів дослідження тканини пухлинного вузла, накопичення та інтеграція даних щодо імунодетекції різноманітних компонентів, які складають пухлинний вузол, зокрема виявлення міоепітеліального диференціювання у тканинах, що складають новоутворення, дозволяє не тільки адекватніше визначити ступінь його злякисності і прогноз життя пацієнток, але й повніше розкрити біологічну сутність і морфогенез раку молочної залози.

ВИСНОВКИ 1. Імуногістохімічно міоепітеліальні карциноми характеризуються вираженою реактивністю витягнутих клітин для гладком'язового актину (SMA), CD10, p63 та цитокератину (AE1/AE3), помірною реактивністю до протеїну S-100 і дифузною реактивністю до віментину. 2. Значною морфологічною характеристикою міоепітеліальних карцином є відсутність в рецепторах міоепітеліоцитів експресії стероїдних (ER- и PR-) гормонів. 3. Низькодиференційовані злякисні новоутворення з міоепітеліальним (саркоматозним) диференціюванням демонструють агресивнішу біологічну поведінку, ніж пухлини аденоматозної будови молочної залози. 4. Застосування гормонотерапії при міоепітеліальних карциномах малоєфективне і прогноз несприятливий.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бондар Г.В., Сєдаков І.Є., Шлопов В.Г. Первинно-неоперабельний рак молочної залози. – Донецьк: Каштан, 2005. – 346 с.
2. Chen C.M., Martin L.A., Johnston S.R., Ali S., Dowsett M. Molecular changes associated with the acquisition of oestrogen hypersensitivity in MCF-7 breast cancer cells on long-term oestrogen deprivation // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2002. – Vol. 81. – P. 333-341.
3. Clarke R., Brunner N., Katzenellenbogen B.S. Progression of human breast cancer cells from hormone-dependent to hormone-independent growth both in vitro and in vivo // Proc. Natl. Acad. Sci USA. – 1989. – Vol. 86. – P. 3649-3653.
4. Murphy L.C. Mechanism of hormone independence in human breast cancer // In Vivo. – 1998. – Vol. 2. – P. 95-106.
5. Russo J., Ao X., Grill C., Russo I.H. Pattern of distribution of cells positive for estrogen receptor alpha and progesterone receptor in relation to proliferating cells in the mammary gland // Breast Cancer Res. Treat. – 1999. – Vol. 53. – P. 217-227.
6. Schmitt F.C. Multistep progression from an oestrogen-dependent growth towards an autonomous growth in breast carcinogenesis // Eur. J. Cancer. – 1995. – Vol. 31A. – P. 2049-2052.
7. Sheikh M.S., Garcia M., Pujol P., Fontana J.A., Rochefort H. Why are estrogen receptor negative breast cancers more aggressive than the estrogen receptor positive breast cancers? // Invasion Metastasis. – 1994-95. – Vol. 14. – P. 329-336.

**Климчук Л.Ф., Кузів О.Є., Левандовська К.В.
ВПЛИВ ЕНДОТОКСЕМІЇ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НЕЙТРОФІЛЬНИХ
ГРАНУЛОЦИТІВ КРОВІ ОПІКОВИХ ХВОРИХ**

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

ВПЛИВ ЕНДОТОКСЕМІЇ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НЕЙТРОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТІВ КРОВІ ОПІКОВИХ ХВОРИХ – Вивчено ультраструктуру нейтрофільних гранулоцитів крові донорів і хворих з опіковою травмою середнього і важкого ступенів. Встановлено прямий кореляційний зв'язок між рівнем ендотоксемії та зміною мембранної активності нейтрофільних гранулоцитів крові опікових хворих. У відповідності до наростання ендотоксемії збільшується кількість клітин з помірно вираженою активністю та гіперактивністю мембран за рахунок різкого зменшення клітин без морфологічних ознак активності їх цитолем.

ВЛИЯНИЕ ЭНДОТОКСЕМИИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ ОЖОГОВЫХ БОЛЬНЫХ – Изучена ультраструктура нейтрофильных гранулоцитов крови доноров и больных с ожоговой травмой средней и тяжелой степеней. Установлена прямая корреляционная связь между уровнем эндотоксемии и изменением мембранной активности нейтрофильных гранулоцитов крови ожоговых больных. Увеличение эндотоксемии вызывало нарастание количества клеток с умеренно выраженной активностью и гиперактивностью мембран за счет резкого уменьшения количества клеток без морфологических признаков активности их цитолем.

ENDOTOXEMY INFLUENCE ON THE MORPHOFUNCTIONAL CONDITION OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES OF BURNED PATIENTS – The ultrastructure of neutrophilic granulocytes of donors and patients with severe and moderate burn trauma was studied. It was determined direct correlative connection between endotoxemia level and burned patients neutrophilic granulocytes membrane activity changes. Amount of cells with membrane moderate activity and hyperactivity increases due to the increase of endotoxemia according to sharp decrease of cells without morphologic signs of their plasmalemmas activity.

Ключові слова: опіки, нейтрофільні гранулоцити, ультраструктура, ендотоксемія.

Ключевые слова: ожоги, нейтрофильные гранулоциты, ультраструктура, эндотоксемия.

Key words: burns, neutrophilic granulocytes, ultrastructure, endotoxemia.

ВСТУП Система крові є однією найбільш важливих інтегральних систем організму, високочутливою до дії різних фізіологічних і патологічних впливів. Особливості адаптації організму до дії різних чинників необхідно вивчати з позиції системного підходу, а тому надзвичайної актуальності і ваги набувають дослідження з виявлення особливостей реагування нейтрофільних гранулоцитів крові, як системи по забезпеченню неспецифічної резистентності організму [1]. Існують різні погляди на їх функціональний стан в кровотоці [2], намагаються вивести залежність між морфологією та морфометричними показниками нейтрофільних гранулоцитів крові [3, 4], проте в доступній літературі мало уваги приділено впливу ендотоксемії на морфофункціональний стан цих клітин, як вагомої складової клітинної ланки природної резистентності.

Мета роботи: виявити залежність між структурно-функціональною характеристикою нейтрофільних гранулоцитів та рівнем ендотоксемії крові хворих з опіковою хворобою.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Робота ґрунтується на обстеженні 60 осіб віком від 20 до 50 років, серед них 39 чоловіків і 21 жінка. Першу групу склали 31 пацієнт із опіковою травмою середнього ступеня тяжкості – індекс тяжкості ураження (ІТУ) – 60 од. при наявності глибоких опіків IIIA-IIIБ ступенів до 15 %. Другу групу – 29 потерпілих з опіками тяжкого ступеня – ІТУ – 61-90 од. при наявності глибоких опіків IIIA-IIIБ та IV ступенів площею 20-35 %. Групою порівняння були 20 практично здорових осіб (первинні донори крові). Дослідження проведено на 4, 14 і 24 добу перебування хворих у стаціонарі.

Важкість ендогенної інтоксикації оцінювали за вмістом молекул середньої маси їх низько- і високомолекулярних фракцій шляхом прямої спектрофотометрії.

Лейкоцитарну плівку для електронно-мікроскопічних досліджень фіксували в 2,5 % розчині глутаральдегіду на фосфатному буфері з наступною дофіксацією у 1 % розчині чотириокису осмію, дегідрували в спиртах і ацетоні, контрастували ураніацетатом і заливали в епоксидні смоли. Із залитих в епонові смоли зразків виготовляли ультратонкі зрізи, які контрастували за Рейнольдсом і вивчали в електронному мікроскопі ЕМВ-100В.

Статистичну обробку отриманих даних проведено з використанням програми табличного процесора Microsoft Excel на мікропроцесорі Celeron-333.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ При електронно-мікроскопічному дослідженні крові донорів виділили нейтрофільні гранулоцити за ступенем активності мембран: неактивні, помірно активні та гіперактивні. У їхній крові домінували клітини без морфологічних ознак мембранної активності. Такі клітини мали округлу форму без цитоплазматичних виростів, добре контурова-

лись численні первинні і вторинні гранули з чіткими мембранами, значною кількістю зерен глікогену. Ядро мало, як правило, 3-4 сегменти, обмежених добре вираженою дво-контурною мембраною. При підрахунку на 100 нейтрофілів їх кількість складала 76,0±1,3 %.

До групи нейтрофільних гранулоцитів з помірно вираженою мембранною активністю віднесли клітини, які зберігали чіткість цитолемми з множинними короткими псевдоподіями або ті, які мали поодинокі або численні лобоподії. В добре збереженій цитоплазмі чітко контурувались мембрани гранул, які за своїм вмістом були різними: так матрикс одних із них був різко осміофільним, в інших – лише частково виповнював зерна і було серед них немало таких, які були цілком порожніми. В одних фагоцитах збережені гранули локалізувались у одному із полюсів клітини, а в інших – рівномірно по всій цитоплазмі. Частка таких нейтрофілів складала 20,0±1,7 %.

Нейтрофільні гранулоцити з гіперактивністю мембран втрачали округлу форму за рахунок нерівних контурів з численними лобоподіями та псевдоподіями. Цитоплазматичні та ядерні мембрани чіткі, численність гранул зменшена, більша частина із них дегранульована, їхні мембрани нечіткі, що супроводжується ділянками дезінтеграції цитоплазми. Зерен глікогену мало. Частка таких нейтрофільних граулоцитів складала 4,0±0,5 %. Такий розподіл нейтрофільних лейкоцитів у кровотоці відбувається за концентрацією середніх молекул (ум. од.) 0,438±0,015.

Проведеними дослідженнями встановлено підвищення токсичних властивостей сироватки крові у хворих з опіками середнього ступеня тяжкості. Так, на 4 добу після опікової травми рівень середньомолекулярних пептидів зріс на 41,3 % проти норми (табл. 1).

Таблиця 1. Концентрація молекул середньої маси в плазмі хворих з опіками середнього ступеня тяжкості (M±m)

Показник	Здорові особи	Період дослідження, доба		
		4	14	24
Середні молекули (ум. од.)	0,438±0,015	0,627±0,018*	0,600±0,009*	0,529±0,009*
Низькомолекулярна фракція середніх молекул (ум. од.)	0,435±0,012	0,514±0,006*	0,510±0,011*	0,482±0,008*
Високомолекулярна фракція середніх молекул (ум. од.)	0,0030±0,0002	0,113±0,001*	0,090±0,001*	0,047±0,004*

Примітка. * – P<0,05 проти показників здорових осіб.

У цей термін спостереження виявляли нейтрофільні гранулоцити без морфологічних ознак мембранної активності і їх кількість складала 30,0±2,1 %. Клітини з порушенням ультраструктури плазматичних, ядерних і органоїдних мембран були об'єктивним морфологічним відображенням наростання неспецифічної токсичності плазми крові опечених. Такі клітини мали цитоплазматичні вирости типу лобоподій – широкі округлі крилоподібні утвори, в межах яких вільно розміщувались органели клітини або без них. Контури лобоподій рівні. Гранули нейтрофільних гранулоцитів у лобоподіях розміщувались групами по периферії, більшість із яких дегранульована. Мембрани окремих гранул зливаються з мембранами фагосом. Клітин в стані помірно вираженої мембранної активності було 51,0±1,3 %, з гіперактивністю мембран їх було – 19,0±1,0 %.

На 14 добу після термічної травми токсичність плазми крові хворих була істотно вищою проти норми: концентрація середньомолекулярних пептидів була вищою в 1,47 раза; високомолекулярна фракція – вище проти норми у 30,0 разів, низькомолекулярна – в 1,2 раза (див. табл. 1). Аналіз ультраструктурних особливостей нейтрофільних лейкоцитів з урахуванням відомих морфологічних критеріїв показав, що у хворих переважали клітини з помірною (59,0±2,0 %) і підвищеною мембранною

активністю та незавершеним фагоцитозом, таких клітин було 12,0±1,1 %. Нейтрофільних гранулоцитів без морфологічних ознак мембранної активності було лише 29,0±1,5 %.

Про виражену токсичність плазми крові на 24 добу після опікової травми свідчать субмікроскопічні зміни нейтрофільних гранулоцитів. 49,0±1,0 % клітин має електронно-мікроскопічні ознаки помірно підвищеної мембранної активності. Має місце виражена дегрануляція, дестабілізація плазматичних, ядерних та органоїдних мембран. Спостерігається вихід вмісту гранул в цитоплазму, що приводило до дрібноосередкового лізису, хоч вони були меншими за об'ємом, порівняно із стадією токсемії. В нейтрофільних гранулоцитах з гіперактивністю мембран (11,0±0,3 %) у цитоплазмі появляються вакуолі, іноді досить великих розмірів. Пошкодження мембран гранул, що супроводжується виходом їхнього вмісту у навколишню цитоплазму з вогнищевим лізисом і утворенням великих фагосом, є одним із механізмів розвитку функціональної неповноцінності нейтрофільних гранулоцитів. Нейтрофільних гранулоцитів крові без морфологічних ознак мембранної активності було 40,0±1,3 %.

У тяжкоопечених токсичність плазми крові на 4 добу спостереження була високою і рівень середніх молекул збільшувався на 68,0 % проти норми (табл. 2).

Таблиця 2. Концентрація молекул середньої маси в плазмі хворих з опіками тяжкого ступеня (M±m)

Показник	Здорові особи	Період дослідження, доба		
		4	14	24
Середні молекули, ум. од.	0,438±0,015	0,736±0,011*	0,661±0,007*	0,619±0,003*
Низькомолекулярна фракція середніх молекул, ум. од.	0,435±0,012	0,611±0,010*	0,561±0,005*	0,558±0,001*
Високомолекулярна фракція середніх молекул, ум. од.	0,0030±0,0002	0,125±0,001*	0,110±0,004*	0,061±0,005*

Примітка. * - P<0,05 проти показників здорових осіб.

Проведені електронно-мікроскопічні дослідження показали, що в тяжкоопечених на 4 добу після травми у крові нейтрофілів без морфологічних ознак мембранної активності було лише 10,0±2,0 %, з ознаками помірної мембранної активності – 63,0±1,2 %, із гіперактивністю мембран – 27,0±2,2 %.

На 14 добу після тяжкої термічної травми в крові хворих спостерігалось деяке зменшення токсичності плазми крові (див. табл. 2). У цей термін спостереження встановлено різке зниження клітин без ознак мембранної активності до 17,0±2,1 %, нейтрофільних гранулоцитів із помірно вираженою активністю було 60,0±2,5 %. Вміст клітин з гіперактивністю мембран зростав і складав 23,0±1,0 %. Гіперактивність мембран нейтрофільних гранулоцитів поєднувалась із вираженою дегрануляцією цитоплазми і дестабілізацією мембран, що приводило до виникнення дезінтеграції та локального аутолізу їх цитоплазми.

На 24 добу після тяжкої опікової травми в крові потерпілих мала місце тенденція до зниження токсичності плазми крові (див. табл. 2). При вивченні зрізів в електронному мікроскопі вміст нейтрофільних гранулоцитів без морфологічних ознак мембранної активності зріс до 20,0±1,0 %, клітин помірно активних було 60,0±3,1 % та з гіперактивністю мембран складала 20,0±1,8 %. Гіперактивність мембран призводила до виснаження мембраносинтетичних ресурсів, деструкції мембран та руйнування власних ультраструктур нейтрофільних гранулоцитів, що викликає функціональну недостатність цих клітин.

ВИСНОВКИ 1. Нейтрофільних гранулоцитів у крові донорів без морфологічних ознак мембранної активності було

76,2±1,3%, з помірно вираженою активністю мембран – 20,0±1,7 %, з гіперактивністю мембран – 4,0±0,5 %, що вказує на виконання останніми функції фагоцитозу уже в кровотоці здорових осіб. 2. Виявлено прямий кореляційний зв'язок між рівнем ендотоксемії та часткою нейтрофільних гранулоцитів з ознаками мембранної активності. Пропорційно до наростання ендотоксемії збільшується кількість клітин з помірно вираженою активністю до 51,0 % та з гіперактивністю мембран до 19 % при опіковій травмі середнього ступеня тяжкості, відповідно до 63,0 % і 27,0 % за опікової травми тяжкого ступеня, за рахунок різкого зменшення клітин без морфологічних ознак активності цитолем.

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку Наступні дослідження будуть спрямовані на розробку ефективних методів корекції структурних змін нейтрофільних гранулоцитів крові, обумовлених ендотоксемією.

ЛІТЕРАТУРА

1. Лысов П.К., Петрухин В.Г. Цитохимические показатели лимфоцитов крови в оценке и прогнозе функциональной активности спортсмена // Морфология. – 2000. – Т. 117, №4. – С. 70-80.
2. Сапрыкин В.П., Кузнецов С.Л. Морфологические варианты нейтрофильных гранулоцитов крови практически здоровых людей // Морфология. – 2001. – Т. 120, №6. – С. 37-41.
3. Гомоляко І.В., Тумасова К.П. Ультраструктурна та морфометрична характеристика нейтрофільних гранулоцитів крові // Цитология и генетика. – 2001. – Т.35, №5. – С. 44-48.
4. Матюшичев В.Б., Шамралова В.Г., Музафарова Д.А. Зависимость размера лейкоцитов от их относительного содержания в крови человека / / Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2001. - №9. – С. 1178-1183.

Гончарук С.Ф., Павлова О.С., Насібулін Б.А., Бахолдина О.І., Касьяненко Г.В. МОРФОЛОГІЧНИЙ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ТИМУСА ЩУРІВ В УМОВАХ БЕНЗОЛОВОЇ МОДЕЛІ ІМУНОДЕФІЦИТУ

Український НДІ медичної реабілітації та курортології, Одеський державний медичний університет

МОРФОЛОГІЧНИЙ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ТИМУСА ЩУРІВ В УМОВАХ БЕНЗОЛОВОЇ МОДЕЛІ ІМУНОДЕФІЦИТУ – Морфологічний та функціональний стан тимуса щурів в умовах бензолової моделі імунодефіциту. В експериментальних дослідженнях на 58 білих щурах лінії Вістар встановлено, що модель імунодефіциту (повторні ін'єкції бензолу) призводить до суттєвого пригнічення функційної активності тимуса (істотне зниження щільності клітинних елементів в кірковому шарі, активація процесів склерозування, зменшення вмісту всіх субпопуляцій тимоцитів, дисбаланс активності ферментів обміну аденозину). Результати досліджень можуть бути використані для експериментального вивчення імуномодельюючої дії лікарських препаратів та лікувальних фізичних чинників.

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТИМУСА КРЫС В УСЛОВИЯХ БЕНЗОЛОВОЙ МОДЕЛИ ИММУНОДЕФИЦИТА – В экспериментальных исследованиях на 58 белых крысах линии Вистар установлено, что модель иммунодефицита (повторные инъекции бензола) приводит к существенному угнетению функциональной активности тимуса (значительное снижение плотности клеточных элементов в корковом слое, активация процессов склерозирования, уменьшение содержания всех популяций тимоцитов, дисбаланс ферментов аденозинового

обмена). Результаты исследований могут быть использованы для экспериментального изучения иммуномоделирующего действия лекарственных препаратов и лечебных физических факторов.

MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL STATE OF RATS THYMUS IN THE CONDITIONS OF BENZOL MODEL OF IMMUNODEFICIT – In experimental researches on 58 white rats of Wistar line was revealed, that the model of immunodeficit (repeated injections of benzol) leads to substantial oppressing of functional activity of thymus (marked decreasing of density of cell elements in cortex layer, activation of sclerosis processes, diminishing of maintenance of all thymocytes subpopulations, disbalance of adenosine exchange enzymes). Results of researches can be used for experimental study of immunomodulating action of medicinal preparations and medical physical factors.

Ключові слова: модель імунодефіциту, бензол, білі щурі лінії Вістар, тимус.

Ключевые слова: модель иммунодефицита, бензол, белые крысы линии Вистар, тимус.

Key words: model of immunodeficiency, benzol, white rats of Wistar line, thymus.

Постановка проблеми Для більш досконалого вивчення механізмів імунотропного впливу лікарських препаратів і лікувальних фізичних факторів на функціональний стан імунотропних органів, зокрема тимуса, необхідно проведення експериментальних досліджень не тільки у інтактних тварин, а й в умовах моделі імунотропних станів.

Аналіз останніх досліджень і публікацій В останні роки опубліковані результати досліджень з моделювання імунотропних станів [3,4,5], але нами не знайдено публікацій, присвячених вивченню змін функціонального стану тимуса шляхом відтворення моделі імунотропності за допомогою ін'єкцій бензолу, що є потужним імунотропним агентом [6].

Мета роботи – морфологічна, імунотропна і біохімічна характеристика функціонального стану тимуса в умовах відтворення моделі імунотропності у щурів шляхом повторних ін'єкцій бензолу підшкірно (0,05 мл на 100 г маси тварини) щодня, всього 15 ін'єкцій.

Матеріал дослідження Об'єкт дослідження – 58 білих щурів лінії Вістар. Робота з тваринами провадилася відповідно до правил, викладених в положенні «Правила проведення робіт з використанням експериментальних тварин». Тварин умертвляли під легким ефірним наркозом.

Реакція тимуса і селезінки оцінювалася за наслідками дослідження морфо-функціональних структур органів (забарвлення за Ван-Гізон і гематоксилін-еозин); імунотропних (визначення популяцій тимоцитів і лімфоцитів різного ступеня зрілості за методом В.С.Кожевникова та співавторів [2] на основі вивчення Е-рецепторних характеристик клітин). Метод заснований на виявленні змін Е-рецепторних характеристик лімфоїдних клітин різного ступеня зрілості, що виявлялися за допомогою реакції розеткоутворення з гетерогенними еритроцитами барана в різних умовах дослідження. В тимусі та периферичній крові визначали загальний вміст тимоцитів і Т-лімфоцитів – тотальних розеткоутворюючих клітин (тЕ-РУК), менш зрілих високоафінних безосадних розеткоутворюючих клітин (бЕ-РУК) і більш зрілих середньоафінних клітин (рЕ-РУК) після інкубації лімфоїдних клітин з еритроцитами барана протягом години при кімнатній температурі і постійному струмуванні в Шютель-апараті. Вміст більш зрілої популяції середньоафінних клітин (рЕ-РУК) визначали методом, який звичайно використовується для виділення активних Т-клітин. Тимоцити виділяли з тимуса шляхом м'якої гомогенізації в гомогенізаторі Потера в середовищі 0,14 М натрію хлориду, забуференому 0,01 М гідрокарбонату натрію. Лімфоцити периферичної крові виділяли на системі фікол – ізопак густиною 1,077.

Ступінь зрілості лімфоїдних клітин визначався також на підставі дослідження активності ферментів пуринового обміну – екто-5-нуклеотидази [1] і аденозиндезамінази (АДА) [7].

Аналіз проведених морфологічних, імунотропних і біохімічних досліджень показав, що при повторних ін'єкціях бензолу у тварин розвивається імунотропний стан.

Реакція з боку морфологічних структур тимуса виявляється вже після 5 ін'єкцій бензолу і характеризується ущільненням, потовщенням фібробластів та розростанням волоконної структури. Відмічається різке збільшення повнокров'я судин. Однією з істотних ознак формування морфологічного субстрату, який обумовлює розвиток імунотропності, є істотне зниження щільності клітинних елементів в кірковому шарі тимуса, поява в ньому ділянок волоконної сполучної тканини з розвитком явищ фіброзу. Окрім цього, в кірковому шарі з'являються округлі крупні клітини з еозинотропною цитоплазмою, округлими світлими ядрами, що містять окремі гранули хроматину.

Після 10 ін'єкцій бензолу дані зміни в кірковому шарі наростають. Також в кірковому шарі з'являються вогнища розрідки, в яких знаходяться тимоцити з двоядерцевими ядрами, збіднені на хроматин. Зміни зачіпають і мозкову речовину тимуса, де проходять процеси дозрівання тимоцитів. Мозковий шар набуває модулярної будови, виявляються ділянки ніжноволокнистої сполучної тканини, що містять значне число фібробластів. Утворення грубоволоконної сполучної тканини наростає особливо в міжчасточкових проміжках, що свідчить про активацію процесів склерозування.

Після 15 ін'єкцій бензолу, хоча і продовжується розвиток фіброзної тканини (периваскулярний склероз), зберігається грубоволоконне потовщення міжчасточкових перегородок з ознаками лімфоцитарної інфільтрації, все ж таки з'являються деякі ознаки стабілізації процесу. В кірковому шарі переважає нормальна структура, але окремі ділянки розрідки зберігаються, нормалізується структура тимоцитів кіркового і мозкового шарів, значно рідше зустрічаються атипичні клітини.

Таким чином, морфологічні дослідження показали, що повторні ін'єкції бензолу супроводжуються розростанням сполучної тканини, розвитком явищ фіброзу, появою клітинних структур, відмінних від нормальної будови, властивої тимоцитам, змінами в кірковому і мозковому шарі. Дані зміни максимально виражені після 10 ін'єкцій бензолу, а надалі при продовженні введення токсичної речовини спостерігаються явища стабілізації і частково репарації.

Розвинуті морфологічні зміни в тимусі супроводжуються пригніченням функціональної активності органа, про що свідчать результати імунотропних досліджень.

Імунотропні дослідження, які включали визначення тимоцитів і лімфоцитів периферичної крові різного ступеня зрілості, показали, що після 5 ін'єкцій бензолу в 1,3 раза знижується вміст тЕ-РУК, а також рЕ-РУК і бЕ-РУК-тимоцитів (табл. 1).

Із збільшенням ін'єкцій бензолу ці зміни наростають, особливо у вмісті тЕ-РУК при стабільно пониженому рівні

Таблиця 1. Динаміка вмісту популяцій тимоцитів різного ступеня зрілості в тимусі щурів з моделлю імунотропності у відсотках (M ± m)

Ін'єкції бензолу	тЕ-РУК	рЕ-РУК	бЕ-РУК
Після 5 ін'єкцій	26,1 ± 1,3	15,8 ± 1,1	19,1 ± 0,4
P	< 0,001	< 0,05	= 0,05
Після 10 ін'єкцій	24,7 ± 1,3	15,0 ± 1,2	18,7 ± 0,6
P	< 0,001	< 0,05	= 0,05
Після 15 ін'єкцій	22,3 ± 0,5	16,3 ± 4,2	22,3 ± 3,2
P	< 0,001	> 0,5	> 0,5
Через 10 днів після закінчення ін'єкцій	29,0 ± 2,1	18,0 ± 2,8	24,6 ± 2,0
P	= 0,05	> 0,5	> 0,5
Інтактні тварини	34,1 ± 1,1	19,2 ± 1,2	21,5 ± 1,2

Примітка: p – розрахований відносно показників у інтактних тварин.

інших популяцій тимоцитів. Після 15 ін'єкцій кількість тЕ-РУК в 1,5 раза нижча, ніж у інтактних щурів. У віддаленіші терміни (через 10 днів після закінчення введення бензолу) спостерігається тенденція до заповнення пулу тЕ-РУК, проте середні величини цього показника залишаються достовірно нижчими від значення показника інтактних тварин. Тоді як кількість рЕ-РУК і бЕ-РУК через 10 днів після закінчення ін'єкцій практично не відрізняється від нормального рівня.

У периферичній крові визначається істотне зниження кількості тЕ-РУК-лімфоцитів після 5-ої ін'єкції бензолу, яке наростає при подальших ін'єкціях (табл. 2).

Через 10 днів після закінчення введення препарату відмічається деяка тенденція до відновлення вмісту даних клітин, рівень яких проте значно нижчий, ніж у інтактних тварин. У той же час зміни кількості рЕ-РУК і бЕ-РУК були незначними на всьому протязі введення бензолу, а через 10 днів після його закінчення відмічається достовірне підвищення вмісту даних популяцій лімфоцитів.

Таким чином, зміни співвідношення субпопуляцій тимоцитів і лімфоцитів периферичної крові різного ступеня зрілості і їх загального вмісту свідчать про те, що при повторних введеннях бензолу розвивається імунодефіцитний стан, максимально виражений після 10–15 ін'єкцій.

Таблиця 2. Динаміка вмісту популяцій лімфоцитів різного ступеня зрілості в периферичній крові щурів з моделлю імунодефіциту у відсотках (M ± m)

Ін'єкції бензолу	тЕ-РУК	рЕ-РУК	бЕ-РУК
Після 5 ін'єкцій	34,1 ± 1,1	19,4 ± 1,2	20,3 ± 1,8
Р	< 0,05	> 0,5	> 0,5
Після 10 ін'єкцій	27,6 ± 0,7	19,6 ± 1,7	20,4 ± 1,3
Р	< 0,01	> 0,5	> 0,5
Після 15 ін'єкцій	23,7 ± 1,9	18,5 ± 1,2	24,0 ± 4,4
Р	< 0,01	> 0,5	> 0,5
Через 10 днів після закінчення ін'єкцій	31,1 ± 1,5	24,0 ± 1,0	27,2 ± 1,6
Р	< 0,01	< 0,05	= 0,05
Інтактні тварини	42,1 ± 2,3	18,6 ± 0,9	21,5 ± 1,2

Примітка: р – розрахований відносно показників у інтактних тварин.

Одним з інформативних показників імунодефіцитного стану є оцінка активності ферментів аденозинового метаболізму в клітинах тимуса. Зокрема, визначення активності екто-5-нуклеотидази і АДА. Дані ферменти контролюють рівень ендogenous аденозину і грають головну роль в забезпеченні життєздатності і функцій тимоцитів та лімфоцитів, а дисбаланс в співвідношенні їх активності або відсутність одного з ферментів є ознакою тяжкого імунодефіциту. Результати дослідів з вивчення впливу моделі відтвореного імунодефіциту на динаміку ак-

тивності ферментів аденозинового метаболізму наведені в таблиці 3.

Представлені дані свідчать, що після 10 ін'єкцій бензолу активність екто-5-нуклеотидази в тимусі знижується в 2,1 раза, а активність АДА зростає на 80 % відносно інтактних тварин. У віддалені терміни (через 10 днів після закінчення ін'єкцій) активність екто-5-нуклеотидази в тимусі залишається пониженою (68 % відносно контролю), а активність АДА залишається підвищеною, перевищуючи показники інтактних тварин на 60 %.

Таблиця 3. Динаміка активності екто-5-нуклеотидази і аденозіндезамінази в тимусі щурів з моделлю імунодефіциту (M ± m)

Ін'єкції бензолу	Екто-5-нуклеотидаза (нмоль·хв·мг/білка)	Аденозіндезаміназа (мкмоль·хв·мг/білка)
Після 5 ін'єкцій	3,20 ± 0,33	0,17 ± 0,01
Р	< 0,05	> 0,2
Після 10 ін'єкцій	2,06 ± 0,20	0,29 ± 0,03
Р	< 0,001	< 0,001
Через 10 днів після закінчення ін'єкцій	2,86 ± 0,21	0,26 ± 0,02
Р	< 0,001	< 0,001
Інтактні тварини	4,21 ± 0,27	0,16 ± 0,02

Примітка: р – розрахований відносно величин показників у інтактних тварин.

Зниження активності екто-5-нуклеотидази, яка сприяє синтезу аденозину, відбувається на фоні збільшення активності ферменту, який розщеплює аденозин, і вказує на те, що після десяти ін'єкцій бензолу в організмі розвивається імунодефіцитний стан, ймовірно, пов'язаний з порушенням процесів диференціювання Т-лімфоцитів в тимусі.

ВИСНОВКИ 1. Морфологічна, імунологічна і біохімічна характеристики модельованого процесу показали, що повторні ін'єкції бензолу призводять до суттєвого пригнічення функціонального стану тимуса (істотне зниження щільності клітинних елементів в кірковому шарі, активація процесів склерозування, зменшення вмісту всіх субпопуляцій тимоцитів, дисбаланс активності ферментів обміну аденозину) і формування загального імунодефіцитного стану (значне зниження кількості тотальних розеткоутворюючих

клітин в периферичній крові). 2. Для відтворення моделі імунодефіцитного стану найбільш оптимально використовувати 10 ін'єкцій бензолу. 3. Бензолова модель може бути використана для вивчення особливостей стимулюючого впливу лікарських препаратів і лікувальних фізичних чинників на функціональний стан тимуса в умовах пригнічення його функціональної активності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дмитренко Н.Н. Ферменты превращения аденилнуклеотидов // Украинский биохимический журнал. – 1981. – Т. 53, № 1. – С. 114–123.
 2. Кожевников В.С., Коненков В.И. Индукция дифференцировки Т-лимфоцитов человека тимическим фактором АТФ-6 (Т- активном) // Иммунология. – 1985. – № 4. – С. 34–36.
 3. Пат. 92002046 А Российской Федерации МКИ G09 В 23/28/Гринзанд Ю.М., Демешко Н.И., Мельникова В.И., Грийзанд М.И. Способ моделирования

вторичного імунodefіцита в експерименте; Пятигорский гос. НИИ курортологии МЗ РФ. - № 92002046/14; Заявл. 1992.10.21; Опул. 1995.05.10.; Бюл.№14.- 3с.

4. Пат. 2262700 С1 Российской Федерации МКИ А61 N 1/20/ Гринзанд Ю.М., Демешко Н.И., Полушина Н.Д. и др. Способ оценки профилактики иммунодефицита; Пятигорский гос. НИИ курортологии МЗ РФ. - № 2003126077/15; Заявл. 2003.08.25; Опул. 2005.02.27.; Бюл.№12.- 3с.

5. Chen J. Animal models for acquired bone marrow failure syndromes // Clin. Med. Res. – 2005. – № 3. – P. 63-64.

6. Sheets P., Carlson G. Kinetic factors involved in the metabolism of benzene in mouse lung and liver // J. Toxicol. Environ. Health. – 2004. – № 5. – P. 21-30.

7. Thompson M.F., Boss G.R. Ecto-5'-nucleotidase activity in T- and B-lymphocytes // J. Immunol. – 1979. – Vol. 123. – P. 2475.

Горбокoнь Н.М.

ЗАСТОСУВАННЯ ІМУНОМОРФОЛОГІЧНОГО ТИПУВАННЯ В ДИФЕРЕНЦІАЛЬНІЙ ДІАГНОСТИЦІ ТЯЖКОЇ ДИСПЛАЗІЇ ТА ІНВАЗИВНОГО РАКУ ШИЙКИ МАТКИ

Інститут невідкладної та відновної хірургії ім. В.К. Гусака АМН України, м. Донецьк

ЗАСТОСУВАННЯ ІМУНОМОРФОЛОГІЧНОГО ТИПУВАННЯ В ДИФЕРЕНЦІАЛЬНІЙ ДІАГНОСТИЦІ ТЯЖКОЇ ДИСПЛАЗІЇ ТА ІНВАЗИВНОГО РАКУ ШИЙКИ МАТКИ – В роботі наведені результати власних досліджень 50 випадків новоутворів шийки матки (дисплазій тяжкого ступеня з підозрою і без підозри на інвазію та інвазивних, в тому числі й мікроінвазивного плоскоклітинного раку). Показано, що імуноморфологічне типування компонентів базальної мембрани, а саме – колагену 4 типу, з додатковим забарвленням на панцитокератини, значно полегшує виявлення вогнищ інвазії в підозрілих випадках. Імуногістохімічне дослідження стромы показало наявність розбіжностей в характері та розташуванні клітинних інфільтратів при тяжких дисплазіях та інвазивному плоскоклітинному раку, що також може бути використано в диференціальній діагностиці вищезазначених станів.

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКОГО ТИПИРОВАНИЯ В ДИФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ТЯЖЕЛОЙ ДИСПЛАЗИИ И ИНВАЗИВНОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ – В работе приведены результаты собственных исследований 50 случаев новообразований шейки матки (дисплазий тяжелой степени с подозрением и без подозрения на инвазию и инвазивных, в том числе и микроинвазивного плоскоклеточного рака). Показано, что иммуноморфологическое типирование компонентов базальной мембраны, а именно – коллагена 4 типа, с дополнительным окрашиванием на панцитокератини, значительно облегчает выявление очагов инвазии в подозрительных случаях. Иммуногистохимическое исследование стромы показало наличие различий в характере и расположении клеточных инфильтратов при тяжелых дисплазиях и инвазивных плоскоклеточных раках, что может быть использовано в дифференциальной диагностике вышеуказанных процессов.

APPLICATION IMMUNOMORPHOLOGICAL STUDY IN DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS OF SEVERE DYSPLASIA AND INVASIVE CARCINOMA OF CERVIX UTERI – The work presents the outcomes of own researches of 50 cases of cervix uteri oncopathology (dysplasias of severe degree with suspicion and without suspicion on invasia and invasive, including microinvasive cervical cancer). It has been shown, that immunohistochemical study of basement membrane components, collagen of 4 type, with additional colouring on pan-cytokeratins, considerably promotes the detection of invasion centers in suspicious cases. Immunohistochemical study of the stroma has shown the presence of distinctions in character and disposition of cellular infiltrates at severe dysplasia and invasive cervical cancer, that can be used in differential diagnostics of these processes.

Ключові слова: імуноморфологічне дослідження, дисплазія, інвазивний рак, базальна мембрана, строма.

Ключевые слова: иммуноморфологическое исследование, дисплазия, инвазивный рак, базальная мембрана, строма.

Key words: immunomorphological study, dysplasia, invasive cervical cancer, basement membrane, stroma.

ВСТУП Диференціальна діагностика передракових процесів і раку шийки матки є однією з актуальних проблем сучасної онкогінекології. Інтерес до даної проблеми обумовлений тим, що злоякісні новоутворення шийки матки домінують у структурі онкологічної захворюваності і смертності жінок в усьому світі [1, 2]. Незважаючи на певні успіхи в діагностиці і диференціальній діагностиці дисплазій і раку шийки матки, відсутність чітких діагностичних критеріїв обумовлює значну варіабельність у трактуванні результатів гістологічного дослідження. Особливі труднощі вик-

ликає питання про наявність мікроінвазії, що не завжди можна вирішити при використанні звичайної світлової мікроскопії. Показано, що процес мікроінвазії при електронно-мікроскопічному дослідженні у вогнищах інвазії здійснюється паралельно зі зникненням базальної мембрани [7]. Разом з тим у ряді робіт описано відкладення речовини базальної мембрани навколо гнізд пухлинних клітин. Цей факт автори пояснюють тим, що процес інвазії носить циклічний хвилеподібний характер, коли слідом за руйнуванням базальної мембрани відбувається індукція раковими клітинами нової базальної мембрани навколо сформованих гнізд із наступним лізисом базальної мембрани при продовженні пухлинного росту [8]. Поява імунофенотипування з використанням моноклональних антитіл надала патоморфологам можливість визначати компоненти базальної мембрани, зокрема, колаген - 4 типу і ламінін. Останні дослідження показали, що при регресі внутрішньо-епітеліальних ушкоджень має місце дуплікація базальної мембрани, і виявлені дефекти розташовуються в «старій» мембрані [8]. Крім того, малесенькі дефекти в базальній мембрані, котрі виявляються іноді при вираженій клітинній інфільтрації підлеглої стромы, є мононуклеарами, що проходять через базальну мембрану в епітелій. Більшість дослідників вважають, що доцільно використовувати додаткове імуногістохімічне дослідження на панцитокератини, що дозволить віддиференціювати ракові клітини від клітин неепітеліальної природи. Епітелій і строма представляють єдину морфофункціональну систему, і патологічні зміни в одному з її компонентів спричиняють зміни в іншому [2]. Дослідження останніх років дозволяють не тільки по-іншому трактувати зміни з боку стромы, але також використовувати отримані дані для диференціальної діагностики і прогнозу. Установлено, що преанкротні і канкротні зміни багатошарового плоского епітелію ектоцервіксу супроводжуються глибокими змінами в підлеглій стромі шийки матки і виражаються у сполученні десмолітичних і десмопластичних процесів [3]. Причому, якщо при інтраепітеліальних неоплазіях, як правило, переважають десмопластичні процеси, то при інвазивному рості на перше місце виходять десмолітичні процеси, і клітинні інфільтрати беруть в цьому безпосередню участь. При прогресуванні дисплазій і в процесі інвазії відбуваються певні зміни в щільності, поширеності і характері клітинних інфільтратів. У деяких дослідженнях показано, що склад лімфоцитарних інфільтратів при інтраепітеліальних неоплазіях та інвазивних процесах якісно відрізняється. Повідомляється про достовірне збільшення CD68+ макрофагів у стромі інвазивного раку порівняно з дисплазіями, що авторами розглядається як важлива диференціально-діагностична ознака. Мезенхімальні клітини і позаклітинний матрикс створюють каркас для епітеліальних клітин і відіграють важливу регуляторну роль у визначенні структури і функції епітелію. Порушення балансу

стромально-епітеліальних взаємин приводить до зміни регуляції проліферації епітеліальних і стромальних клітин, їх диференціювання і рухливості, що розглядається багатьма авторами як один з основних чинників прогресування раку. З цього погляду перспективним є імуногістохімічне типування CD34(+) фіброцитів, які відіграють важливу роль у стромальній перебудові, асоційованій з інвазивним плоскоклітинним раком шийки матки. У результаті проведених досліджень встановлено, що зникнення CD34(+) фіброцитів є специфічною ознакою для стромальних змін, пов'язаних з інвазивним раком, і може бути чутливим тестом у виявленні дрібних фокусів стромальної інвазії і використовуватися для диференціальної діагностики між інтраепітеліальними неоплазіями та інвазивним раком [4]. У регуляції канцерогенезу та інвазивного потенціалу пухлин особливе значення додається різним ростовим чинникам, зокрема трансформуючому фактору росту b1 (TGFb1). Основними продуцентами цього фактора є стромальні клітини, що регулюють ріст і диференціювання епітеліальних клітин [5]. Однак, наявність у літературі досить суперечливих даних про експресію і функцію TGFb1 не дозволяє поки використовувати його для диференціальної діагностики дисплазій та інвазивного раку шийки матки. Інтраепітеліальні неоплазії та інвазивні процеси в шийці матки припускають різний клінічний підхід [1]. Тому чітке відмежування цих станів має надзвичайне значення. Застосування імунофенотипування значно підвищує вірогідність і об'єктивність морфологічного дослідження і, тому дає можливість клініцистам призначати обґрунтовані, індивідуалізовані схеми лікування [1, 6, 9]. Таким чином, вивчення імуноморфологічного типування компонентів базальної мембрани і структурних елементів строми актуальне для диференціальної діагностики інтраепітеліальних неоплазій та інвазивного раку шийки матки і є одним із пріоритетних напрямків сучасної онкоморфології.

Мета дослідження – визначити роль імуноморфологічного типування компонентів базальної мембрани та структурних елементів строми в диференціальній діагностиці тяжкої дисплазії та інвазивного раку шийки матки.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Матеріалом морфологічного дослідження послужили 50 випадків новоутворень шийки матки. При рутинному гістологічному дослідженні препаратів, забарвлених гематоксиліном та еозином, у 20 випадках був встановлений діагноз інвазивної плоскоклітинної карциноми з ороговінням чи без нього, у 30 випадках була діагностована дисплазія тяжкого ступеня. Усі випадки були розділені на 3 групи: 1) основну групу вивчення, 2) групу позитивного контролю, 3) групу негативного контролю. Першу групу склали 15 випадків тяжкої дисплазії шийки матки, підозріли на інвазію, друга група складалася з 20 випадків інвазивного, у тому числі, й мікроінвазивного плоскоклітинного раку і третя група була представлена 15 випадками дисплазії помірного і тяжкого ступеня без підозри на інвазію. Шматочки тканини, фіксовані в 10 % розчині нейтрального формаліну, заливали в парафін за стандартною методикою. На мікромомі Microm HM 325 з системою переносу зрізів STS (CarlZeiss, Німеччина) виготовляли гістологічні зрізи товщиною 5±1 мкм, які потім забарвлювали гематоксиліном та еозином для верифікації клінічного діагнозу. Всі випадки підлягали імуногістохімічному дослідженню. Для демаскування антигенів регідратовані зрізи підлягали термічній обробці в розчині Target Retrieval Solution (DAKO, Данія) з використанням впарної бані. Після блокування неспецифічного зв'язування білка протеїновим блоком (DAKO) та ендогенної пероксидазної активності – пероксидазним блоком (DAKO) наносили мишачі моноклональні антитіла до панцитокератинів (клон AE1/AE3). Для виявлення елементів базальної мембрани використовували мишачі моноклональні антитіла до колагену 4 типу (клон CIV22). Для ідентифікації Т-лімфоцитів хелперів наносили моноклональні ан-

титіла до CD4 (клон 1F6-Novocastra), Т-лімфоцитів супресорів – моноклональні антитіла до CD8 (клон 1A5-Novocastra), В-лімфоцитів – моноклональні антитіла до CD20 (клон L26, DAKO) і для виявлення макрофагів – антитіла до CD68 (клон PG-M1, DAKO). Візуалізацію первинних антитіл проводили за допомогою полімерної системи детекції DAKO ENVISION+. У ролі субстрату для пероксидази хрому використовували DAB + (DAKO). Препарати добарвлювали гематоксиліном Маєра, далі забарвлені зрізи заключали в напівсинтетичне середовище Permanent Mounting Medium(DAKO). Гістологічне дослідження здійснювалось за допомогою мікроскопа Olympus AX 70 (Японія).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При цервікальній інтраепітеліальній неоплазії помірного ступеня тяжкості волокнисті структури не зазнавали якихось певних виражених змін. Строма була представлена пухкою волокнистою сполучною тканиною з розвинутою сіткою судин мікроциркуляторного русла, наявність ретикулінових, колагенових та еластичних волокон звичайного вигляду в нормальному співвідношенні. Відзначалося збереження стратифікації та анізоморфності поверхневих і проміжних шарів, базальна гіперактивність нижньої третини епітеліального шару. Базальні та парабазальні клітини мноморфні, круглоовальної і витягнутої форми, зі збереженим обідком цитоплазми. Ядра базальних і парабазальних клітин збільшені, частіше нормо- і гіперхромні. Спостерігалось посилення мітотичної активності гіперплазованих клітин, місцями неглибокі акантотичні розростання базального шару. При тяжкій дисплазії аналогічні зміни захоплювали половину й більше пласта багат шарового плоского епітелію. Відзначалися порушення вертикальної анізоморфності і стратифікації нижніх шарів пласта за рахунок тотальної базальноклітинної гіперактивності. Гіперплазовані клітини нижніх шарів орієнтовані перпендикулярно до базальної мембрани, а верхніх, які зберегли стратифікацію, – горизонтально. Місцями зустрічалися вогнища гіпер- і паракератозу. При тяжкій дисплазії в строми визначалась помірна і виражена клітинна інфільтрація, представлена переважно лімфоцитами, з домішками нейтрофілів, плазмочитів, фібробластів і гістіоцитів. В одиничних випадках, поряд з інфільтрацією, був відзначений набряк і розпушення строми, з великою кількістю розширених, повнокровних судин мікроциркуляторного русла і дрібними скупченнями великих гіперхромних клітин, підозрілими на мікроінвазію. При імуногістохімічному дослідженні на виявлення колагену 4 типу отримані наступні результати: у всіх випадках тяжкої дисплазії з групи негативного контролю була візуалізована чітка безперервна базальна мембрана. В одиничних випадках, у вогнищах хронічного або гострого запалення, визначалися дрібні фокуси дуплікації базальної мембрани. В усіх випадках інвазивної плоскоклітинної карциноми виявлена або повна відсутність, або нерівномірне, переривчасте забарвлення колагену 4 типу у вогнищах інвазивного росту. Причому, навколо великих, центрально розташованих гнізд пухлинних клітин, як правило, визначалося чітке безперервне фокальне забарвлення колагену 4 типу. Навколо дрібних вогнищ інвазії й окремих пухлинних клітин, у більшості випадків елементи базальної мембрани не визначалися. У декількох випадках мікроінвазивної карциноми, з вираженою клітинною інфільтрацією на межі строми й епітелію, виникали труднощі у визначенні вогнищ пухлинного росту. Наступне імуногістохімічне дослідження на експресію панцитокератинів дозволило виявити гнізда плоскоклітинного раку в клітинних інфільтратах строми, а також полегшило визначення їхніх розмірів і глибини інвазії. При оцінці результатів імуногістохімічного дослідження на колаген 4 типу в основній групі виявлено, що в 3-х з 15 випадків мала місце повна відсутність або переривчастість базальної мембрани в підозрілих ділянках. Додаткове дослідження на експресію

панцитокератинів дозволило ідентифікувати дрібні вогнища плоскоклітинного раку в стромі, чим підтвердило наявність інвазії. В інших випадках основної групи виявлена чітка безперервна базальна мембрана. Таким чином, після імуногістохімічного дослідження на виявлення колагену 4 типу, у 3-х з 15 підозрілих випадків діагноз тяжкої дисплазії був змінений на мікроінвазивний плоскоклітинний рак. Для полегшення ідентифікації вогнищ мікроінвазії в стромі можна використовувати імуноморфологічне дослідження на експресію панцитокератинів. Вивчення стромі тяжких дисплазій показало, що в більшості випадків мала місце дифузна, помірна і виражена інфільтрація, представлена переважно лімфоцитами, в основному розташованими в субепітеліальному шарі. При імуноморфологічному типуванні основною популяцією серед лімфоцитів були Т-клітини (CD4+, CD8+) з домішкою незначної кількості В-клітин (CD20+). У значній частині випадків тяжкої дисплазії кількість CD4+ і CD8+ була приблизно однаковою, у деяких випадках переважали CD8+. У значній частині випадків серед лімфоцитів була відзначена домішка різної кількості сегментоядерних лейкоцитів плазмоцитів, опасистих клітин та CD68-позитивних макрофагів. Останні були переважно розташовані біля судин мікрогемоциркуляторного русла, іноді формували дрібні скупчення. У значній частині випадків фіброласти розташовані більш-менш рівномірно. При мікроінвазивних карциномах і більшій частині прогресуючого плоскоклітинного раку інтенсивність клітинної інфільтрації стромі практично не відрізнялася від такої при тяжких дисплазіях. Однак, мали місце значні розходження в її розташуванні і характері. Найбільша щільність клітинних інфільтратів спостерігалася навколо гнізд пухлинних клітин. При імуноморфологічному дослідженні інвазивного раку виявлено, що основною клітинною популяцією є Т-лімфоцити, причому CD8+ значно переважають над CD4+ клітинами. У більшості випадків інвазивного плоскоклітинного раку відзначене збільшення CD68+ макрофагів порівняно з дисплазіями. Останні розташовувалися переважно навколо дрібних вогнищ інвазії, у безпосередній близькості від пухлинних клітин, місцями, у вигляді переривчастого валу і скупчень. При мікроінвазивних процесах відзначалася більш виражена і поліморфна клітинна інфільтрація, ніж при прогресуючому плоскоклітинному раку. Навколо вогнищ мікроінвазії місцями визначалися незначні скупчення фіброblastів. У деяких випадках, при значному інвазивному рості клітинна інфільтрація практично цілком була відсутня. Нечисленні клітини були представлені винятково CD8+ субпопуляцією

лімфоцитів. Таким чином, імуноморфологічне типування компонентів базальної мембрани і структурних елементів стромі відіграє важливу роль у диференціальній діагностиці тяжких дисплазій та інвазивного раку шийки матки.

ВИСНОВКИ 1. При тяжкій дисплазії в стромі визначалася помірна і виражена клітинна інфільтрація, представлена переважно лімфоцитами, з домішками нейтрофілів, плазмоцитів, фіброblastів і гістіоцитів. 2. При тяжкій дисплазії має місце чітка візуалізація безперервної базальної мембрани (позитивна реакція експресії колагену 4 типу); у вогнищах хронічного або гострого запалення виявляються дрібні фокуси дуплікації базальної мембрани; при інвазивній плоскоклітинній карциномі спостерігається повна відсутність експресії колагену 4 типу, або переривчасте його типування у вогнищах інвазивного росту. 3. Імуногістохімічне дослідження структурних елементів стромі показало, що основною клітинною популяцією запальних інфільтратів є Т-лімфоцити, причому CD8+ значно переважають над CD4+ клітинами, в інвазивному плоскоклітинному раку відзначене збільшення CD68+ макрофагів у порівнянні з дисплазіями.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бондар Г.В., Шлопов В.Г., Семикоз Н.Г., Купрієнко М.В. Рак шийки матки: проблема збереження якості життя після комбінованого лікування хворих та шляхи його покращення // Журнал АМН України. – 2003. – Т.9, № 2 – С. 28-36.
2. Краснополський В.И., Радзинский В.Е., Буянова С.Н и соавт. Патология влагалища и шейки матки. - М.: Медицина, 1997. – 272 с.
3. Хмельницький О.К. Патоморфологическая диагностика гинекологических заболеваний. С.Пб.: Сотис, 1994. – С. 87-89.
4. Barth P.J., Ramaswamy A., Moll R. CD34(+) fibrocytes in normal cervical stroma, cervical intraepithelial neoplasia III, and invasive squamous cell carcinoma of the cervix uteri // Virchov. Arch. – 2002. – Vol. 441, № 6. – P. 546-548.
5. Hazelbag S., Kenter G.G., Gorter A., Fleuren G.J. Prognostic relevance of TGF-beta1 and PAI-1 in cervical cancer // Int. J. Cancer. – 2004. – Vol. 112, № 6. – P. 1020-1028.
6. Kokka F., Vorgias G., Tserkezoglou A. et al. Preoperative work-up of early cervical cancer (stages Ib-IIa) // Eur. J. Gynaecol. Oncol. – 2003. – Vol. 24, № 2. – P. 175-177.
7. Kudo R., Sato T., Mizuuchi H. et al. Ultrastructural and immunohistochemical study of infiltration in microinvasive carcinoma of the uterine cervix // Gynecol. Oncol. – 1990. – Vol. 36. – P. 23-29.
8. Rush D., Hyjek E., Baergen R. et al. Detection of microinvasion in vulvar and cervical intraepithelial neoplasia using double immunostaining for cytokeratin and basement membrane components // Arh. Pathol. Lab. Medicine. – 2005. – Vol. 129, № 6. – P. 747-753.
9. Spitzer M., Apgar B.S. Brotzman G.L. Management of Histologic Abnormalities of the Cervix // J. American Family Physician. – 2006. – Vol. 73, № 1. – P. 105-111.

Гуда Н.В.

РЕГЕНЕРАТОРНІ ПРОЦЕСИ В ОПІКОВІЙ РАНІ У ХВОРИХ З ДЕРМАЛЬНИМИ ОПІКАМИ ПРИ ВИКОРИСТАННІ ФОТООКСИГЕНОВАНИХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТІВ

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

РЕГЕНЕРАТОРНІ ПРОЦЕСИ В ОПІКОВІЙ РАНІ У ХВОРИХ З ДЕРМАЛЬНИМИ ОПІКАМИ ПРИ ВИКОРИСТАННІ ФОТООКСИГЕНОВАНИХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТІВ – Рання некректомія з закриттям рани фотооксигенованими ліофілізованими ксенодермотрансплантатами призводить до зниження ступеня запального процесу в рані, сприяє епітелізації поверхневих опіків під ними, створює умови для повноцінної регенерації, зменшує рубцевотворення та скорочує терміни стаціонарного лікування.

РЕГЕНЕРАТОРНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ОЖГОВОЙ РАНЕ У БОЛЬНЫХ С ДЕРМАЛЬНЫМИ ОЖГАМИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ФОТООКСИГЕНИРОВАННЫХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТОВ – Ранняя некректомия с закрытием ран фотооксигенированными лиофилизированными ксенодермотрансплантатами приводит к снижению степени воспалительного

процесса в ране, благоприятствует эпителизации поверхностных ожогов под ними, создает условия для полноценной регенерации, уменьшает возникновение шрамов, сокращает термны стационарного лечения.

REGENERATIVE PROCESSES IN BURN WOUND AT PATIENTS WITH DERMAL BURNS AT APPLICATION OF PHOTOOXYGENATED XENODERMOTRANSPLANTS – Early necrectomy with closing of wounds by photooxygenated lyophilized xenodermotransplants leads to decreasing of inflammatory process in the wounds, promotes epithelization of superficial burns under them, creates conditions for full regeneration, decreases scar formation and shortens terms of hospital treatment.

Ключові слова: фотооксигеновані ліофілізовані ксенодермотрансплантати, некректомія.

Ключевые слова: фотооксигенированные лиофилизированные ксенодермотрансплантаты, некрэктомия.

Key words: photooxygenated lyophilized xenodermotransplants, necrectomy.

ВСТУП В основі традиційного методу лікування дермальних опіків з використанням волого-висихаючих та мазевих пов'язок лежить самостійне відторгнення некротичних тканин, тривале очищення ран та їх самостійна епітелізація [4, 9].

Після самостійного відторгнення некротичних тканин в рані утворюються грануляції, основу яких складає фіброзний шар, товщина якого зростає у міру тривалості наявної рани. Раннє відновлення шкірного покриву після травми веде до зменшення росту грануляцій в рані та грубих деформуючих рубців [7]. В зв'язку з цим, пошук нових методів лікування дермальних опіків, який не допускав би виникнення та формування грануляцій в рані, як майбутньої основи післяопікових рубців та деформацій, є актуальним.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ На сьогодні в Україні широко впроваджується раннє оперативне лікування обпечених [5, 11]. З метою тимчасового закриття ран використовують ліофілізовані ксенодермотрансплантати [2, 8, 10], в тому числі збагачені активними формами кисню, що призводить до підвищення адсорбційних, антиоксидантних та антимікробних властивостей ксенодермотрансплантата [3].

Некрэктомія опікового струпа, виконана через 1-2 доби після травми з одномоментним закриттям рани фотооксигенованими замінниками шкіри, часто є першою і останньою операцією у хворих з дермальними опіками.

36 хворим з дермальними опіками проводили ранню некрэктомію з використанням для закриття ран фотоактивованих ліофілізованих ксенодермотрансплантатів. Контрольну групу склали 28 хворих з дермальними опіками, у яких некроз відходив самостійно з наступною самостійною епітелізацією ран. Цій групі хворих лікування проводили традиційним методом з використанням волого-висихаючих та мазевих пов'язок. Останні накладали щоденно з антисептиками або водорозчинними мазями.

У хворих з дермальними опіками, яким в лікуванні застосовували фотооксигеновані ксенодермотрансплантати, на 1-2 добу добу після травми опікові поверхні обробляли антисептиками, видаляли міхурі і некротично змінену шкіру. При опіках IIIA ступеня видалення струпа проводили за допомогою скальпеля або дерматома до появи кров'яних виділень з наступним промиванням рани розчинами антисептиків і висушуванням марлевими серветками. Після проведеного ретельного очищення рани на них накладали розмочені в фізіологічному розчині з антибіотиками фотооксигеновані ліофілізовані ксенодермотрансплантати. Перша перев'язка проводилася через 2-3 дні.

Морфологічні дослідження біоптатів з ран проводили на 1-2, 7-8, 12-14, а у контрольної групи хворих ще і на 19-21 добу після травми.

Перед забором матеріалу оглядали опікову поверхню, визначали стан опікового струпа і наявність гнійних ускладнень у ділянці рани. При щоденному огляді звертали увагу на щільність прилягання ліофілізованих ксенодермотрансплантатів до рани та ступінь прояву місцевих змін.

Препарати вивчали у світлооптичному мікроскопі JENA MED і документували за допомогою мікроскопа МБИ-6.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Результати дослідження показали, що у хворих контрольної групи наявні скарги на біль в опікових ранах, порушення сну, відсутність апетиту. Відмічалось підвищення температури тіла до 38-39 °С протягом перших 10-12 діб. Перев'язки супроводжувались болем, серозно-гнійними виділеннями. Хворі були малорухливими, вимагали сторонньої допомоги. Нормалізація стану хворих відбувалася на 12-16 добу після самостійного відторгнення некротичних тканин.

Гістологічні дослідження біоптатів з ран, отриманих через 1-2 доби після опіків II-IIIА ступенів, свідчили про значні зміни епідермісу і дерми. Спостерігалися глибоке ураження епідермоцитів, набряк міжклітинної речовини, сосочкового шару дерми, мікроциркуляторні розлади у вигляді стазів у гемокапілярах. Волокнисті структури були гіалінізовані, місцями злиті в суцільну безструктурну масу, інтенсивно зафарбовувалися основними барвниками. У деяких ділянках колагенові волокна некротизовані. Сітчастий шар значно набряклий, волокна його втрачали чіткість структурної організації. Підшкірний жировий шар теж набряклий. Епітеліоцити волосяних фолікулів і сальних залоз дистрофічно і некротично змінені. Лейкоцитарна реакція виражена слабо.

На 7-8 добу зона некротичних змін розширилася за рахунок мікроциркуляторних розладів. Більш вираженим був набряк тканин. Колагенові волокна за Ван-Гізон фарбувалися переважно пікриннофільно. Судини різного калібру в поверхневих шарах опікової рани були наповнені гемолізованими еритроцитами, а в глибоких – скупченнями плазми й агрегатами еритроцитів. У артеріях малого калібру спостерігалися потовщення стінок і значний периваскулярний набряк. Волокнисті структури дерми місцями гомогенізовані й інфільтровані лейкоцитами. Під некротичними тканинами відзначалися великі скупчення колоній мікробів.

На 12-14 добу після опіків на препаратах спостерігали некротично змінені епітеліоцити, десквамацію всіх шарів епідермісу, втрату чіткості та руйнування базальної мембрани. На фоні значних порушень судин мікроциркуляторного русла спостерігався набряк і просвітлення аморфної речовини. У крайових ділянках поверхневих опікових ран контрольної групи хворих процеси заживлення опікової рани відбувалися повільно. Регенерація епітелію характеризувалася вираженими явищами акантозу. Часто в сполучній тканині, яка формувалася, зустрічалися ділянки міжклітинної інфільтрації, сосочковий шар був слабоваскуляризованим, в ньому зустрічалася збільшена кількість лімфоцитів, макрофагів, фібробластів, рихло розміщених колагенових волокон. Під некротичними тканинами відзначалися значне скупчення колоній мікробів. В цей період проходило самостійне відторгнення некротичних тканин.

На 21 добу відмічено епітелізацію опікової поверхні.

Загальний стан хворих основної групи, лікування яких проводили з використанням фотоактивованих ліофілізованих ксенодермотрансплантатів був значно кращим. Не відмічався біль в ранах, не було серозно-гнійних виділень, плазмо- та крововтрати.

На 7-8 добу опікової хвороби відмічалось висихання ксенодермотрансплантатів по краях рани, під ними розпочиналася епітелізація ранової поверхні. В інших ділянках рани ксенодермотрансплантати були фіксованими на рані.

Гістологічні зміни біоптатів у цих хворих на 7-8 добу після травми проявлялися кращою збереженістю структурних елементів стінки судин і менш вираженими змінами в сполучно-тканинній стромі ранового осередку. Проте була наявна оксифілія цитоплазми клітин росткового шару епідермісу, каріопікноз і каріолізис, порушення міжклітинних зв'язків і десквамація поверхневих шарів епітелію. В дермі відмічалось розширення багатьох гемокапілярів сосочкового шару, часткова гомогенізація колагенових і еластичних волокон, набряк основної речовини сполучної тканини.

При огляді зони ураження клапти ксеноскіри залишалися щільно фіксованими на ранах, без проявів серозно-гнійного запалення.

На 10-12 добу після травми наступало повне відторгнення ксенодермотрансплантатів і ранова поверхня була вкрита епітеліальним регенератом. При опіках IIIA ступеня не спостерігали повного некрозу дерми шару. Проходила повноцінна епітелізація даних ділянок рани.

Епітелізація ран у хворих основної групи в середньому проходила швидше на 6,4 ліжко-дня порівняно з хворими контрольної групи.

Таким чином, проведені морфологічні дослідження підтверджують клінічну ефективність запропонованого способу лікування. Використання фотооксигенованих ксенодермотрансплантатів для тимчасового закриття опікових ран призводить до зменшення ступеня запального процесу в рані, епітелізації поверхневих опіків під ними, поліпшення крайової й острівкової епітелізації ран, створення умов для повноцінної регенерації, що в остаточному підсумку прискорює видужання обпечених.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бигунок В.В., Смрщок Ю.С. Ультраструктура микроциркуляторного русла раневого очага у обожжених // Обл. конф. "Применение электронного микроскопии в медицине." – Ивано-Франковск, 1989. - С. 11.
 2. Бигунок В.В., Смрщок С.А. Применение ксенотрансплантатов из свиной кожи при лечении обожженных // Клини. хирургия. – 1986. – № 3. – С. 49-51.
 3. Бигунок Т.В., Гуда Н.В., Хаба Т.П. Фотоактивация ксенодермо-трансплантатов. Матеріали 21 з'їзду хірургів України. Запоріжжя, 2005. – Т. 2. – С. 8.

4. Вихриев Б.С., Бурмитров В.М. Ожоги – Л.: Медицина, 1986. – 256 с.
 5. Коваленко О.М. Влияние раннего хирургического лечения на перебои опікової хвороби. Автореф. дис... канд. мед. наук: 14.01.03 – К., 2002. – 20 с.
 6. Ковальчук О.Л. Возможности восстановления утраченного кожного покрова в обпечених хворих: Автореф. дис... канд. мед. наук: 14.01.03 / Винницький держ. мед. універ. ім. М.І. Пирогова. – Вінниця, 2000. – 20 с.
 7. Рудковский В., Назилевский В., Зиткевич К. Теория и практика ожогов: Перевод с англ. – М.: Медицина, 1980. – 376 с.
 8. Савчин В.С. Ліофілізовані ксенодермотрансплантати в комплексному лікуванні опіків у дітей: Автореф. дис... канд. мед. наук: 14.01.03 / Тернопільська держ. мед. акад. ім. І.Я. Горбачевського. – Т., 1998. – 19 с.
 9. Смрщок С.А., Царенко А.В., Волков К.С. и др. Ультраструктурные основы некробиотических поражений внутренних органов при тяжелых термических ожогах // V конф. по проблеме термических поражений: Тез. докл. – Горький: НИИТО, 1986. – С. 138-140.
 10. Сологуб В.К., Донецкий Д.А., Борисов В.Г., Яковлев Б.Г. Биологическая повязка из перфорированной свиной кожи // III Всесоюз. конф.: Современные средства первой помощи и методы лечения ожоговой болезни: Тез. докл. – М., 1986. – С. 75-76.
 11. Таран В.М. Обґрунтування доцільності проведення, методика виконання та ефективність раннього хірургічного лікування хворих з опіками: Автореф. дис... канд. мед. наук: 14.01.03 / Тернопільська держ. мед. акад. ім. І.Я. Горбачевського. – Т., 2001. – 19 с.

Гейленко О.А., Гомоляко І.В., Савицька І.М.

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ РУБЦЯ ПІСЛЯ ЕЛЕКТРОТЕРМОАДГЕЗІЇ ПЕЧІНКИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Інститут хірургії та трансплантології АМН України, м. Київ

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ РУБЦЯ ПІСЛЯ ЕЛЕКТРОТЕРМОАДГЕЗІЇ ПЕЧІНКИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ – Особливості формування сполучнотканинного рубця в зоні крайової резекції печінки методом електротермоадгезії (ЕТА) вивчали на двох експериментальних моделях: стресової моделі артеріосклерозу та моделі експериментальної гіперглікемії. Особливості, що були відмічені в процесі формування рубця в групах з експериментальною патологією були пов'язані з характером викликаних порушень. Сформований рубець був тонким, еластичним, без формування надлишкової сполучної тканини. Динаміка формування рубця в II групі була дещо прискорена, а в III групі – уповільнена відносно контролю.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ РУБЦА ПОСЛЕ ЭЛЕКТРОТЕРМОАДГЕЗИИ ПЕЧЕНИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ – Особенности формирования соединительнотканного рубца в зоне краевой резекции печени методом электротермоадгезии (ЭТА) изучали на двух экспериментальных моделях: стрессовой модели артериосклероза и модели экспериментальной гипергликемии. Отличия, которые были отмечены в процессе формирования рубца у групп с экспериментальной патологией были обусловлены характером вызванных нарушений. Сформированный рубец был тонким и эластичным, без образования избыточной соединительной ткани. Динамика формирования рубца во II группе была несколько ускоренная, а в III группе – замедленная относительно контроля.

MORPHOLOGICAL FEATURES OF SCAR FORMATION AFTER LIVER ELECTROTHERMOADHESION IN EXPERIMENT – Features of formation of connective-tissue scar in zone of regional liver resection by method of electrothermoadhesion (ETA) were studied on two experimental models: stressful model of arteriosclerosis and model of experimental hyperglycemia. Features to be with were marked during scar formation in groups with an experimental pathology were caused by character of the received infringements. Developed of a scar was thin and elastic, without formation of superfluous connective tissue. Dynamics of scar formation in the II-nd group was accelerated, and in the III-rd group – slowed concerning the control.

Ключові слова: печінка, електротермоадгезія, модель артеріосклерозу, модель гіперглікемії.

Ключевые слова: печень, регенерация, електротермоадгезия, стрессовая модель артериосклероза, модель гипергликемии.

Key words: liver, electrothermoadhesion, the model of arteriosclerosis, the model of hyperglycemia.

ВСТУП Розробка методів безшовного з'єднання тканин залишається актуальною для хірургії [2,3,10]. Метод електротермоадгезії або електротермоадгезії (ЕТА) м'яких тканин, розроблений спільно з Інститутом електрозварювання ім. академіка Є.О. Патона НАН України, є одним з найбільш перспективних [6,8]. Впровадження нового методу пов'язане з використанням теплової енергії для розсічення тканин, гемостазу та формування термоадгезивного з'єднання тканин в хірургічній рані. Його застосування в клініці виключає використання ниток, клеїв і інших хірургічних засобів, дає можливість скоротити час проведення хірургічних втручань, зменшити час кровотечі та пошкодження тканин порівняно з традиційними методами [8,9]. Ефективність ЕТА була неодноразово підтверджена в експериментах на здорових тваринах [6,9].

Метою проведених досліджень було вивчення особливостей репаративних процесів в печінці при застосуванні нового безшовного засобу з'єднання тканин методом ЕТА в умовах порушення місцевого кровообігу та обміну вуглеводів. Для цього були відтворені дві моделі: стресова модель артеріосклерозу і модель експериментальної гіперглікемії, що дозволили простежити початкові стадії розвитку патології гемомікроциркуляції.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Дослідження були проведені на 45 білих щурах вагою 150-180 г. При роботі з тваринами дотримувались вимог "Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та робіт з ними" ДФЦ МОЗ України (Протокол №5 від 19.06.2002 р.). Тварини були поділені на 3 групи: I – контрольна: 12 здорових тварин, на яких були виконані операції крайової резекції печінки методом ЕТА; II – 15 тварин, яким відтворювали класичну стресову модель артеріосклерозу попереднім внутрішньовенним введенням 0,18 % розчину адреналіну гідротартрату з розрахунку 50 мкг/кг ваги тіла протягом 14 діб [4]; III – 15 тварин, яким відтворювали

модель експериментальної гіперглікемії попереднім внутрішньом'язовим введенням стрептоцидин-сульфату на фізіологічному розчині з розрахунку 15 мг/кг ваги тіла щоденно протягом 28 діб [5] під біохімічним контролем рівня цукру в крові. З тварини були інтактні.

Після закінчення введення зазначених препаратів по 3 тварини з II і III груп були виведені з експерименту для дослідження патологічного фону. Іншим щурам на 14 і 28 добу відповідно була здійснена резекція печінки методом ЕТА.

Евтаназія щурів здійснювалась передозуванням 5 % розчину тіопенталу натрію на 3, 7, 14, 21, 30 добу після хірургічного втручання. Ділянки печінки завтовшки 1 см із зони резекції фіксували у 10 % розчині формаліну, обробляли за загально прийнятною схемою. Зрізи товщиною 5 мкм забарвлювали гематоксилином та еозином, за Ван-Гізон, проводили PAS-реакцію і PAS-реакцію з використанням амілази [7]. Морфометричне дослідження - вимірювання товщини сполучнотканинного рубця в зоні резекції (мкм) та рівня глікогену (РГ) у гепатоцитах за оптичною щільністю (ум. од.) проводились при збільшенні ок 10 об 40 на мікроскопі БІММ Р-12 за допомогою відеоаналізатора та комп'ютерної програми "Paradise" (Україна). Вірогідність отриманих результатів оцінювали за методом Стьюдента [1].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Мікроскопічна будова печінки інтактних щурів була не змінена. Морфометричними дослідженнями було встановлено, що РГ в цитоплазмі гепатоцитів за даними визначення оптичної щільності становив (13,38±0,24) ум. од.. Дані вимірів у цій групі були прийняті за 100 % (норму) та становили вихідний рівень для тварин I групи.

У щурів II і III груп введення відповідних препаратів призвело до появи в печінці дифузних порушень гемомікроциркуляції, які супроводжувались різким розширенням, повнокрів'ям та стазами у синусоїдних капілярах, підвищенням судинної проникності, периваскулярним набряком у порталних трактах, активацією печінкових макрофагів. У гепатоцитах відмічались нерівномірні виражені ознаки зернистої та білково-гідроїдної дистрофії, зниження РГ у гепатоцитах тварин II групи до 56,34 % і III групи до 32,62 % від норми. Отримані дані були прийняті за вихідні для тварин II і III груп.

Після резекції печінки методом ЕТА навколо зони коагуляційного некрозу, що утворювалась на поверхні резектованої ділянки у всіх групах тварин формувалась грануля-

ційна тканина. Проте процеси її формування, а саме проліферативна активність клітин сполучної тканини, їх співвідношення, процеси колагеноутворення проходили з деякими відмінностями, пов'язаними з характером विकликаних порушень.

Початок формування грануляційної тканини у ділянці резекції у всіх групах було відзначено на 3 добу. Вже в цей термін було помічено, що у тварин II групи процеси проліферації фібробластів і колагеноутворення в грануляційній тканині були більш виражені, ніж у I та III групах. На 7 добу зростання товщини прошарку грануляційної тканини в I і II групах відбувалось майже на однаковому рівні з незначною відмінністю в об'ємі новоутворених структур. Найбільш виражене збільшення товщини грануляційної тканини спостерігалось у тварин III групи. При цьому у всіх групах надлишкового зростання маси грануляційної тканини не спостерігалось. Грануляційна тканина в I і II групах порівняно з III групою була більш зріла, неоднорідна за структурою: її внутрішній прошарок на межі із збереженою паренхімою більш структурований з упорядкованим розташуванням колагенових волокон і помірно щільний; зовнішній – на межі із зоною некрозу, більш пухкій, містив гігантські клітини сторонніх тіл. На окремих ділянках спостерігалось неглибоке вrostання фібробластів і гемокапілярів грануляційної тканини у зону некрозу. На 14 добу в I і II групах продовжувалось збільшення товщини новоутвореної сполучної тканини за рахунок активних процесів колагеноутворення, неоднорідність її структури зберігалась. В III групі такого зростання не відбувалось, навпаки, спостерігалось зменшення товщини сполучної тканини майже в 2 рази. Проте ступінь її зрілості в III групі була значно нижче, ніж в I і в II групах. На 21-30 добу у тварин усіх груп спостерігалось зменшення товщини сполучної тканини, але в I групі воно відбувалось менш помітно. При дещо рівному об'ємі сполучної тканини в II і в III групах ступінь її зрілості в II групі була вищою, ніж у I та III групах. На 30 добу в I і в II групах новоутворена сполучна тканина мала майже подібні морфологічні характеристики й істотно не відрізнялася за ознаками щільності та кількості колагенових волокон, але її об'єм в I групі був дещо більшим. В III групі зрілість сполучної тканини залишалася нижчою. Запальна інфільтрація у ділянці резекції у всіх групах була помірно виражена, слабшала на 14 добу. У I і II групах інфільтрація мала лімфоїдний характер, а в III групі, де відзначалася затримка розвитку сполучної тканини, була переважно нейтрофільною.

Таблиця 1. Динаміка змін ширини сполучнотканинного рубця (в мкм) в зоні крайової резекції печінки методом ЕТА після операції (n=36)

Групи спостережень	Терміни спостережень, за добами				
	3 доби	7 діб	14 діб	21 доба	30 діб
Група I/Контроль (здорові тварини)	45,0± 5,1	163,3± 24,8	270,0± 35,1	250,0± 28,9	166,7± 32,1
Група II (модель артерioskлерозу)	105,0 ± 10,6*	170,0 ± 14,2*	300,0 ± 38,5*	226,7 ± 28,2*	147,5 ± 10,9*
Група III (модель гіперглікемії)	12,0 ± 2,0*	350,0 ± 75,0*	175,0 ± 37,5*	162,5 ± 18,8*	125,0 ± 25,0*

Примітка. * - P розраховано відносно показників контрольних тварин (P<0,05).

ВИСНОВКИ Проведені дослідження показали, що при застосуванні методу ЕТА при резекції печінки здорових тварин і на фоні порушень гемомікроциркуляції в усіх тварин в зоні резекції спостерігалася тенденція до формування грануляційної тканини без надлишкового колагеноутворення. Особливості, які були відмічені в процесі її формування, а саме, більш раннє формування і дозрівання сполучної тканини рубця, що спостерігалось в II групі, свідчило про стимуляцію процесів відновлення в печінці в умовах стресу. В III групі загоєння рани відбувалось менш інтенсивно і повільніше, проте в цілому морфогенез рубцевої тканини призводив до утворення тонкого рубця.

Таким чином, проведені експериментальні досліджен-

ня дають підстави вважати, що місцеві порушення кровообігу та порушення обміну вуглеводів, які досить часто спостерігаються у пацієнтів хірургічної клініки, суттєво не впливають на кінцевий результат електротермоадгезії. Рубець, який утворювався у експериментальних тварин був тонким, еластичним, без формування надлишкової сполучної тканини. Динаміка формування рубця в II групі дещо прискорена, а в III групі уповільнена відносно контролю.

Література

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. - М.: Медицина, 1990. - 384 с.
2. Белов С.В. Применение физических методов в хирургии // Мед. техника. - 1994. - № 4. - С. 11-14.

3. Брюсов П.Г., Кудрявцев Б.П. Плазменная хирургия. М.: Медицина. – 1995. – 117с.
 4. Досенко В.Е. Влияние препарата флогэнзим на состояние эластической системы аорты кроликов при моделировании артериосклероза // Труды симпозиума по системной энзимотерапии. – К., – 1998. – С. 44-53.
 5. Клочков Е.И., Гомоляко И.В. Моделирование сахарного диабета с использованием больших доз стрептомицина // Клінічна хірургія. – 1996. – № 2-3. – С. 65.
 6. Ляшенко А.А., Фурманов Ю.А. Бесшовные методы выполнения опе-

раций на органах пищеварения в клинике и эксперименте // Клиническая хирургия. – 1999. – № 4. – С. 49-52.
 7. Луппа Х. Основы гистохимии. – М.: Мир. – 1980. – 343 с.
 8. Ничитайло М.Е., Фурманов Ю.А., Литвиненко А.Н., Ляшенко А.А. Применение метода электротермоагезии в билиарной хирургии // 36. наук. пр. співробітників КМАПО ім. П.Л. Шупика. – К., – 2000. – Вип.9. – Т. 4. – С. 386-388.
 9. Фурманов Ю.А., Ляшенко А.А. Соединение биологических тканей с помощью электросварки // Клінічна хірургія. – 2000. – № 1. – С. 59-61.
 10. Mals L.I. Electrosurgery. Technical note // J.Neurosurg. – 1996. – Vol. 85. – №5. – P. 970-975.

**Гортинська О.М., Карпенко Л.І., Моїсеєнко О.С., Романюк К.А., Будко Г.Ю.
 ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕАКЦІЇ ДОВГИХ КІСТОК СКЕЛЕТА В УМОВАХ
 СПОЖИВАННЯ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

Медичний інститут Сумського державного університету

ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕАКЦІЇ ДОВГИХ КІСТОК СКЕЛЕТА В УМОВАХ СПОЖИВАННЯ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ – В роботі вивчений вплив солей цинку, хрому та свинцю на ріст та будову довгих кісток скелета. Вивчалась остеометрія кісток, гістологічна будова середини діяфізу та проксимального наросткового хряща з наступною їхньою морфометрією, яка проводилась за стандартною методикою. Виявлені зміни свідчать про затримку поздовжнього росту кісток та зміни їх будови у вигляді появи дистрофічних та деструктивних змін. В період реадaptaції не відбувається повного відновлення ростових та гістологічних показників кісткової тканини.

ГІСТОМОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ДЛИННЫХ КОСТЕЙ СКЕЛЕТА В УСЛОВИЯХ УПОТРЕБЛЕНИЯ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ – В работе изучено влияние солей цинка, хрома и свинца на рост и строение длинных костей скелета. Изучалась остеометрия костей, гистологическое строение диафиза и эпифизарного хряща с последующей их морфометрией, которую проводили по стандартной методике. Выявленные изменения свидетельствуют о задержке продольного роста костей и изменении их строения в виде дистрофических и деструктивных изменений. В период реадaptaции не происходит полного восстановления ростовых и гистологических показателей костной ткани.

HISTOMORPHOMETRIC FEATURES OF SKELETAL LONG BONES UNDER CONDITIONS OF HEAVY METAL SALTS USAGE – The influence of salts of zinc, chrome and plumbum on growth and structure of long bones of skeleton was investigated by means of morphometrical, histological and histochemical means. Structure of diaphysis and epiphyseal cartilage was studied against a background of intrauterine influence of hydrocortisone. The revealed changes testify to a delay of longitudinal growth of bones and change of their structure as dystrophic and destructual changes. In the readaptation period there is no complete restoration of growth and histological parameters of the osseous tissues.

Ключові слова: довгі кістки, гістоморфометрія, хімічний склад, солі важких металів.

Ключевые слова: длинные кости, гистоморфометрия, химический состав, соли тяжелых металлов

Key words: long bones, histomorphometria, chemical composition, heavy metals salts.

ВСТУП В умовах сьогодення великого значення набуває вивчення стану навколишнього середовища та вплив шкідливих факторів та організм людини. На сьогоднішній зв'язок розвитку патології дихальної, серцево-судинної, сечовидільної та інших систем організму із станом екології певних регіонів. Поряд з цим, відбувається ріст захворюваності опорно-рухового апарату, зокрема остеопоротичних змін кісток та їх наслідків у вигляді компресійних переломів хребців, переломів шийки стегна тощо [1,2,3]. Все це призводить до величезних економічних збитків та втрати працездатності чи інвалідації суб'єктів. Особливе занепокоєння викликає ріст даної патології серед осіб працездатного віку, що спонукає до пошуку причин даної патології та шляхів її профілактики [6,7]. На сьогоднішній доведений прямий зв'язок розвитку остеопорозу з рівнем

вживання кальцію, інсоляцією, іонізуючим випромінюванням та іншими природними і екоантропогенними чинниками. Але залишається багато факторів, які можуть мати вплив на функціонування кісткової тканини, але вивчені недостатньо [5, 8,9].

Солі важких металів, як забруднювачів навколишнього середовища, є дуже поширеними на території нашої держави. В літературі є достатньо даних щодо їх впливу на нирки, печінку, ендокринні залози. Їх дія полягає у порушенні функціонування ферментних систем та розвитку структурних змін у тканинах. Даних щодо їх впливу на кісткову систему в доступній літературі недостатньо та вони часом суперечливі [1,2]. Все це обумовлює необхідність ґрунтовного вивчення змін у кістковій тканині в умовах підвищеного споживання солей важких металів.

Мета роботи. Метою даного дослідження є вивчення будови та хімічного складу довгих кісток скелета в умовах споживання солей цинку, хрому та свинцю, які містяться в водоймах Шосткінського району Сумської області і простежити реадaptaційні зміни в кістковій тканині.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ В експерименті були задіяні 76 щурів-самців 3-місячного віку, яких розділили на 2 серії. Першу серію склали інтактні тварини. Другій серії з питною водою протягом місяця додавали солі цинку ($ZnSO_4 \times 7H_2O$) – 5мг/л, хрому ($K_2Cr_2O_7$) – 0,1мг/л і свинцю ($Pb(CH_3COO)_2$) – 0,1мг/л. Ці дози визначаються у воді та ґрунті Шосткінського району Сумської області (згідно з “Доповіддю про стан навколишнього природного середовища в Сумській області у 2000 році”, виданої Міністерством екології та природних ресурсів України, Державним управлінням екології та природних ресурсів у Сумській області, яка є складовою частиною “Національної доповіді про стан навколишнього природного середовища в Україні у 2000 р.”).

Групи піддослідних тварин виводилися з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом через 1, 7, 14, 21 та 28 діб. На дослідження забирали великогомілкової кістки, проводили їх остеометрію за W. Duerst, гістологічне дослідження середини діяфізу та наросткового хряща з наступною їх морфометрією.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Через добу після закінчення експерименту ми бачимо помітне відставання довжини кістки на 12,7 % та ширини проксимального і дистального епіфізів відповідно на 9,3 та 12,6 % порівняно з контролем. Натомість відбувається приріст ширини та передньозаднього розміру середини діяфізу на 13,8 та 11,4 %. Через тиждень зазначені зміни зростають і різниця з контролем складає відповідно 14,2, 11,8, 15,1, 16,5 та 13,7 %. Починаючи з другого тижня, відбувається зменшення різниці з контролем, що вказує на акти-

вацію відновлювальних процесів в кістковій тканині, але навіть через місяць різниці з інтактними тваринами є достовірною і складає відповідно 6,8, 5,3, 7,4, 6,2 та 6,5% (рис.1).

Гістоморфологічні дослідження діафізу та наросткового хряща експериментальних тварин показали значний остеотоксичний ефект солей важких металів. Так звуження ширини остеонного шару на 16,5 % через 1 день, на 18,7 % через 7 днів, на 15,2 % через 14 днів, на 12,3 % через 21 день та на 8,5 % через місяць після закінчення експерименту супроводжується його відтисненням до ендостального шару. Ділянки мозаїчного звапнення великі за розміром та займають всі шари діафізу. Вогнища остеокластичної резорбції, розміщені переважно в ендостальному та остеонному шарі, заповнені остеоїдом та сполучною тканиною. В структурі остеонної зони переважають вторинні остеони з різко розширеним каналом. Морфометрично виявляється звуження діаметру остеонів відповідно до строків спостереження на 14,6, 16,4, 12,2, 10,3, 7,4 та розширення на 12,3, 14,8, 13,1, 9,4 та на 8,2% гаверсових каналів. Остеоцити майже не сприймають барвники і затоки, що містяться зливаються, утворюють додаткові порожнини, руйнуючи компактність кістки. Біля періосту майже відсутні остеобласти, помітні розриви між пластинками та товсті чисельні лінії склеювання. Зона періосту розширена через 1 добу на 11,7 %, через 7 днів – на 13,6 %, через 14 днів - на

13,1%, через 21 день – на 11,9 % та через 28 днів на 10,8%. Ендостальний шар представлений уламками кісткових пластинок, що не повністю охоплюють кістково-мозкову порожнину та мають численні розриви та порожнини резорбції.

Через 21 та 28 днів відбувається поліпшення структури діафізу: зменшується площа мозаїчних ділянок звапнення та порожнин резорбції, що виповнені в основному остеоїдом та грубоволокнистою кістковою тканиною. Збільшується кількість вторинних остеонів, хоча переважають первинні (рис. 2). Але морфометричні показники все ще достовірно відрізняються від інтактних тварин.

Наростковий хрящ тварин даної серії звужений через 1 день на 19,8 %, через 7 днів - на 21,4 %, через 14 днів - на 18,9 %, через 21 день - на 14,36 % та через 28 днів - на 11,25%. Ростова пластинка має нерівні хвилясті контури та порушену будову (рис. 3) Індиферентна зона представлена 1-2 рядками клітин, що не реагує на екзогенний вплив. Хондроцити проліферативної зони утворюють нечіткі стовпчики, що орієнтовані в різних площинах та під кутом один до одного. Сполучна речовина, вміст якої значно збільшений, відокремлює стовпчики та часто цілі групи хондроцитів, руйнуючи структуру хряща. Більшість клітин сплюсненої форми без виражених фігур мітозу, деякі з них вакуолізовані, зі зруйнованою оболонкою та ядром (рис. 3). Ширина зони менша за контроль через добу на 22,6 %, через 7 днів – на 25,3 %, через 14 днів - на 19,1 %, через 21

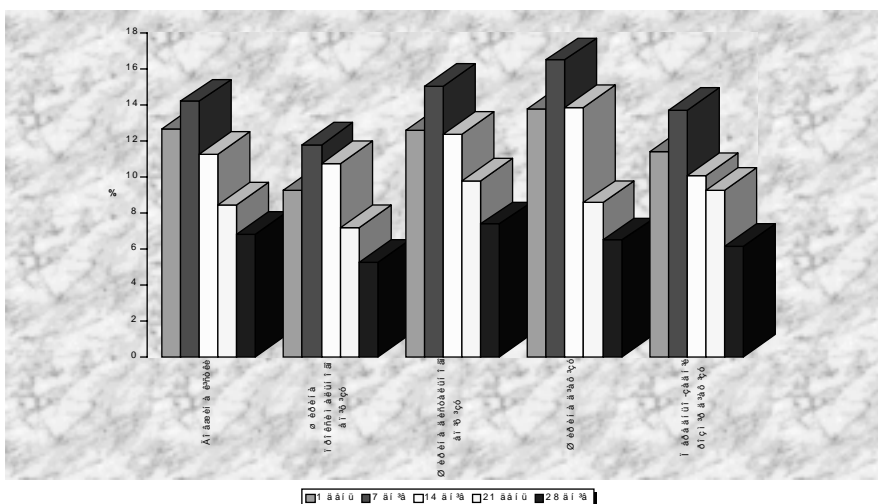


Рис. 1. Остеометричні показники великогомілкової кістки в умовах споживання солей важких металів протягом місяця.

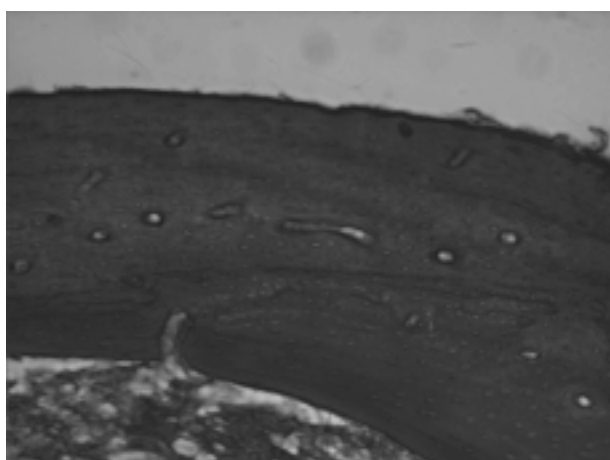


Рис. 2. Діафіз великогомілкової кістки експериментальних тварин на 28 добу після закінчення експерименту.

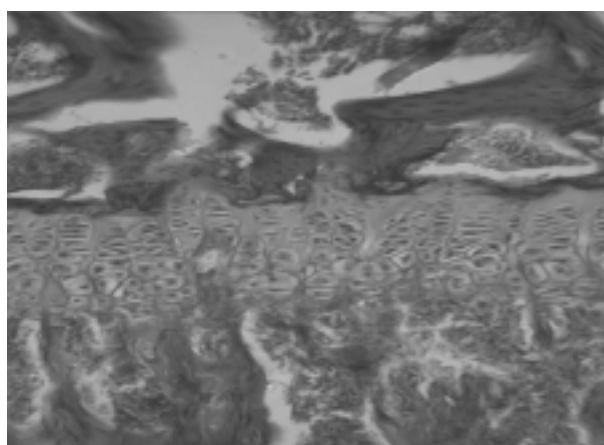


Рис. 3. Проксимальний наростковий хрящ великогомілкової кістки експериментальних тварин через добу після закінчення експерименту.

день - на 14,4 % та через 28 днів - на 10,7 %. Звужений дефінітивний хрящ (1 день - на 16,6 %, 7 днів - на 17,1 %, 14 днів - на 13,3 %, 21 день - на 10,2 %, 28 днів - на 7,7 %) представлений конгломератами напівзруйнованих хондроцитів, розміщених у великому масиві сполучної речовини. Шар деструкції в даний термін має вигляд поодиноких клітин, що розкидані в ділянках сполучної речовини та вогнищах грубоволокнистої кісткової тканини. Зустрічаються поодинокі вогнища асептичних некрозів, що вірогідно пов'язано із циркуляторною гіпоксією. Утворення кісткового матриксу різко сповільнене.

Негативні зміни у структурі ростової зони на 21 добу спостереження дещо покращуються. Знижується кількість сполучної речовини та атипичних хондроцитів, на деяких препаратах відмічена стовпчастість розміщення хрящових клітин. Але навіть через 28 днів структура наросткового хряща не повертається до норми, що вказує на глибокі зміни у ростовій зоні та потребує застосування корегуючих засобів.

ВИСНОВКИ та перспективи подальших досліджень. Споживання підвищеної кількості солей важких металів протягом місяця призводить до затримки росту довгих кісток скелета, яка відбувається за рахунок порушення будови та морфометричних показників діафізу та наросткового хряща. В період реадптації відбувається поступове покращення всіх показників росту та будови кісток, але не

відбувається остаточного відновлення структури кісткової тканини, що потребує розробки шляхів корекції та профілактики зазначених змін.

ЛІТЕРАТУРА

1. Пикалюк В.С., Довгалюк Т.Я., Родіонова Н.В., Пилипчук В.В. Структурно-функціональні зміни в кістках скелета при дії на організм сполучної речовини // Український медичний альманах. - №1. - 2000. - С.44-45.
2. Довгалюк Т.Я., Пикалюк В.С., Кмітова Р.О., Лавренко В.Є. Свинцева інтоксикація та її вплив на кісткову систему // Український медичний альманах. - 2001. - №2. - С.48-49.
3. Доповідь про стан навколишнього природного середовища в Сумській області у 2000 році. - Суми: Видавництво "Джерело" 2001. - 178с.
4. Дедух Н.В. Структурно-функціональна організація тканин опорно-двигательної системи // Ортопедия, травматология и протезирование. - 1994. - №4. - С. 89.
5. Ковешников В.Г., Абакар М.Х., Лузин В.И. Скелетные ткани: хрящевая ткань, костная ткань. - Луганск, Изд-во Луганского медуниверситета, 2000. - 154 с.
6. Дедух Н.В., Горивова Л.Д., Романенко К.К. Морфологичні аспекти та медикаментозна терапія остеопорозу // Клінічна фармація. - 1999. - Т.3, №1. - С.57-62
7. Франке Ю., Рунге Г. Остеопороз. - М.: "М" 1995. - 299с.
8. Подрушняк Е.П. Остеопороз - проблема века. - Симферополь: Одиссей, 1997. — 216с.
9. Некачалов В.В. Патология костей и суставов / Руководство. - С.Пб.: Сотис, 2000. - 288 с.

Рузибаев Р.Ю.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПРИЦЕЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЯЗВЫ ЖЕЛУДКА У КРЫС. I ЧАСТЬ

Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ПРИЦІЛЬНЕ МОДЕЛЮВАННЯ ВИРАЗКИ ШЛУНКА В ЩУРИВ. I ЧАСТИНА – Шляхом введення в підслизову основу шлунка щура 0,1 мл формаліну в концентрації 1:10 викликали експериментальну прицільну виразку за моделлю Шейя. Експериментальна виразка створена для подальшого виконання хірургічного лікування виразкової хвороби.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПРИЦЕЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЯЗВЫ ЖЕЛУДКА У КРЫС. I ЧАСТЬ – Путем введения в подслизистую основу желудка крысы 0,1 мл формалина в концентрации 1:10 вызывали экспериментальную прицельную язву по модели Шейя. Экспериментальная язва создана для дальнейшего проведения хирургического лечения язвенной болезни.

THE EXPERIMENTAL TARGET ULCER MODELLING IN RAT STOMACHS. PART I – The experimental target ulcer has been modelled according to Shey by 0,1 ml formalin injection with concentration 1:10 into the mucous basis of a rat stomach. The experimental ulcer has been modelled for further ulcerous disease surgical treatment.

Ключові слова: щури, експеримент, виразка за моделлю Шейя.

Ключевые слова: крысы, эксперимент, язва по модели Шейя.

Key words: rats, experiment, ulcer according to Shey model.

ВСТУПЛЕНИЕ. Язвенная болезнь – достаточно распространенное, преимущественно мужское заболевание, в экономически развитых странах от нее страдают 6-10 % взрослого населения. Проблема язвенной болезни гастродуоденальной зоны в настоящее время полностью сохраняет свою актуальность, как в теоретическом, так и практическом направлении. Поиск новых методов профилактики и лечения язвенной болезни желудка (ЯБЖ) и двенадцатиперстной кишки (ДПК) нуждается в разработке адекватной экспериментальной модели заболевания [6]. Известно, что ЯБЖ и ДПК - заболевание, присущее исключительно человеку, ни один из видов животного мира ему не подвержен. Однако «коварный человек» человек нашел много способов воспроизведения экспериментальных язв желудка (ЯЖ) и ДПК

в искусственных условиях у представителей различных видов животных, таких как обезьяны, собаки, крысы, морские свинки, хорьки, мыши и т.д. [1, 2, 3]. Особо надо отметить, что зарубежные исследователи все больше в качестве подопытных животных стали использовать крыс. Выбирая крыс для экспериментальных исследований, авторы исходят из того, что при этом предоставляется возможность на количественно большом материале изучить и сопоставить полученные данные [4]. ЯЖ и ДПК у крыс можно вызвать различными способами - нарушением режима питания, воздействием различных стрессоров, введением различных химических веществ, а также гормонов. Но ни один экспериментатор, изучающий язвенную болезнь (ЯБ) не берет ее утверждать, что именно его модель ЯЖ или ДПК полностью соответствует форме заболеваний, встречающихся в практике [5].

Цель исследования состояла из двух этапов. Первый этап - изучение макроскопического строения желудка крыс, разработать прицельное язвообразование в разных отделах желудка и ДПК. Второй этап - в дальнейшем применять различные методы хирургического устранения язвенного процесса в зависимости от локализации. В данной статье приведены результаты только первого этапа.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Опыты проводились на 257 половозрелых беспородных белых крысах с массой 150-200г. Учитывая, что ЯБ часто мужское заболевание выбрали крыс-самцов. Первая группа крыс в количестве 57 служили контрольной группой, у 200 крыс второй группы вызывали нацеленную язву. За 12 часов до начала эксперимента животным не давали еду, и 6 часов воду. Операционная подготовка включала в себя наркотизацию животных введением в брюшную полость 0,1 мг каллипсола на 100г веса. Перед лапаротомией удаляли шерсть на операционном поле, обрабатывали йодом. Разрез начи-

нали от мечевидного отростка вниз по белой линии живота длиной 2 - 2,5 см. Из-за значительной подвижности желудка, его легко анатомическим пинцетом подтягивали наружу через рану.

Крысам контрольной группы (I группа) в подслизистую желудка вводили 0,1 мл 0,9 % физиологического раствора, крысам опытной группы (II группа) 0,1 мл формалина в концентрации 1:10 в разные отделы желудка и ДПК в зависимости от запланированного оперативного вмешательства в дальнейшем. Желудок опустили в брюшную полость, для предупреждения послеоперационного осложнения на рану сыпали порошок пенициллина и брюшную полость ушивали шовным материалом на атравматической игле через все слои наглухо.

Результаты исследований и их обсуждение. Прежде чем анализировать результаты мы решили коротко изложить анатомо-гистологические особенности строения желудка крысы в норме. Несмотря на внешнее сходство с человеческим желудком, крысиный отличается от него по своему строению (рис. 1).

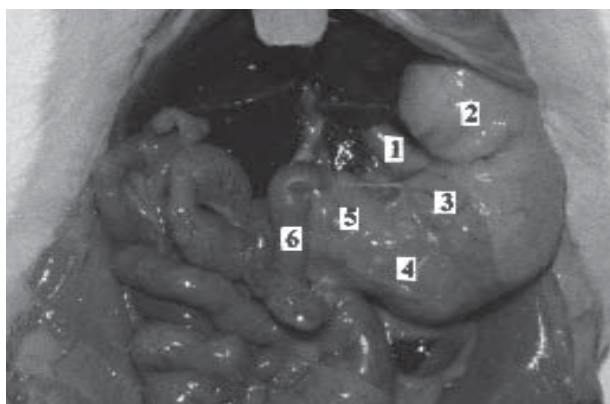


Рис. 1. Внешнее анатомическое строение желудка крысы: 1 – пищевод; 2 – преджелудок; 3 – кардиальная часть; 4 – дно или фундальная часть; 5 – пилорическая часть; 6 – двенадцатиперстная кишка

Объем желудка крысы массой 300 г в среднем составляет 3,0 – 4,0 мл и расположен в левой части живота. Пищевод (1) впадает в желудок посредине малой кривизны и то, что лежит влево от пищевода называется - преджелудком (2) или пищеводный отдел. Небольшой отдел в малой кривизне примыкающий к отверстию пищевода называется кардиальным (3), фундальный отдел, или дно (4), занимает большую часть желудка. Пилорический отдел (5) суживаясь, образует привратник и переходит к ДПК (6). Стенка желудка образована слизистым, подслизистым, мышечным и серозными слоями. Мышечные волокна желудка у места перехода пищевода в желудок и желудка в ДПК образуют менее выраженные сфинктеры. На границе между пищеводным и фундальным отделом расположен стык двух эпителиальных энто - и эктодермальных структур. Пищеводный отдел лишен секреторной деятельности, так как не содержит желез. В остальных отделах в толще слизистой оболочки расположены железы. На месте стыка располагаются простые трубчатые малоразветвленные железы. Кардиальная часть продуцирует секрет, не содержащий пищеварительные ферменты. Фундальные железы занимают наибольшую часть слизистой оболочки и построены по типу простых трубчатых желез - выделяют пепсин и соляную кислоту. Пилорические железы по сравнению с фундальными значительно короче и более разветвлены, вырабатывают слизистый секрет. Желудок крыс вырабатывает желудочный сок непрерывно, хотя в желудке может и не быть пищи.

В послеоперационном периоде по разным причинам, из 257 крыс погибли 47 (18,2 %). Летальность в послеоперационном периоде наступила в ранние сроки 1 - 7 суток. 14 (5,4 %) крыс после наркоза не восстановились. Остальные полностью восстановились в течение 4 - 7 часов после операции. В последующие сутки еще погибли 33 (12,8 %) крысы от перитонита и по неясным нам причинам. Подробные причины смертности крысы в группах приведены в табл.1.

Животных кормить начали через 24 часа легкими кормами, на обычный рацион вивария перешли через 96 часов. Через 10 суток волосяной покров на месте разреза брюшной стенки полностью восстановился. Анализируя изменения средней массы в группах в течение 10 дней, достоверного увеличения или уменьшения массы не наблюдали.

Таблица 1. Причины смертности крыс в послеоперационном периоде

Причина смерти	I группа (контроль), n = 57		II группа (опытная), n = 200		Всего, n = 257	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
От наркоза	3	5,2	11	5,5	14	5,4
Перитонит	2	3,5	8	4	10	3,9
Другие причины	4	7,0	19	9,5	23	8,9
Всего	9	15,7	38	19	47	18,2

Примененный нами метод язвообразования впервые разработан в 1945 г. Х. Шейем с сотрудниками и получил название «модель язвы желудка Шейя». Преимущества этого метода заключается в том, что в 100 % случаев происходит язвообразный дефект слизистой оболочки. Язвенный процесс (или воспалительный) имеют острое течение и через 7-10 дней можно проводить терапевтическое или хирургическое устранение язвы. Когда язва вызывается с введением реактивного агента *per os*, сам экспериментатор не знает, в каком именно отделе образовалась язва. Такие модели больше рассчитаны на консервативное лечение язвенного процесса. Модель Шейя дает возможность экспериментировать с различными методами лечения язвы хирургическим путем, апробированными в разных отделах желудка и ДПК. Еще одним преимуществом данной модели для хирургического лечения этой патологии является образование на месте язвы рубца. Спустя 30 - 40 дней,

благодаря развитию восстановительных процессов язва исчезает, на месте отмечается рубцовое утолщение тканей, появляется «второй патологический процесс» - подобный пилоростенозу или стенозу ДПК.

Выводы. Прицельный способ моделирования язвы на 100 % обеспечивает образования язвы на желаемом участке желудка у всех животных. Создаются условия для применения определенных способов хирургического лечения ЯБ.

Заживление язвы и образование рубца также создает дополнительные условия для других хирургических лечений, после язвенных осложнений.

В дальнейшем запланировано на экспериментальных крысах, у которых моделировали ЯБ по Шейя, провести различные хирургические методы лечения и сравнить их результаты, о чем будет сообщено в следующих статьях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амиров Н.Ш., Трубицына И.Е. Ферментативные механизмы в этиопатогенезе желудочного язвобразования // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2005. - № 1. - С. 46-55.
 2. Гамбарян П.П., Дукельская Н.М. Крысы. - М.: Издательство «Советская наука». 1955. - 254. с
 3. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. Лабораторные животные. - К: «Вища школа». 1974. - 430 с

4. Копаладзе Р.А. Работа с лабораторными животными в контексте биоэтики - история, современность, перспективы // Успехи физиологических наук. - 2004. - Т. 35, № 2. - С. 92 - 109.
 5. Липовский С.М. Эндокринные железы и желудок. - Л.: «Медицина». 1969, 173 с.
 6. Мешишен І.Ф., Яремій І.М., Волошин О.І., Григор'єва Н.П. Модель ерозивно-виразкового ураження гастрододенальної зони // Експериментальна фізіологія та біохімія. - 2004. - № 2(26). - С. 27-29.

Кононенко В.С., Яворська О.В.

РЕФЛЕКТОРНІ ВПЛИВИ НА ВЕГЕТАТИВНИЙ ГОМЕОСТАЗ

Львівська національна академія ветеринарної медицини імені С.З. Гжицького

РЕФЛЕКТОРНІ ВПЛИВИ НА ВЕГЕТАТИВНИЙ ГОМЕОСТАЗ – На 45 бичках методом варіаційної пульсометрії вивчали типи автономної регуляції серцевого ритму, серед цих тварин виявлено 19 симпатикотоніків, 10 нормотоніків і 16 парасимпатикотоніків. Показано, що здійснення окуло-кардіального рефлексу відбувається з відмінностями, характерними для одного з визначених типів автономної регуляції серцевого ритму: закономірно змінюються частота серцевих скорочень та показник вегетативного балансу. У тварин-симпатикотоніків зміни вегетативного гомеостазу при застосуванні окуло-кардіального рефлексу перебігають за симпатикотонічним типом, в нормотоніків і парасимпатикотоніків спостерігають вагусний тип відповіді. Це свідчить про існування типологічних особливостей відповіді центрів автономної нервової системи на дію рефлекторного подразника.

РЕФЛЕКТОРНЫЕ ВЛИЯНИЯ НА ВЕГЕТАТИВНЫЙ ГОМЕОСТАЗ – На 45 бычках при помощи метода вариационной пульсометрии изучали типы автономной регуляции сердечного ритма. Среди этих животных обнаружено 19 симпатикотоников, 10 нормотоников и 16 парасимпатикотоников. Показано, что осуществление окуло-кардиального рефлекса сопровождается определенной динамикой показателей автономного гомеостаза характерной для одного из определяемых типов автономной регуляции сердечного ритма (закономерные изменения частоты сердечных сокращений и показателя вегетативного баланса). У животных-симпатикотоников изменения вегетативного гомеостаза, после осуществления окуло-кардиального рефлекса, протекают по симпатикотоническому типу, у нормотоников и парасимпатикотоников наблюдается вагусный тип ответа. Это свидетельствует о существовании типологических особенностей ответа центров автономной нервной системы на действие рефлекторного раздражения.

REFLECTIVE INFLUENCE ON VEGETATIVE HOMEOSTASIS – It was studied the type of autonomic regulation of cardiac rhythm on fourty – five bulls by the method of pulsemetria variabilities. It was found out nineteen sympathycotonics, ten normotonics and sixteen parasympatycotonics among these animals. It was shown that carrying out the oculo- cardiac reflex is manifesting with differences which are of firm character to one of the defined types of autonomous regulation of cardiac rhythm: the rate of cardiac contraction and the indices of vegetive balance are changed. In animals – sympathycotonics, changes of vegetative homeostasis at using oculo-cardic reflex manifest by sympathycotonic type, in normotonics and parasympatycotonics vagal type of answer is observed. It testifies about the existence of typologic peculiarities of answers of center of autonomous nervous system on the action of reflective exciter.

Ключові слова: рефлекс, вегетативний гомеостаз, автономна нервова система, тип автономної регуляції, вегетативний баланс.

Ключевые слова: рефлекс, вегетативный гомеостаз, автономная нервная система, тип автономной регуляции, вегетативный баланс.

Key words: reflex, vegetative homeosasis, of autonomous nervous system, type of autonomous rtgulatibn, vegetative balance.

Протягом останніх двадцяти років нами на кафедрі анатомії сільськогосподарських тварин проводяться роботи по вивченню механізмів регуляції функцій організму автономною нервовою системою, її ролі в забезпеченні основних закономірностей росту і розвитку тварин [4].

Особлива увага звертається на визначення і характеристики типів автономної регуляції функцій, які є відображенням активності тонуусу симпатичного і парасимпатичного відділів автономної нервової системи. Автономна регуляція функцій впливає на динаміку серцевого ритму, забезпечує рівень перебігу обмінних і трофічних процесів.

Типи автономної регуляції серцевого ритму вивчали методом варіаційної пульсометрії [1]. Цей спосіб отримав розповсюдження в медицині, особливо в кардіології [2]. Але для вивчення тонуусу центрів автономної нервової системи домашніх тварин цей метод був вперше впроваджений ними [5], що дало можливість визначити типи автономної регуляції функцій у сільськогосподарських тварин (симпатикотоніки, нормотоніки, парасимпатикотоніки).

Метою даної роботи було вивчення впливу здійснення окуло-кардіального рефлексу на частоту серцевих скорочень та рівень вегетативного балансу.

Як показано в наших попередніх дослідженнях [3] окуло-кардіальний рефлекс є простим і надійним тестом для визначення і вивчення типу автономної регуляції.

Досліди виконувались на 45 клінічно здорових бичках чорно-рябої породи, які були розділені за рівнем тонуусу центрів автономної нервової системи на симпатикотоніків, нормотоніків і парасимпатикотоніків. Як видно з таблиці №1, відтворення окуло-кардіального рефлексу характерно і закономірно впливає на динаміку серцевого ритму і величину показника вегетативного балансу (ПВБ).

Так у бичків-симпатикотоніків викликання окуло-кардіального рефлексу призводить до збільшення як частоти серцевих скорочень (ЧСС), так і підвищення ПВБ, що є особливістю реакції автономної нервової системи даної групи тварин на рефлекторний подразник.

Бички-парасимпатикотоніки при застосуванні даного рефлекторного впливу реагували достовірним зменшення величини ЧСС і ПВБ

У тварин-нормотоніків спостерігається аналогічний тип вагусної реакції, але виражений в меншій мірі (табл. №1).

Таблиця 1. Стан вегетативного гомеостазу організму піддослідних тварин

№ з/п	Показники	Симпатикотоніки	Нормотоніки	Парасимпатикотоніки
1	Кількість голів	19	10	16
2	ЧСС до рефлекторного впливу	116±2	109±3	108±2
3	ЧСС після рефлекторного впливу	121±3	106±2	101±3
4	ПВБ до рефлекторного впливу	531	235	157
5	ПВБ після рефлекторного впливу	591	202	91
6	Середня жива маса, кг	70±2,1	76±1,8	77±1,9
7	Середньодобовий приріст живої маси, кг	0,446	0,500	0,517

Як видно з наведеної таблиці, середня жива маса і середньодобовий приріст є вищими у тварин-парасимпатикотоніків і нормотоніків і нижчими у бичків симпатикотоніків, що свідчить про відповідний характерний рівень інтенсивності обмінних і трофічних процесів у тварин, які належать до різних типів автономної регуляції.

Отже, нами показані особливості рефлекторних впливів на деякі показники вегетативного гомеостазу у піддослідних тварин залежно від типу їх автономної регуляції. У тварин-симпатикотоніків зміни вегетативного гомеостазу відбуваються, при вказаному впливі, за симпатикотонічним типом, а в нормотоніків і парасимпатикотоніків спостерігається перебіг вагусної реакції.

Експериментальні дані, які характеризують особливості впливу симпатичних і парасимпатичних центрів, мають загальнобіологічний характер і можуть бути використані для вивчення типології вегетативних впливів автономної нервової системи людини. Крім того отриманий фактичний матеріал може бути впроваджений в проведення досліджень з експериментальної медицини.

ВИСНОВОК 1. Здійснення окуло-кардіального рефлексу перебігає з ознаками, характерними для певного типу автономної регуляції серцевого ритму: закономірними зміна-

ми показників вегетативного балансу та частоти серцевих скорочень, що свідчить про існування типологічних особливостей відповіді центрів автономної нервової системи на дію рефлекторного подразника. 2. У тварин-симпатикотоніків окуло-кардіальний рефлекс перебігає за симптоматикотонічним типом, а у нормотоніків і парасимпатикотоніків спостерігається прояв вагусної реакції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Баевский Р.М., Кирилов О.Н., Клецкин С.З. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе. – М.: Наука, 1984. – 222с.
2. Инструментальные методы исследования сердечно-сосудистой системы /Под. ред. Т.С. Виноградовой. – М.: Медицина, 1986. – 416 с.
3. Вус Ю.М. Вивчення типу вегетативної регуляції серцевого ритму у молодняка великої рогатої худоби з допомогою окуло-кардіального рефлексу // Сучасні проблеми біології, ветеринарної медицини, зооінженерії та технологій продуктів тваринництва. – Львів. – С. 44-46.
4. Кононенко В.С. Типи автономної регуляції і продуктивність сільськогосподарських тварин // Науковий вісник ЛНАУМ. –2004. – Т. 6, Ч. 2. – С.174-180.
5. Кононенко В.С., Перланбетов М.А. Взаємозв'язок морфофункціональних показників серця з живою масою та рівнем молочної продуктивності у корів чорно-рябої породи // Тези доповідей 49-ї наук. вироб. конф. – Львів. – 1992. – С. 99.

Каширіна Н.К., Рогозіна О.В.

УЛЬТРАСТРУКТУРНИЙ ТА МОРФОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ ГОНАДОТРОПОЦИТІВ ГІПОФІЗА ПІД ВПЛИВОМ ХРОНІЧНОЇ СВИНЦЕВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Кримський державний медичний університет

УЛЬТРАСТРУКТУРНИЙ АНАЛІЗ ГОНАДОТРОПОЦИТІВ АДЕНОГІПОФІЗА ПІД ВПЛИВОМ ХРОНІЧНОЇ СВИНЦЕВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ – Електронно-мікроскопічними та морфометричними методами доведено, що гонадотропоцити аденогіпофіза у мишей-самців лінії BALB/c у 2-місячному віці мають ознаки повного диференціювання та гормонпродукції. У тварин другого покоління, які підлягали впливу хронічної свинцевої інтоксикації протягом 30 днів, гонадотропоцити мають ознаки глибоких дистрофічних та деструктивних змін та типові ознаки пригнічення гормонпродуруючої функції.

УЛЬТРАСТРУКТУРНИЙ АНАЛІЗ ГОНАДОТРОПОЦИТІВ АДЕНОГІПОФІЗА ПРИ ХРОНІЧНОЇ СВИНЦЕВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ – Електронно-мікроскопічними та морфометричними методами показано, що гонадотропоцити аденогіпофіза у мишей-самців лінії BALB/c в 2-місячному віці мають ознаки повного диференціювання та гормонпродукції. При 30-суточній хронічній свинцевій інтоксикації у тварин 2-го покоління гонадотропоцити мають ознаки виражених дистрофічних та деструктивних змін, типові ознаки пригнічення синтезу гормонів.

ULTRASTRUCTURAL ANALYSIS OF ADENOHYPOPHYSIS GONADOTROPHOCYTES UNDER CHRONIC LEAD INTOXICATION – Chronic lead intoxication was studied on the second generation of male-mice lineage BALB/c. Intensive dystrophic and destructive changes of cell organelles were found in gonadotrophs of the adenohypophysis. It was marked high decreasing of hormone-producing function granules.

Ключові слова: гонадотропоцити, ультраструктура, свинцева інтоксикація.

Ключевые слова: гонадотропоциты, ультраструктура, свинцовая интоксикация.

Key words: gonadotrophocytes, ultrastructure, lead intoxication.

ВСТУП. Забруднення навколишнього середовища, особливо в промислових регіонах, призводить до підвищеного надходження ксенобіотиків в організм людини. При цьому змінюються ендекологічний статус, стан специфічної і неспецифічної резистентності організму. Це є чинником ризику розвитку різної патології, збільшення і ускладнення перебігу інших захворювань. На сьогодні доведено, що патогенетичну основу захворювань, які пов'язані з впливом

хімічних забруднювачів різних об'єктів навколишнього середовища, складають порушення процесу адаптації організму [1, 3, 5]. Відома репродуктивна токсичність свинцю. Свинець долає гематоенцефалічний і гематотестікулярний бар'єри [3, 6]. У експерименті показана його здатність пригнічувати секрецію рилізінг-факторів гіпоталамуса. Встановлена пряма кореляція між зниженням рівня ФСГ, порушенням динаміки секреції ЛГ, супресією секреції тестостерону, зменшенням концентрації і рухливості сперматозоїдів і кількістю свинцю в сім'яній плазмі [4, 7]. Враховуючи важливість вивчення впливу хронічного субпорогового надходження свинцю в організм декількох поколінь, в літературі нами не виявлено робіт, що аналізують ультраструктуру гонадотропоцитів при даній дії.

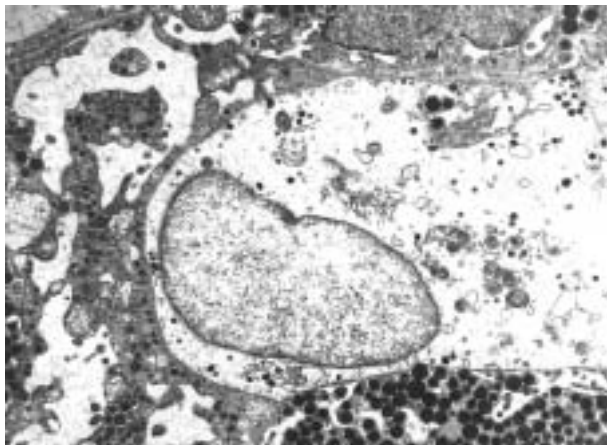
Мета дослідження полягала в проведенні ультраструктурного і морфометричного аналізу гонадотропоцитів при хронічній свинцевій інтоксикації (ХСІ) в експериментах на другому поколінні мишей-самців лінії BALB/c.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. Дослідження проведені на 12 мишах-самцях лінії BALB/c. Тварини 2-ї серії склали друге покоління, що піддавалося хронічній свинцевій інтоксикації. Враховувалася здатність свинцю проникати через плацентарний бар'єр гемохоріальної плаценти, а також при лактації - з молоком. Тварини 2-ї серії щодня, після припинення грудного вигодовування, одержували водний розчин ацетату свинцю (спосіб введення – per os, доза – 10 мг/кг) протягом 30 днів. 1-а серія тварин служила контролем. З експерименту тварин виводили шляхом гільйотинування під ефірним наркозом. Матеріал вивчений методами світлової і електронної мікроскопії, морфометричне дослідження проведене за допомогою оптичного аналізатора зображення "OLYMPUS" і програми «Відео-тест». Морфологія». Методами морфометрії визначали загальну площу перетину ядра, ядерця, хроматину (гетерохроматину і еухроматину), загальну площу перетину цитоплазми, різних

видів мітохондрій (правильної будови, з частковим руйнуванням крист, з повним руйнуванням крист), гормонвмісних гранул (повних, напівпорожніх, порожніх) на серединних зрізах гонадотропоцитів. На підставі кількісних даних обчислювали відносну площу вказаної органели до загальної площі перетину цитоплазми (у відсотках). Міру достовірності одержаних даних визначали методом варіаційної статистики. Електронномікроскопічне дослідження проведене на електронних мікроскопах ПЕМ 100, Phillips.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. У мишей-самців лінії BALB/c, що піддавалися ХСІ, в гонадотропоцитах відмічені значні зміни ультраструктури. Їх ядра набухають, округляються і різко просвітлені. Гетерохроматин майже повністю зникає, залишаючись лише у вигляді невеликих ділянок, що асоціюються з ядром. У окремих гонадотропоцитах зберігається і у вигляді дуже тонкої смужки маргінального хроматину, електронна щільність якого значно знижена. Загальна площа гетерохроматину в ядрі достовірно знижена (на 58,56%) і складає $7,11 \pm 0,54\%$ від площі ядра. Ядра різко зменшуються по величині, зберігаючи компактність і високу електронну щільність. У деяких, що мають найбільш виражені дистрофічні і деструктивні зміни, вони представлені малими залишковими скупченнями матеріалу із середньою електронною щільністю. Площа перетину ядер зменшується на 59,62 % і становить $3,80 \pm 0,21\%$ від площі ядра. Кількість рибосом на зовнішній ядерній мембрані зменшується. Перинуклеарний простір нерівномірно розширений і місцями продовжується у вакуолі цитоплазми.

Цитоплазма гонадотропоцитів різко просвітлена, містить фрагменти органел, вакуолізована (мал.1). Велика частина гонадотропоцитів має ознаки балонної дистрофії. Вакуолізація цитоплазми досягає значного ступеня ($25,39 \pm 1,79\%$ площі) і крупні вакуолі нерідко з'єднуються з перинуклеарним простором. Більшість органел піддається деструкції. Залишки ГЕС виявляються у вигляді коротких фрагментів нерівномірно розширених або вакуолеподібних цистерн з невеликою кількістю рибосом. Полірибосоми нечисельні, зустрічаються одиничні диктіосоми, цистерни яких фрагментарно зруйновані. Окремі мітохондрії набухають, їх кристи зруйновані. Багато мітохондрій розривається, а їх залишки формують неправильної форми вакуолі. Виявляються одиничні дрібні мітохондрії із збереженими кристами. Різко знижується площа, яку займають мітохондрії (на 49,08%) порівняно з даними контролю. Переважна більшість мітохондрій складають органели з частково зруйнованими кристами, які займають 49,19% площі всіх мітохондрій. Органели з частково зруйнованими кристами займають 36,97% площі мітохондрій, а мітохондрії із збереженими структурами – 13,84%. Зрідка



Мал. 1. Ультраструктура гонадотропоцита при ХСІ. 36. х. 7000

зустрічаються гонадотропоцити з менш вираженою деструкцією органел, хоч і з не менш вираженою вакуолізацією цитоплазми.

Загальна площа цитоплазми, що припадає на гормонвмісні гранули, знижується на 63,51%. При цьому площа, з повними гранулами зменшується на 69,93%, з напівпорожніми гранулами – на 20,85%, тоді як площа порожніх гранул збільшується в 2,96 рази. Характерна поява поодиноких внутрішньоцистернальних секреторних гранул.

Той факт, що при ХСІ відмічено зменшення площі, яку займає гетерохроматин (на 58,56), можна трактувати дво-яко. Подібна морфологічна картина може бути результатом різкої функціональної активації із збільшенням синтезу гормонів. Проте, враховуючи обширність ультраструктур гонадотропоцитів при ХСІ, ймовірніше, що ці зміни корелюють з виснаженням внутрішніх резервів. Це підтверджує те, що при ХСІ в гонадотропоцитах майже наполовину зменшується площа, займана мітохондріями в цитоплазмі, мітохондрії, що збереглися, мають ознаки набухання і деструкції. Встановлене нами при ХСІ різке зменшення площі, яку займають гормонвмісні гранули, може відображати як різке зниження продукції гормонів в гонадотропоцитах, так і посилене виведення гормонів з клітин. Крім того, виявлені поодинокі внутрішньоцистернальні секреторні гранули, що рядом авторів трактується як результат функціональної активації гормонопродукуючих клітин [2]. Проте, враховуючи виражені дистрофічні зміни в усіх органелах, що забезпечують синтез гормонів, ймовірним є припущення про пригнічення продукції гормонів, обумовлене пригніченням регенерації в гонадотропоцитах. А поява внутрішньоцистернальних гранул є, мабуть, свідченням максимального функціонального напруження в умовах ХСІ, на підтримку достатнього синтезу гормонів, що відповідає фізіологічним потребам організму, в цей період розвитку.

ВИСНОВКИ 1. У аденогіпофізі 2-місячних мишей-самців лінії BALB/c знаходяться зрілі диференційовані гонадотропоцити, в яких здійснюються синтез і накопичення гормонів. 2. ХСІ на 30-у добу у тварин 2-го покоління викликає виражені дистрофічні зміни в гонадотропоцитах аденогіпофіза, вмісті органели і гормонвмісних гранул в цитоплазмі, що супроводжується різким зниженням вакуолізації, появі окремих з явищами балонної дистрофії. 3. Найбільш виражених дистрофічних і деструктивних змін зазнають мембранні компоненти мітохондрій при ХСІ.

Отримані в ході роботи результати дозволять виявити динаміку і спрямованість компенсаторно-приспосувальних, адаптаційних і репаративних процесів при ХСІ в різні терміни інтоксикації, а також стануть морфологічним обґрунтуванням для розробки методів корекції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гжегоцький М.Р., Федоренко Ю.В. Біологічна профілактика свинцево-фторидної інтоксикації в експериментальних умовах // Гігієнічна наука та практика на рубежі століть: Матеріали XIV з'їзду гігієністів України. (Дніпропетровськ) / Під ред. Кундієва Ю.І., Середюка А.М., Гончарука Є.Г., Лапушенко О.В. – К. – 2004. – С. 393-395.
2. Гордиенко В.М. Козырицкий В.Г. Ультраструктура желез эндокринной системы. –К.: Здоров'я, 1978. – 287 с.
3. Корбакова А.И., Соркина Н.С., Молодкина Н.Н. Свинец и его действие на организм (обзор литературы) // Медицина труда и промышленная экология. 2001.-№5.-С.29-34.
4. А.И. Никитин. Вредные факторы среды и репродуктивная система организма. - Санкт-Петербург: ЭЛБИ-СПб, 2005. – 215 с.
5. Трушкина С.С., Федченко С.Н. Роль тяжелых металлов в формировании гестационных осложнений // Укр. мед. альм. – 1998. –Т. 1, № 4. – С. 54-56.
6. Holtzman D., Olson J.E., De Vries G. Lead toxicity in primary cultured cerebral astrocytes and cerebellor. Granular neurons // Toxicol. and Appl. Pharmacol. - 1989. – № 2. – P. 211-225.
7. YAN Jian-Hua, CHI Yong, CEN Ke-Fa Leaching Characteristics of Heavy Metals in MSW Fly Ash Under Different Condition // Environmental Science. – 2004. – Vol. 25, № 4. – P. 20-25.

ОСОБЛИВОСТІ ПАРЕНХИМИ, ЩО ВПЛИВАЮТЬ НА СТРОМОУТВОРЕННЯ ПРИ КИШКОВОМУ ТИПІ РАКУ ШЛУНКА

Донецький державний медичний університет ім. М. Горького

ОСОБЛИВОСТІ ПАРЕНХИМИ, ЩО ВПЛИВАЮТЬ НА СТРОМОУТВОРЕННЯ ПРИ КИШКОВОМУ ТИПІ РАКУ ШЛУНКА – Вивчено 87 випадків раку шлунка кишкового типу, у 94,3% з них виявлена мала та помірна кількість стромального компонента. При визначенні факторів, які можуть впливати на стромоутворення, знайдений кореляційний зв'язок між кількістю строми та ступенем секреції нейтрального муцину (на рівні $p < 0,01$) та кислого нессульфатованого муцину (на рівні $p = 0,03$). Кількість строми залежала також від наявності виходу секрету із пухлинних клітин в строму через базальний полюс (на рівні $p < 0,01$). Не знайдено кореляційних зв'язків між ступенем клітинної інфільтрації та характеристиками злоякісного епітелію, що досліджувались.

ОСОБЕННОСТИ ПАРЕНХИМЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА СТРОМООБРАЗОВАНИЕ ПРИ КИШЕЧНОМ ТИПЕ РАКА ЖЕЛУДКА – Изучено 87 случаев рака желудка кишечного типа, в 94,3% из них выявлено малое и умеренное количество стромального компонента. При определении факторов, которые могут влиять на стромообразование, найдена корреляционная связь между количеством строми и степенью выраженности секреции нейтрального муцина (на уровне $p < 0,01$) и кислого нессульфированного муцина (на уровне $p = 0,03$). Количество строми зависело также от наличия выхода секрета из опухолевых клеток в строму через базальный край ($p < 0,01$). Не найдено связей между степенью выраженности клеточной инфильтрации и исследуемыми характеристиками злокачественного эпителия.

PARENCHYMAL FEATURES THAT INFLUENCE UPON STROMA FORMATION IN INTESTINAL STOMACH CANCER – 87 cases of intestinal stomach cancer have been studied. In 94,3% cases there was a not abundant stromal component. Determining factors, that may influence upon stroma formation, we have found correlation between stroma amount and level of neutral mucin secretion ($p < 0,01$) and acid non-sulfated mucin ($p = 0,03$). Stroma amount also depended upon release of tumor cell secretion into the stroma ($p < 0,01$). There has not been revealed the relation between intensity of cellular infiltration and studied characteristic of malignant epithelium.

Ключові слова: кишковий тип раку шлунка, кількість строми, особливості клітин паренхіми.

Ключевые слова: кишечный тип рака желудка, количество строми, особенности клеток паренхимы.

Key words: intestinal stomach cancer, stroma amount, parenchymal cell features.

ВСТУП Рак шлунка міцно займає одне з лідируючих місць у рейтинговій таблиці онкологічної захворюваності і смертності [2]. При цьому паренхіматозно-стромальні взаємодії відіграють значну роль у розвитку і прогресії пухлини. Зміни в стромальному мікрооточенні, включаючи посилення васкуляризації, модифікації складу екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ), запальні клітини і дисбаланс активності протеаз є істотними регуляторами росту й інвазії пухлини [4].

Метою дослідження стало визначення особливостей клітин паренхіми кишкового типу раку шлунка [3], що впливають на строматогенез у ньому.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Вивчено 87 випадків резекційних препаратів раку шлунка з гістологічним дослідженням (13 ранніх і 74 відстрочених). Після парафінової проводки зрізи зафарбовувалися гематоксиліном і еозином, за Ван-Гізон для виявлення колагену, ставилася PAS-реакція, проводилося фарбування альціановим синім при рН 2,5 і 1,0, що служили для визначення складу муцину і вуглеводних детермінант строми. Для визначення функціонально активного судинного русла в заморожених зрізах виявлялася активність лужної фосфатази.

Ступінь вираженості секреції муцину пухлинними клітинами визначався як малий, помірний і високий візуально-аналоговим методом. За кількістю строми усі раки поділялися на пухлини з малою, помірною і великою кількістю строми (скірозний рак).

Аналіз отриманих даних проводився в пакеті MedStat із застосуванням базових методів математичної статистики. Статистичний аналіз показників, отриманих у резуль-

таті обробки стабілограм, показав, що їхній розподіл відрізняється від нормального (на рівні $p < 0,001$), відповідно до цього, при проведенні подальшого статистичного аналізу, застосовувалися непараметричні критерії. Для оцінки вірогідності розходжень двох зв'язаних вибірок використовувався показник рангової кореляції Кендалла [1].

ОТРИМАНІ РЕЗУЛЬТАТИ Рак кишкового типу мав будову високо- і помірно диференційованої аденокарциноми (мал. 1), в основному з малою і помірною кількістю строми, тільки в поодиноких випадках – з великою. Так, мало строми в пухлині відзначено в 36 випадках (41,4%), помірна кількість – у 46 випадках (52,9%), велика – тільки в 5 випадках (5,7%).

Ми відзначили зміну стромального оточення вже в ранніх раках, що локалізуються тільки в слизовій оболонці, і на деякій відстані від краю інвазії пухлинних клітин. Так, присутність пухлинних клітин в слизовій оболонці та підслизовій основі супроводжувалася заміщенням пухкої волокнистої сполучної тканини на щільну з високим вмістом зрілого колагену (мал. 2, 3), дистантно появою молодих (альціанофільних) волокон (мал. 4) і проліферацією клітин сполучної тканини (мал. 5). Це дозволяє припускати, що модифікація



Рис. 1. Високодиференційована аденокарцинома шлунка зі значною клітинною інфільтрацією. Г-Е, 100 \times .

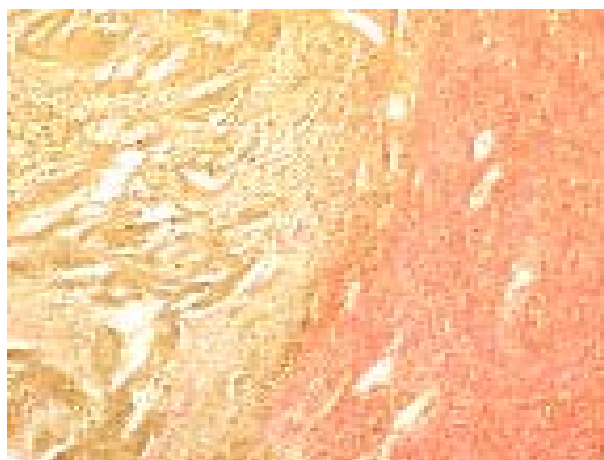


Рис. 2. Дистантний строматогенний вплив. Заб. за Ван-Гізон, 100 \times .

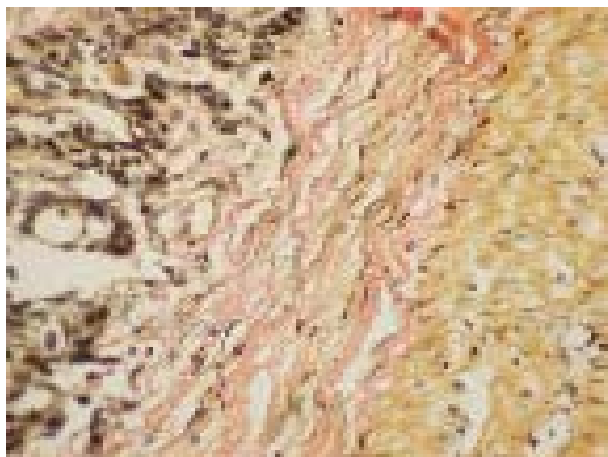


Рис. 3. Фіброзна тканина між пухлиною та м'язами. Дистантний строматогенний вплив. Заб. за Ван-Гізон, 400X.

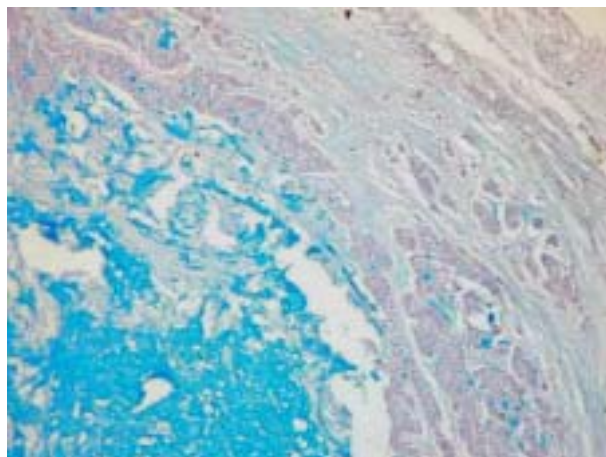


Рис. 4. Молода сполучна тканина на межі інвазії кишкового типу раку шлунка. Дистантний строматогенний вплив. Альціановий синій при рН 2,5, 100X.

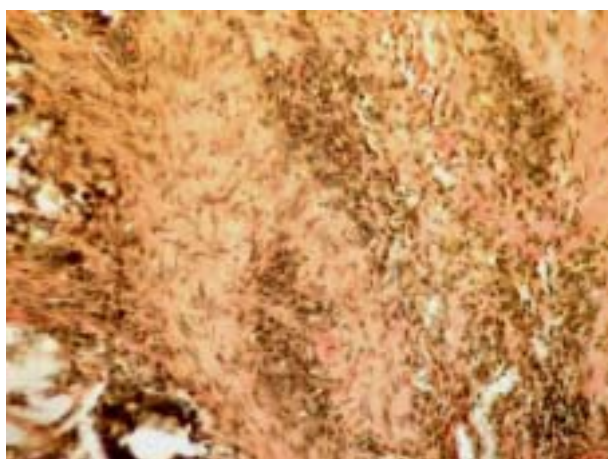


Рис. 5. Різка проліферація молодих клітин сполучної тканини в аденокарциномі. Заб. за Ван-Гізон, 200X.

строми кишкового типу раку обумовлена впливом пухлини ще до етапу інвазії в м'язову оболонку.

Практично у всіх пухлинах є різною мірою виражена, переважно лімфоцитарна, клітинна інфільтрація. Було виявлене зростання лімфоцитарної інфільтрації в краї інвазії пухлини більш ніж у половині випадків (52,2%). У центрі пухлини ступінь інфільтрації був слабким в 19,2% випадків, помірним – у 34% і вираженим в 46,8% випадків. При зіставленні ступенів виразності клітинної інфільтрації, ми не знайшли зв'язку зі ступенем секреції муцину, кількістю функціонально активних судин у пухлині (р в усіх випадках перевищував 0,05).

Ми також зіставили кількість строми в пухлині з питомою вагою різної вираженості секреції пухлинними клітинами муцину і наявністю або відсутністю виходу його з пухлинної клітини. Результати наведені в таблиці 1.

Як видно з таблиці, інтенсивність синтезу PAS-позитивного секрету пухлинними клітинами в значній мірі пов'язана з кількістю строми. Так, якщо при малій і помірній кількості строми переважала відсутність і слабка секреція (66,7% і 56,5% відповідно), то при великій кількості строми у всіх випадках була помірна і виражена секреція.

Таблиця 1. Зіставлення ступеня інтенсивності секреції пухлинними клітинами муцину і кількості строми в дифузному типі раку шлунка

Інтенсивність секреції		Кількість строми в пухлині		
		Мало – 36	Помірно - 46	Багато – 5
PAS	відсутня	1 – 2,8%	2 – 4,3%	-
	слабка	23 – 63,9%	24 – 52,2%	-
	помірна	9 – 25%	17 – 37%	1 – 20%
	виражена	3 – 8,3%	3 – 6,5%	4 – 80%
AB при рН 2,6	відсутня	3 – 8,3%	4 – 8,7%	-
	слабка	24 – 66,7%	25 – 54,3%	1 – 20%
	помірна	7 – 19,4%	12 – 26,1%	1 – 20%
	виражена	2 – 5,6%	5 – 10,9%	3 – 60%
AB при рН 1,0	відсутня	18 – 50%	17 – 37%	1 – 20%
	слабка	16 – 44,4%	16 – 34,8%	2 – 40%
	помірна	2 – 5,6%	11 – 23,9%	2 – 40%
	виражена	-	2 – 4,3%	-
Вихід у струму	є	2 – 5,6%	7 – 15,2%	2 – 40%
	немає	34 – 94,4	39 – 84,8%	3 – 60%

При аналізі ступеня секреції муцину, що дає позитивну реакцію при фарбуванні альціановим синім при рН 2,6 (кислий нессульфатований муцин), спостерігається та ж закономірність зростання кількості строми при збільшенні ступеня виразності фарбування.

При малій і помірній кількості строми слабка секреція АВ 2,5-позитивного муцину відзначена в 66,7% і 54,3% випадків відповідно, при великій кількості строми помірна і виражена секреція досягає 80%.

Наявність великої кількості сульфомуцину в секреті пухлинних клітин спостерігалася в невеликому числі випадків. При малій кількості строми ступінь фарбування пухлинних клітин альціановим синім Рн 1,0 у 95% не перевищував слабкий, при помірній кількості строми – переважали відсутність фарбування і її слабка вираженість. У випадках зі скірозним характером строми, переважав слабкий і помірний ступінь секреції пухлинними клітинами сульфомуцину.

При статистичній обробці з використанням нелінійного коефіцієнта кореляції Кендалла ми знайшли позитивну кореляцію між кількістю строми і ступенем секреції PAS-позитивного муцину (на рівні $p < 0,01$), кислого нессульфатованого муцину (на рівні $p = 0,03$) і відсутність кореляційного зв'язку зі ступенем секреції сульфомуцину ($p > 0,05$).

Була зіставлена кількість строми з наявністю або відсутністю виходу секрету з трансформованого епітелію в навколишню строму, що спостерігалася при порушенні полярного диференціювання в пухлинних клітинах. У пухлинах з малою кількістю строми тільки в 5,6% випадків відзначався вихід муцину, з помірною – вже в 15,2%, а при скірозному раку цей показник сягає 40% випадків. При статистичній обробці ми знайшли кореляційний зв'язок між наявністю виходу секрету в строму і кількістю останньої з високим рівнем вірогідності (на рівні $p < 0,01$).

Причому, у деяких випадках при наявності порушення полярного диференціювання злоякісного епітелію, ми спостерігали виражену десмопластичну реакцію у виді концентричного розростання колагену навколо пухлинних залоз (мал. 6).

ВИСНОВКИ. 1. Для кишкового типу раку шлунка не характерна наявність значної кількості стромального компонента (велика кількість строми була виявлена тільки в 5,7% випадків). 2. Клітинна інфільтрація в більшості випадків була помірною і вираженою, характерним також стало наростання ступеня вираженості її від центра до краю інвазії пухлини. 3. Не знайдено статистично значимого зв'язку між ступенем вираженості клітинної інфільтрації і секрецією муцину пухлинними клітинами, довжиною мікроциркуляторного русла (на рівні $p > 0,05$). 4. Знайдено позитивну кореляцію між кількістю строми і ступенем секреції PAS-позитивного муцину (на рівні $p < 0,01$), кислого нессульфатованого муцину (на рівні $p = 0,03$) і відсутність кореляцій-



Рис. 6. Концентричні пучки сполучної тканини навколо залоз з базальною секрецією. Г-Е, 100Х.

ного зв'язку зі ступенем секреції сульфомуцину ($p > 0,05$). 5. Кількість строми в пухлині значною мірою залежить від напрямку викиду секрету з пухлинних клітин, порушення полярного диференціювання пухлини сприяє інтенсифікації десмопластичних процесів (на рівні $p < 0,01$).

Перспективи подальших досліджень. Дані, що отримані, будуть зіставлені з іншими морфологічними особливостями кишкового типу раку шлунка, що може бути використано для оцінки прогнозу і вибору методу лікування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Лях Ю.Е., Гурьянов В.Г. Анализ результатов медико-биологических исследований и клинических испытаний в специализированном статистическом пакете MEDSTAT // Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2004. – Т. 8, №1. – С. 155-167.
2. Шалімов С.О., Федоренко З.П., Гулак Л.О. і співавт. Рак в Україні, 2000-2001 // Бюлетень національного канцер-реєстру України – Київ. – 2002. – 73 с.
3. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so called intestinal types carcinoma // Acta Path. Microbiol. Scand. – 1965. – Vol. 64, № 1. – P. 2900-2904.
4. Mueller MM, Fusenig NE. Tumor-stroma interactions directing phenotype and progression of epithelial skin tumor cells // Differentiation. – 2002. – Vol. 70, № 9-10. – P. 486-497.

Поляков К.В.

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВАСКУЛОПАТІЙ ПРИ ЛЕГЕНЕВІЙ АРТЕРІАЛЬНІЙ ГІПЕРТЕНЗІЇ

Донецький державний медичний університет ім.М.Горького, Центральна міська клінічна лікарня №1, м. Донецьк

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВАСКУЛОПАТІЙ ПРИ ЛЕГЕНЕВІЙ АРТЕРІАЛЬНІЙ ГІПЕРТЕНЗІЇ – В роботі наведено аналітичний огляд літератури і морфологічні дані 27 секційних випадків розвитку легеневої гіпертензії: 17 випадків вродженої первинної легеневої гіпертензії і 10 спостережень вторинних форм легеневої гіпертензії. Вік хворих коливався від 4 дб з дня народження до 8 років. Відзначено, що морфологічні зміни у стінках артерій легень при первинній та вторинній легеневої гіпертензії у препаратах із застосуванням традиційних методик забарвлення істотно не відрізняються. При всіх формах легеневої гіпертензії у стінках судин легень мала місце низка спільних перебудованих морфологічних проявів: гіпертрофія медії артерій м'язового та еластичного типу, ектазія отвору легеневої артерії еластичного типу та гіпертрофія правого шлуночка. Легенева мікрovasкулопатія характеризується вогнищевою капілярною проліферацією в інтерстиції легеневої тканини; за площею розповсюдження у легенях легенева мікрovasкулопатія має лобарний характер; її відмінною особливістю є формування гломерулоїдних двошарових ендотеліальних мікросудинних бруньок або вузликів,

що видаються до отвору вен, лімфатичних судин і повітряних просторів з обох боків стінки альвеол.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВАСКУЛОПАТИЙ ПРИ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ – В работе приведен аналитический обзор литературы и морфологические данные о 27 секционных случаях развития легочной гипертонии: 17 случаев врожденной первичной легочной гипертонии и 10 наблюдений вторичных форм легочной гипертонии. Возраст больных колебался от 4 суток со дня рождения до 8 лет. Отмечено, что морфологические изменения в стенке артерий легких при первичной и вторичной легочной гипертонии в препаратах с применением традиционных методик окраски существенно не отличаются. При всех формах легочной гипертонии в стенках сосудов легких имеет место ряд общих перестроенческих морфологических проявлений: гипертрофия меди артерий мышечного и эластического типа, ектазия просвета легочных артерий эластического типа и гипертрофия правого желудочка. Легочная микроваскулопатия характеризуется очаговой капиллярной пролиферацией в интерстиции легочной ткани; по площади распрос-

транерія в легких легочна мікровазкулопатія носить лобарний характер; її відмінною особливістю є формування гломерулоїдних двохшарових ендотеліальних мікрососудистих почок или узелков, которые выдаются в просвет вен, лимфатических сосудов и воздушных пространств по обе стороны стенки альвеол.

MORPHOLOGICAL ANALYTICAL OF VASCULOPATHY AT PULMONARY HYPERTENSION – The analytical review of the literature and morphological findings on 27 sectional cases of pulmonary hypertension development are represented in the work: 17 cases of congenital primary pulmonary hypertension and 10 observations of the secondary forms of pulmonary hypertension. The patients age ranged from 4 days from birthday to 8 years. It is marked, that morphological changes in a wall of pulmonary vessels at primary and secondary pulmonary hypertension in preparations with application of conventional techniques of coloring do not substantially differ. There are series of common remodeling morphological manifestations in pulmonary vessels walls in all the forms of pulmonary hypertension: muscular and elastic arteries medial hypertrophy, elastic arteries lumen dilation and right ventricle hypertrophy. Pulmonary microvasculopathy is characterized by local capillary proliferation in the lung tissue interstium; after the spread area pulmonary microvasculopathy has a lobar character; its feature is formation of glomeruloid bilayer endothelial microvascular buds or nodules, which protrude into the lumen of veins, lymphatic vessels and air spaces on the both sides of alveolar wall.

Ключові слова: легенева артеріальна гіпертензія, васкулопатія, морфологія.

Ключевые слова: легочная артериальная гипертензия, васкулопатии, морфология.

Key words: pulmonary arterial hypertension, vasculopathy, morphology.

Термін «легенева артеріальна гіпертензія» (ЛАГ) включає багато легеневих гіпертензивних хвороб різної етіології, але подібних за клінічними проявами і, в більшості випадків, подібною відповіддю на лікування [7]. Спочатку ЛАГ включала первинну легенева гіпертензію (ПЛГ) і легенева гіпертензію, пов'язану з ліво-правим шунтом, колагеново-судинними хворобами, портальною гіпертензією, інфікуванням ВІЛ, прийомом ліків або дієтичних продуктів і персистуючою фетальною циркуляцією [2]. На 3-му Всесвітньому Симпозіумі з гіпертензії легеневої артерії легенева венооклюзивна хвороба (ЛВОХ) і легенева капілярна гемангіоматоз (ЛКГ) були включені в ЛАГ через високу частку артеріопатії в цих умовах [5, 6], схожість чинників ризику з ЛАГ (ВІЛ, прийом ліків), сімейних випадків і недавно відкритої мутації морфометричного протеїну рецептора-2 кісток (МПРК2) у випадках легеневої венооклюзивної хвороби [8]. Була висунута гіпотеза, що ЛАГ, ЛВОХ і ЛКГ можуть представляти частину спектра однієї і тієї ж хвороби або інші реакції на подібні пошкодження. Документування поширеності різних типів судинних змін в різних підгрупах ЛАГ складає суть в розумінні того, як різні сегменти легеневого судинного дерева реагують на пошкодження. Для стандартизації представлення патоморфологічних даних і забезпечення клініцистів точним описом природи і ступеня судинних уражень в кожному конкретному спостереженні нами приведені нижче описові преобладаючі та співіснуючі патоморфологічні зміни.

Метою роботи є встановлення основних морфологічних змін у судинах легенів дітей раннього віку при різних формах легеневої гіпертензії, які дозволять оптимізувати морфологічний діагноз і будуть сприяти покращенню клінічної діагностики первинної пульмональної гіпертензії.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Матеріалом дослідження послужили морфологічні дані 27 секційних випадків, з яких 8 випадків склали вроджені вади серця (дефект міжшлуночкової перегородки) та великих судин (коарктація аорти та гіпоплазія легеневи вен із атрезією їх вічок у стінці лівого передсердя), два випадки бронхолегеневої дисплазії та 17 випадків вродженої первинної легеневої гіпертензії. Вік хворих коливався від 4 днів до народження до 8 років. У роботі використаний матеріал Донецького регіонального центру охорони материнства та дитинства і банку даних відділу патоморфології Центральної науково-дослідної ла-

бораторії Донецького державного медичного університету ім. М.Горького.

Шматочки тканини, фіксовані в 10% розчині нейтрального формаліну, заливали в парафін за стандартною методикою. Фіксація шматочків легенів в стані недостатнього розтягування, щоб уникнути зазубреності еластичної пластинки легеневи артерій м'язового типу, може викликати стан хибної гіпертрофії медії. Для цього необхідне адекватне розтягування легенів (принаймні, п'ять блоків з кожної частки). Гістологічне дослідження повинне показати, чи достатньо зразків кровоносних судин, природу і кількість ушкоджених судин, наявність, локалізацію і природу запальних клітин, так само, як будь-яке свідчення супровідної патології у повітряних шляхах або легеневи паренхімі.

На ротаційному мікромомі МПС-2 виготовляли серійні гістологічні зрізи товщиною 5±1 мкм, які потім забарвлювали гематоксилином та еозином, для оцінки судинної патології за Вергоффом, толуїдиновим синім при рН 2,6 і 5,3, ставили ШИК-реакцію з обробкою контрольних зрізів амілазою, визначення імуногістохімічних маркерів гладкої мускулатури і ендотелію (фактор VIII, CD 4, CD 34). Аналіз зображення здійснювався на універсальному мікроскопі Hund H 500 з телевізійною системою, з'єднаною з персональним комп'ютером 486 DX4 120. Статистична обробка отриманих даних здійснювалася за допомогою ліцензійного стандартного пакету "Statistica 6.0".

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При аналізі супроводжуючих документів та даних описової частини протоколу розтину встановлено, що у всіх випадках, за винятком бронхолегеневої дисплазії, мали місце легенева артеріопатія, констриктивні пошкодження, комплексні ураження, гіпертрофія міокарда правого шлуночка різного ступеня. Нами відзначено, що при всіх формах легеневої гіпертензії в стінках судин легенів мав місце ряд спільних морфологічних проявів перебудови - це гіпертрофія медії артерій м'язового і еластичного типу, екстазія отвору легеневи артерій еластичного типу і гіпертрофія правого шлуночка. Ці форми перебудови легеневи судин мають обмежену діагностичну цінність, оскільки вони виявляються при всіх формах легеневої гіпертензії. Раніше нами відзначено, що осередкове потовщення інтими і медії легеневи артерій в окремих спостереженнях зустрічалися як ізольована неспецифічна знахідка на обмежених ділянках легень, яке не мало прямого зв'язку з наявністю або відсутністю легеневої гіпертензії. При всіх формах ЛАГ в пре- та інтраацинарних легеневи артеріях виявлялися також констриктивні і комплексні структурні пошкодження різного ступеня вираженості. Констриктивні пошкодження включають гіпертрофію медії, потовщення інтими та адвентиції [1]. Ймовірно, ці зміни розвиваються унаслідок порушення балансу між проліферацією і апоптозом клітин різних типів, з яких складаються стінки судин. Ці пошкодження мають дифузний характер і гемодинамічне значення є дуже важливим, оскільки при цих станах або втрачені судинорозширювальні властивості, або надмірна продукція вазоконстрикторів. Гіпертрофія медії обумовлена і гіпертрофією, і гіперплазією гладком'язових волокон, збільшенням об'єму еластичних волокон сполучної тканини в медії артерій м'язового типу і розповсюдженням гладком'язових клітин до інтраацинарних артерій. Гіпертрофія медії спричиняє і кількісні, і фенотипічні зміни м'язових волокон. Одночасно спостерігається атрофія медії, яка має місце в артеріях з помітним потовщенням інтими і дилатаційними пошкодженнями, що розвиваються.

Потовщення інтими виявлялося трьох типів: концентричне шарувате, ексцентричне або концентричне нешарувате. Концентричне шарувате потовщення інтими може різною мірою бути або клітинним, або фіброзним. Імуногістохімічно клітини інтими демонструють одночасно властивості фібробластів, міофібробластів і гладком'язових

клітин. Проте, ці морфологічні властивості не дозволяють зробити висновок про їх походження, оскільки недавні експериментальні роботи показали можливість ендотеліальних клітин і фібробластів надавати фенотип гладких м'язів [3]. Концентричне шарувате потовщення інтими є характерним проявом легеневої плексогенної артеріопатії. Ексцентричне і концентричне нешарувате потовщення інтими переважно складається з фібробластів і матриксу сполучної тканини. На звичайних гістологічних зрізах важко оцінити потовщення адвентиції через погано обкреслені межі. В більшості вивчених випадків ЛАГ адвентиція судин мікроскопічно була інтактною, але вона значно збільшена в об'ємі при легеневій гіпертензії у новонароджених за наявності персистуючої фетальної циркуляції.

Комплексні пошкодження включають плексиформні, дилатаційні зміни і артеріїт. Ці осередкові зміни важливі як маркери гостроти або швидкого прогресування легеневої гіпертензії. Плексиформне пошкодження – це осередкова проліферація ендотеліальних каналів, що складаються з міофібробластів, гладком'язових клітин і сполучнотканинного матриксу. Ці пошкодження виявляються, як правило в пре- і інтраацинарних легеневих артеріях і асоційовані з розширенням і осередковою деструкцією артеріальної стінки з розповсюдженням плексиформного ураження на периваскулярну сполучну тканину. Плексиформне пошкодження часто супроводжується фібриновими тромбами. Плексиформне пошкодження частіше локалізується в місці розгалуження артерій або на початку додаткової артерії дистальніше облітеруючого потовщення інтими в артерії відходження. Частота плексиформного пошкодження при ЛАГ в різних спостереженнях коливалася від 24,5% до 58,2% всього об'єму легеневих артерій. Плексиформні пошкодження виявляються частіше в артеріях із зовнішнім діаметром менше 100 мікрон. При світловій мікроскопії їх важко відрізнити від ситоподібного пошкодження реканалізованих тромбоемболів [4].

Дилатаційне пошкодження виявляється в тонкостінних веноподібних судинах (судини синусоїдного типу) звичайно розташованих дистальніше від плексиформного пошкодження. Це пошкодження може бути джерелом діапедезних легеневих кровотеч з подальшою організацією і фіброзом.

Артеріїт при ЛАГ рідко буває самостійним, частіше він асоційований з іншими комплексними пошкодженнями. В стінці артерій спостерігається сегментарний, рідше тотальний фібриноїдний некроз з периваскулярними запальними інфільтраціями різного ступеня вираженості.

Легенева мікроваскулопатія відносно рідкісний стан, що характеризується осередковою капілярною проліферацією в інтерстиції легеневої тканини. За площею розповсюдження в легенях легенева мікроваскулопатія звичайно має лобарний і осередковий характер. Цей стан схожий на інтерстиціальний фіброз із слабим посиленням легеневого малюнка та імітує венозний застій легенів. Проте, при ретельному вивченні виявляється дифузна проліферація мікросудин, що містять велику кількість еритроцитів. Ці мікросудини можуть формувати гломерулоїдні бруньки або вузлики, які можуть видаватися до отвору вен, і лімфатичних судин, і повітряних просторів [9]. Відмітною особливістю, яка найкращим чином виявляється при забарвленні за Вергоффом, є те, що ці мікросудини виявляються по обидві сторо-

ни стінки альвеол. Для встановлення діагнозу необхідно знайти в проліферуючій мікросудині, принаймні, два шари ендотеліальних клітин. Ендотеліальні клітини змінених капілярів з подовженими овальними ядрами, дифузним хроматином і нечіткою цитоплазмою. Мітози рідкісні, не дивлячись на очевидну проліферативну природу стану. Проліферуючі ендотеліоцити розповсюджуються у бронхосудинні вузлики, інфільтрують стінки артеріол, артерій, венул і вен, проникаючи в м'язову стінку, і облітерують отвори судини. Також мікроваскулярна проліферація не виявляється в пери- та інтраальвеолярних просторах, плеврі і лімфовузлах. Закупорка вен унаслідок проліферації капілярів і поширений фіброз інтими відрізняє цей стан від неангіогенної оклюзії вен.

ВИСНОВКИ 1. При всіх формах легеневої гіпертензії у стінках судин легень має місце низка спільних перебудовних морфологічних проявів: гіпертрофія медії артерій м'язового та еластичного типу, екстазія отвору легеневих артерій еластичного типу та гіпертрофія правого шлуночка; морфологічні зміни у стінці артерій легень при первинній та вторинній легеневій гіпертензії у препаратах із застосуванням традиційних методик забарвлення істотно не відрізняються. 2. Легенева мікроваскулопатія характеризується осередковою капілярною проліферацією в інтерстиції легеневої тканини; за площею розповсюдження у легенях легенева мікроваскулопатія носить лобарний характер; її відмітною особливістю є формування гломерулоїдних двошарових ендотеліальних мікросудинних бруньок або вузликів, що видаються до отвору вен, лімфатичних судин і повітряних просторів з обох боків стінки альвеол. 3. Артеріїт при легеневій артеріальній гіпертензії частіше асоційований з іншими комплексними пошкодженнями, характеризується сегментарним, рідше тотальним фібриноїдним некрозом з периваскулярними запальними інфільтраціями різного ступеня вираженості.

ЛІТЕРАТУРА

- Chazova, Loyd J.E., Zhdanov V.S. et al. Pulmonary artery adventitial changes and venous involvement in primary pulmonary hypertension // *Am. J. Pathol.* – 1995. – Vol. 146. – P. 389–397.
- Dorfmeier P., Humbert M., Sanchez O. et al. Significant occlusive lesions of pulmonary veins are common in patients with pulmonary hypertension associated to connective tissue diseases // *3rd World Symposium on Pulmonary Arterial Hypertension (abstr.)*. – Venice, 2003.
- Fri M.G., Kale V.A., Stenmark K.R. Mature vascular endothelium can give rise to smooth muscle cells via endothelial-mesenchymal transdifferentiation: in vitro analysis // *Circ. Res.* – 2002. – Vol. 90. – P. 1189–1196.
- Jamison B.M., Michel R.P. Different distribution of plexiform lesions in primary and secondary pulmonary hypertension // *Hum. Pathol.* – 1995. – Vol. 26. – P. 987–993.
- Mandel J., Mark E.J., Hales C.A. Pulmonary veno-occlusive disease // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 162. – P. 1964–1973.
- Pietra G.G. The pathology of primary pulmonary hypertension. In: L.J. Rubin, S. Rich. *Primary Pulmonary Hypertension: Lung biology in health and disease*: Marcel Dekker, New York, NY, 1997. – Vol. 99. – P. 19–61.
- Rich S.E. Primary pulmonary hypertension: executive summary from the World Symposium–Primary pulmonary hypertension, 1998.
- Runo J.R., Vnencak-Jones C.L., Prince M. et al. Pulmonary veno-occlusive disease caused by an inherited mutation in BMPR2 // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2003. – Vol. 167. – P. 889–894.
- Yi E.S., Kim H., Ahn H. et al. Distribution of obstructive intimal lesions and their cellular phenotypes in chronic pulmonary hypertension // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 162. – P. 1577–1586.

Корсак А.В., Стеченко Л.О., Куфтирева Т.П., Козак Г.І.
МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ПЕРИФЕРІЙНОГО НЕРВА ЩУРА ЗА УМОВ ЙОГО ПОШКОДЖЕННЯ ТА
ЗАСТОСУВАННЯ ОМЕГА-3-ПОЛІЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ

Національний медичний університет ім.О.О.Богомольця

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ПЕРИФЕРІЙНОГО НЕРВА ЩУРА ЗА УМОВ ЙОГО ПОШКОДЖЕННЯ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ОМЕГА-3-ПОЛІЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ – Дослідження проведене на білих щурах, які були поділені на дві групи. Тваринам I та II груп відтворили експериментальну модель травми сідничого нерва. У післяопераційному періоді щурам першої групи фармакотерапія не проводилась. В другій групі в післяопераційному періоді ентально вводили щоденно протягом 3 тижнів масляний розчин омега-3-поліенасичених жирних кислот у дозі 0,04 г/кг. Досліджували ультраструктуру та морфометричну характеристику периферійного відрізка сідничого нерва через 6 тижнів після пошкодження в обох групах тварин. Проведене дослідження свідчить, що у групи тварин, яким проводили фармакологічну корекцію омега-3-поліенасиченими жирними кислотами, активується процес регенерації сідничого нерва за умов його пошкодження.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКОГО НЕРВА КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ ЕГО ПОВРЕЖДЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ ОМЕГА-3-ПОЛИЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ – Исследование проведено на белых крысах, которые были разделены на две группы. Животным I и II групп воспроизвели экспериментальную модель травмы седалищного нерва. В послеоперационном периоде крысам первой группы фармакотерапия не проводилась. Крысам второй группы в послеоперационном периоде вводились омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты ежедневно на протяжении 3 недель в дозе 0,04 г/кг. Изучали ультраструктуру и морфометрическую характеристику периферического отрезка седалищного нерва через 6 недель после повреждения в обеих группах животных. Проведенное исследование свидетельствует, что в группе животных, которым проводилась фармакологическая коррекция при помощи омега-3-полиненасыщенных жирных кислот, процесс регенерации травмированного периферического нерва активизировался.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF RAT PERIPHERAL NERVE AFTER INJURY AND USE OF OMEGA-3-POLYUNSATURATED FATTY ACIDS – Experiment was carried out on white rats, which were divided into 2 groups. Experimental trauma of the sciatic nerve was carried out in 2 groups. Drug correction was not applied in the first group. Omega-3-polyunsaturated fatty acids applied during 3 weeks in a dose 0,04 g/kg in a day in the second group of animals. Ultrastructural and morphometrical characteristics of the peripheral stumps of sciatic nerve in 6 weeks after the injury in both group of animals were studied. The results obtained testify, that in the groups of rats with pharmacological correction by omega-3-polyunsaturated fatty acids process of regeneration was activated.

Ключові слова: периферійний нерв, ультраструктура, регенерація, омега-3-поліенасичені жирні кислоти.

Ключевые слова: периферический нерв, ультраструктура, регенерация, омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты.

Key words: peripheral nerve, ultrastructure, regeneration, omega-3-polyunsaturated fatty acids.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМЫ. Проблема комплексного лікування пошкоджених периферійних нервів залишається актуальною, оскільки травми периферійних нервів призводять до втрати працездатності та до тяжкої інвалідизації хворих переважно молодого віку. Середній вік постраждалих становить 31,2 року (Хонда О.М., 1998).

Аналіз останніх досліджень. Незважаючи на використання сучасних методів мікрохірургічної техніки не всі постраждали досягають повного видужання і відновлення функцій, тому важливу ланку в комплексному лікуванні пошкоджених периферійних нервів займає використання фармакологічних засобів (Миронов С.П., 2005). Таким чином є доцільним продовжувати пошук фармакологічних засобів, що ефективно впливали б на ключові процеси регенерації травмованих периферійних нервів.

Оскільки омега-3-поліенасичені жирні кислоти мають вплив на стан ліпідного обміну, показники гемостазу, імунної системи та перебіг запального процесу (Фещенко Ю.І., 1996) нами було вирішено вивчити механізми впливу даного фармакологічного засобу на процеси регенерації ушкодженого периферійного нерва.

Метою даного дослідження було: провести порівняльний ультраструктурний та морфометричний аналіз периферійного нерва щура за умов застосування омега-3-поліенасичених жирних кислот та без фармакотерапії через 6 тижнів після його ушкодження.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Дослідження проводили на білих рандомбредних щурах самцях. Відповідно до завдань дослідження тварини були розподілені на дві групи. Тваринам I та II групи під гексеналовим наркозом після мобілізації правий сідничий нерв в ділянці середньої його третини спочатку розчавлювали, в цьому ж місці перев'язували ниткою кетгут №1, а потім перетинали вище місця перев'язки. Центральний та периферійний відрізки фіксували епіневральними швами ниткою поліамід 6/0 на атравматичній голці на відстані 2-3мм. Тваринам I групи (контроль) у післяопераційному періоді вводили щоденно протягом 3 тижнів фізіологічний розчин у дозі 0,04 г/кг ентально. Тваринам II групи (експериментальна група) у післяопераційному періоді вводили щоденно протягом 3 тижнів масляний розчин омега-3-поліенасичених у дозі 0,04 г/кг всередину. Досліджували периферійний відрізок сідничого нерва в обох групах тварин через 6 тижнів після пошкодження. Перед забором матеріалу тваринам вводили надлишкову дозу гексеналу. Матеріал фіксували 2,5% глутаровим альдегідом на фосфатному буфері та обробляли за загальноприйнятою електронно-мікроскопічною методикою. Зрізи нервів були виготовлені на ультрамікромтомі LKB-III. Частину зрізів було забарвлено толуїдиновим синім, інша частина зрізів нервів контрастною уранілацетатом та азотнокислим свинцем. Морфометричні дослідження, в основі яких лежать принципи стереометрії, проводили на пристрої обробки графічних зображень. В даному дослідженні визначали такі показники: об'єм та кількість овоїдів дегенерації в одиниці об'єму нерва, площу та периметри овоїдів дегенерації. Результати обробляли статистично. Ультратонкі зрізи продивлялись та фотографувались в електронному мікроскопі ПЕМ- 125К.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Морфометричний та статистичний аналізи периферійного відрізка сідничого нерва щура при застосуванні омега-3-поліенасичених жирних кислот через 6 тижнів після пошкодження (експериментальна група) показали наявність овоїдів дегенерації в одиниці об'єму (1,17±0,19) %, що статистично достовірно менше контрольних даних (5,67±0,08)% відповідно ($p < 0,05$), де фармакотерапія була відсутня. Кількість овоїдів дегенерації в одиниці об'єму в експериментальній групі тварин складає (2,38±0,37) $\times 10^{-2}$ /мкм³, що статистично ймовірно відрізняється від контролю (4,2±0,53) $\times 10^{-2}$ /мкм³ ($p < 0,05$), де кількість овоїдів значно більша.

Аналіз овоїдів дегенерації за розміром свідчить, що периметр переважної їх кількості статистично достовірно менший у тварин експериментальної групи при застосуванні омега-3-поліенасичених жирних кислот (113,92±3,63) мкм на відміну від контролю (163,67±3,19) мкм відповідно ($p < 0,05$). Статистично ймовірно зменшення площі овоїдів дегенерації при застосуванні омега-3-поліенасичених жирних кислот і становить (787,62±47,2) мкм² на відміну від контролю (1512,70±49,88) мкм² відповідно ($p < 0,05$), де препарат не вводився (таблиця).

Таким чином при застосуванні фармакотерапії спостерігається зменшення об'єму овоїдів дегенерації в одиниці об'єму нерва, зменшення кількості овоїдів дегенерації в одиниці об'єму нерва і зменшення їх розміру, а саме площі

Таблиця. Стереологічні показники змін овоїдів дегенерації нервових волокон щурів в динаміці експерименту

Група	Об'єм овоїдів волокон в одиниці об'єму нерва, %	Кількість овоїдів волокон в одиниці об'єму нерва, $\times 10^{-2}$ мкм ³	Середній периметр, мкм	Середня площа, мкм ²
I	5,67 \pm 0,088	4,24 \pm 0,53	163,67 \pm 3,19	1512,70 \pm 49,88
II	1,173 \pm 0,19*	2,38 \pm 0,37*	113,92 \pm 3,63*	787,62 \pm 47,2*

Примітка. Різниця достовірна ($p < 0,05$): * - відносно попередньої групи спостережень аналогічного терміну.

та периметра, що свідчить про прискорення процесів регенерації у тварин експериментальної групи.

В результаті проведеного ультраструктурного аналізу було встановлено, що через 6 тижнів після пошкодження сідничного нерва без застосування фармакотерапії спостерігається наявність дегенеративних мієлінових нервових волокон у вигляді електроннощільного скупчення мієлінових пластинок, які втратили впорядкованість, що представлено явищем ущільнення та в деяких місцях розволокнення мієлінової оболонки; осьовий циліндр відсутній; простір між базальною мембраною та мієліновою оболонкою розширений. В таких мієлінових нервових волокнах, клітини Шванна зруйновані, внаслідок цього волокна оточені клітинним детритом нейролеммоцитів (рис.1).

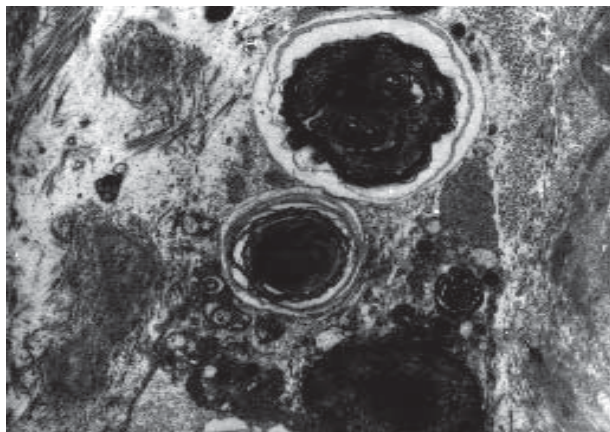


Рис.1 Відрізок сідничного нерва щура через 6 тижнів після пошкодження.

На деяких зрізах спостерігаються локальні ділянки набряку сполучної тканини. Виявлені гіперосмовані сполучнотканинні клітини, що свідчить про порушення синтезу колагену, окрім цього порушується і структура колагену, на що вказує зміна звичайної періодичності чергування темних та світлих ділянок в бік переваги темних. Також виявлені фрагменти макрофагів, що містять рідину набряку, ліпідні краплі, лізосоми. У периневрії спостерігається клітинний детрит у вигляді залишків клітин Шванна, макрофагів, фібробластів. В цей же термін після пошкодження сідничного нерва в нервовому волокні виявляються кровоносні судини, переважно пре – та посткапіляри. Ендотелій цих судин, як правило, електроннощільний та має велику кількість мікрворсинок, що є проявом реактивності ендотелію. Окрім цього, виявляються розходження міжендотеліальних контактів з утворенням так званих локусів витоку, що свідчить про порушення проникності судинної стінки, підтвердженням цьому може бути також розшарування базальної мембрани.

Транспортні структури: мікропіноцитозні пухирці та вакуолі переважно локалізовані поблизу базальної плазмолемної мембрани ендотеліальних клітин

В безмієлінових нервових волокнах спостерігається набряк аксоплазми у вигляді її просвітлення.

Разом з тим, на тлі зруйнованих нервових волокон, спостерігається явище регенерації у формі появи новоутворених, молодих мієлінових нервових волокон. В таких волокнах мієлінова оболонка вузька з чітко впорядкованою ламелярною організацією, а в аксоплазмі осьових циліндрів в невеликій кількості представлені нейротрубочки, нейрофіламенти та мітохондрії. З одного боку клітини Шванна знаходяться в активному стані: гарно розвинена ендоплазматична сітка, численні рибосоми та мітохондрії з чіткими контурами та великою кількістю крист. З іншого боку в деяких нейролеммоцитах відмічено підвищену кількість лізосом, особливо в тих, які мають пошкоджені мієлінові волокна (рис.2).

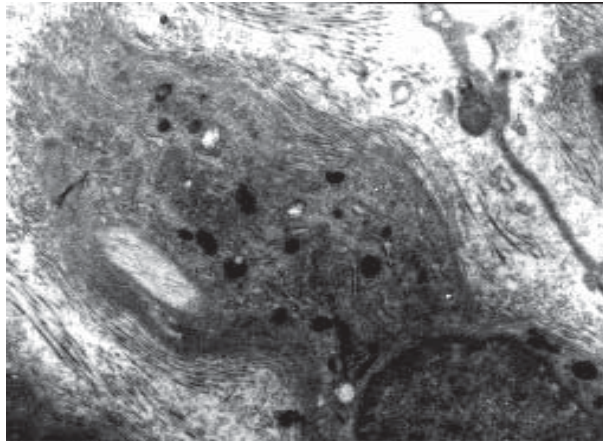


Рис.2. Відрізок сідничного нерва щура через 6 тижнів після пошкодження.

виявлені мієліноподібні структури, які свідчать про мієлінову дегенерацію мембранних органел, що могло статися внаслідок порушення фосфоліпідного обміну.

Через 6 тижнів після пошкодження сідничного нерва при умові застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот спостерігається на тлі поодиноких дегенеративно змінених нервових волокон наявність великої кількості знов утворених молодих безмієлінових та мієлінових нервових волокон різного діаметра (рис.3).

Клітини Шванна знаходяться в активному стані, про що свідчить гарно розвинена цитоплазма з органелами метаболічного плану. В нейролеммоцитах виявлені виражена гранлярна ендоплазматична сітка; вільні рибосоми; в значній кількості впорядковані цистерни та міхурці апарату Гольджі; мітохондрії округлої або витягнутої форми, контури їх рівні. Вони мають численні кристи та електроннощільний матрикс. В аксоплазмі клітин Шванна виявляється помірна кількість нейротрубочок, нейрофіламентів та молодих мітохондрій невеликих розмірів (рис.3).

В сполучній тканині в цей термін після пошкодження сідничного нерва при умові застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот виявляється велика

кількість ліпідних гранул в цитоплазмі фібробластів та клітин Шванна. Практично не виявлено змінених сполучотканинних елементів: гіперосомованих фібробластів, макрофагів. Колагенових волокон в порівнянні з

іншою групою (контрольною) виявлено менше, вони оточені дисперсним електронно-щільним матеріалом який, очевидно є залишками зруйнованих колагенових волокон (рис. 4).

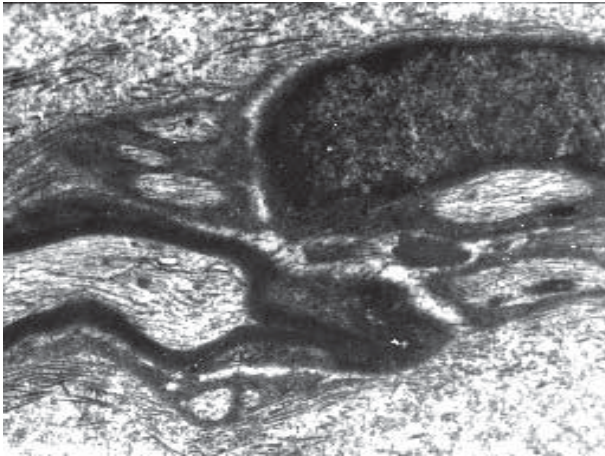


Рис.3. Відрізок сідничного нерва щура через 6 тижнів після пошкодження за умов застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот.

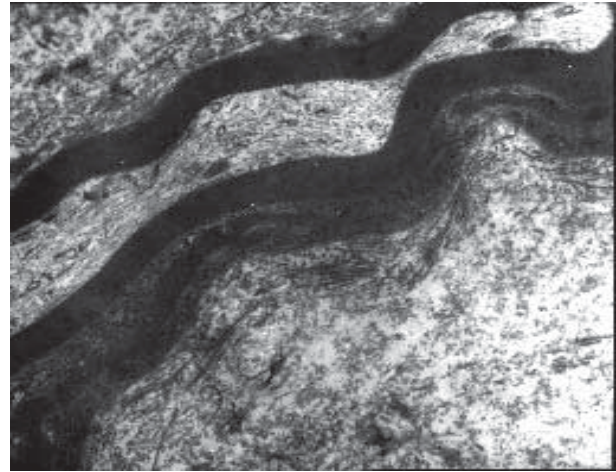


Рис.4. Відрізок сідничного нерва щура через 6 тижнів після пошкодження за умов застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот.

Про зниження реактивності ендотелію можна судити за зменшенням кількості мікроблестів плазматичної мембрани ендотеліоцитів, а витончення ендотеліальної вистілки судин є свідченням покращення мікроциркуляції, що вказує на підсилення компенсаторно-приспосувальних процесів в групі експериментальних тварин.

ВИСНОВКИ. Проведене дослідження свідчить, що застосування омега-3-поліненасичених жирних кислот при умові пошкодження периферійного нерва активує біосинтетичні процеси в клітинах Шванна, що прискорює темп регенерації у вигляді появи більшої кількості активних нейролеммоцитів, що містять новоутворені нервові волокна. Про прискорення процесу регенерації свідчить також зменшення кількості та розміру овоїдів дегенерації в разі застосування фармакотерапії. За результатами дослідження можна також припустити, що в експериментальній групі знижена фібробластична реакція, що також може сприяти прискоренню проростання більшої кількості новоутворених нервових волокон. Отримані дані вказують на те, що омега-3-поліненасичені жирні кислоти в даному випадку також покращують мікроциркуляцію, що підсилює компенсаторно-приспосувальні процеси регенеруючих нервових волокон.

Перспективи подальших досліджень. Перспективи подальших досліджень полягають у поглибленому вивченні впливу омега-3-поліненасичених жирних кислот на процес мієлінізації новоутворених нервових волокон, та вплив даного препарату на стан імунної системи за умов пошкодження периферійних нервів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г., Яблучанский Н.И., Губенко В.Г. Системная стереометрия в изучении патологического процесса. - М.: Медицина, 1981. - 192 с.
2. Карупу В.Я. Электронная микроскопия. - К.: Вища школа. Головное изд-во, 1984. -С.-208.
3. Мионов С.П. Диагностика и выбор тактики лечения при повреждении периферических нервов / С.П. Мионов, А.И. Курапаткин, К.Г. Голубев, Д.Е. Попов// Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова.-М, 2005.-№2.-С.33-39.
4. Фещенко Ю.И. Омега-3 ПНЖК. Новый лекарственный препарат Теком/ Под ред. Ю.И.Фещенко и В.К.Гаврисюка. - К., 1996. - 124 с.
5. Хонда О.М. Микрочирургия периферических нервов с функциональным принципом выполнения восстановительной операции. Бюллетень УАН, 1998, №6.С.28-29.
6. Чайковский Ю.Б. Регенерационная неврома.// Морфология. -1999.- №1-С.55-67.

Гульков Ю.К.

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РАКУ ШЛУНКА ДИФУЗНОГО ТИПУ

Донецький державний медичний університет

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РАКУ ШЛУНКА ДИФУЗНОГО ТИПУ – Проведено гістотопографічне дослідження 125 випадків раку шлунка дифузного типу. Встановлена висока частота гістологічної гетерогенності його (80,0 % випадків), коли крім дрібноклітинного, поліморфноклітинного та перснеподібноклітинного зустрічались вогнища аденокарциноми, солідного та слизового раку. Часто виявлена цитологічна гетерогенність (73,6 % випадків) та висока частота пухлинних клітин з високо-вираженою секрецією муцину (69,6 %), але у 92,8 % випадків було порушення полярного диференціювання пухлинних клітин. Ендокринне диференціювання виявлено у 77,6 % випадків раку шлунка та у 73,5 % пухлинних клітин емболів.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАКА ЖЕЛУДКА ДИФУЗНОГО ТИПА – Проведено гистотопографическое исследование 125 случаев рака желудка дифузного типа. Установлена высокая частота гистологической гетерогенности его (80,0 % случаев), когда кроме мелкоклеточного, полиморфноклеточного и перстневидно-клеточного рака встречались очаги аденокарциномы, солидного и слизистого рака. Часто выявлялась клеточная гетерогенность (73,6 % случаев) и высокая частота опухолевых клеток с высокой секрецией муцина (69,6 %), однако в 92,8 % случаев было нарушение полярной дифференцировки опухолевых клеток. Эндокринная дифференцировка выявлена у 77,6 % случаев рака желудка и в 73,5 % опухолевых клеток эмболів.

MORPHOLOGIC FEATURES OF STOMACH CANCER OF DIFFUSE TYPE – The histotopographic investigation of 125 cases of stomach cancer of diffuse type has been performed. The high rate of histological heterogeneity (80,0 % cases) is proved when small cell, polymorph cell and signet-ring cell carcinomas contain foci of adenocarcinoma, solid and mucinous cancers. High rate of cytological heterogeneity (73,6 % cases) and high specific rate of mucin-secreting cells (69,6 % cases) have been revealed, but disturbance of polar differentiation of tumor cells was shown in 92,8 % cases. Endocrine differentiation was shown in 77,6 % cases of stomach cancer and in 73,6 % cells in tumor emboli.

Ключові слова: гетерогенність, рак шлунка, дифузний тип.

Ключевые слова: гетерогенность, рак желудка, диффузный тип.

Key words: heterogeneity, stomach cancer, diffuse type.

ВСТУП Рак шлунка протягом багатьох років займає одне з перших місць серед онкологічних захворювань (Шалімов С.О. та співавт. 2002 р.). Найбільш поширеною та визною у світі стала класифікація раку шлунка за Lauren P (1965р.), де виділяють рак шлунка кишкового типу, який представлений високодиференційованою аденокарциномою; рак дифузного типу, який має будову перснеподібноклітинного, дрібно- та поліморфноклітинного (з відсутністю або мінімально вираженою тенденцією до формування залозистоподібних структур), та змішаний рак шлунка (Lauren P., 1965р.).

Дослідження Lauren P. та його основні положення відкрили новий етап у навчанні про морфологію раку шлунка. Однак, на сьогодні, завдяки численним роботам по раку шлунка (як теоретичних, так і практичних) з'явилися нові дані про особливості різних форм раку шлунка, частоті та значущості їх, прогнозу (І.А. Данилова, 2005, Василенко І.В., Садчиков В.Д., Галахин К.А. та і., 2001).

Ціль. Ціллю даного дослідження є встановлення морфологічних особливостей раку шлунка дифузного типу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Робота зроблена на 125 випадках переважно операційного, рідко секційного матеріалу, який вивчався гістотопографічно з фарбуванням зрізів гематоксилін-еозинном, альціановим синім при рН 2,5 та 1,0, PAS-реакцією. Для виявлення ендокринного диференціювання пухлинних клітин зрізи фарбувалися за Севкі, Гримелиусом, Масоном, проводилось виявлення активності естерази. Крім того, для виявлення глюкокон'югатів використовувалась лектинна гістохімія з панеллю з 8 лектинів, помічених пероксидазою.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Рак шлунка дифузного типу виявлений у 125 випадках, що складає 49,6 % від усіх видів раку шлунка. Значно підвищилась його частота порівняно з кишковим (34,1 %) та змішаними типами (16,3 %) раку шлунка. Дана тенденція відмічена у всьому світі (Данилова І.А., 2005 р., Lee K.H. et al, 2001, Sasaki O et al, 1999).

Розподіл матеріалу за статтю, показав, що чоловіки значно переважали при цій формі раку шлунка, та становили 56,4 %, тоді як жінки – 43,6 %. Вік хворих на дифузний рак шлунка коливався від 17 до 81 року. Однак найбільша кількість дифузного раку шлунка відмічена у групі людей, молодших 50 років – 57,6 %, з них у 65,2 % - в віці 17-39 років, причому відношення чоловіків та жінок у цієї вікової категорії практично було однаковим.

Макроскопічно рак шлунка дифузного типу мав ендоклітинну форму інфільтрата або інфільтративно-виразкову 84,6 %, рідко екзофітну форму виразки з валоподібно піднятими краями – 15,4 %.

У більшості випадків (92,7 %), рак дифузного типу належав до прогресуючого (проростав не тільки у підслизову основу, але і у м'язовий та субсерозний шари шлунка), та тільки у 7,3 % віднесений до раннього. З усіх випадків прогресуючого раку шлунка дифузного типу, пухлинні емболі та метастази мали місце у 40,8 %, з них у 23,5 % відмічено як лімфогенне, так і гематогенне поширення пух-

лини (яєчники, кістки, легені, надниркові залози, мозок, печінка, серце, шкіру). Метастазування відмічалось у всіх вікових групах, незалежно від статі. Однак у віковій категорії 40-59 років, частота метастазування була вищою та складала 57,6 %.

За локалізацією у шлунку більшість раку дифузного типу виявлялась у антральному відділі (46,1%). У 5,2 % випадків рак дифузного типу виходив за межі однієї локалізації, а у 6,9% мало місце тотальне ураження шлунка. Кардіальний відділ шлунка був уражений пухлинним процесом тільки у 0,9 % випадків.

Гістотопографічне дослідження дозволило виявити, що тільки у 20 % випадків пухлина була представлена дрібноклітинним, поліморфноклітинним та перснеподібноклітинним раком, або їх поєднанням. У всіх інших випадках серед типово побудованого дифузного раку виявлялись дрібні ділянки аденокарциноми (54,4 %), різного ступеня диференціювання – від високо- до низькодиференційованої. Зустрічались також ділянки солідного та слизового раку. Слід відмітити, що у 11,8 % випадків, пухлинні емболі та метастази були представлені аденокарциномою, тоді як пухлина у шлунку мала будову, характерну для дифузного раку.

Таким чином, рак шлунка дифузного типу, у більшості випадків (80 %) був гетерогенним з гістологічної будови, але зустрічалась зміна диференційовки пухлини у метастазах.

Були проаналізовані морфологічні особливості пухлинних клітин раку дифузного типу. Виявлені три типи пухлинних клітин залежно від ступеня диференціювання. Високодиференційовані пухлинні клітини характеризувалися дрібними, мноморфними, гіперхромними ядрами та значною кількістю цитоплазми. Помірно диференційовані мали великі світлі ядра з ядерцями та помірною кількістю цитоплазми. Низькодиференційовані – з різко поліморфними, великими, часто гігантськими, гіперхромними ядрами та вузьким часто нерозрізненим обідком цитоплазми.

Один тип клітин зустрівся тільки в 24,4 %. У всіх інших випадках (76,6 %) пухлина була побудована зі сполучення високо- і помірно диференційованих пухлинних клітин (34,6 %), сполучення помірно та низькодиференційованих пухлинних клітин (34,8 %) або з усіх трьох типів клітин (7,2 %).

Таким чином, можна зробити висновок про наявність не тільки тканинної гетерогенності дифузного раку шлунка, але і гетерогенності на клітинному рівні.

Нами було проаналізовано функціональне диференціювання пухлинних клітин, що оцінювалось за ступенем продукції і локалізації муцину. У більшості випадків продукція муцину була високою - 69,6 %, у 23,2% – помірною і тільки в 7,2 % секрет був у невеликій кількості або відсутній. Відзначено нерівномірний розподіл секрету в одній і тій же пухлині. У переважній більшості випадків (92,8 %) відзначався вихід секрету в струму, що свідчить про порушення полярного диференціювання пухлинних клітин.

Таким чином, якщо за кількістю секретуючого муцину дифузний рак шлунка є високодиференційованим, то за відсутності полярного диференціювання – низькодиференційованим. Характерно, що висока продукція муцину зберігалася і у клітинах пухлинних емболів (94,1 %), що підтверджує дані літератури про те, що пухлини з високою продукцією муцину відрізняються гіршим прогнозом (Stachura et al, 1999).

Нами було оцінене ендокринне диференціювання дифузного раку шлунка. Так у 77,6 % РШ дифузного типу був ендокринно-клітинним. Причому, у 28,8 % він був високодиференційованим ендокринно-клітинним раком, тобто гранули секрету виявлялися у цитоплазмі більшості пухлинних клітин та за інтенсивністю фарбування вони наближались до нормальних ендокринних клітин. У клітинах

пухлинних емболів ендокринне диференціювання виявлене в 73,5 % випадків.

Лектинна гістохімія показала, що у РШ дифузного типу частіше виявляється висока та помірна кількість рецепторів до лектину виноградного равлика (HPA) – 78 %; бузини чорної (SNA) – 83 %; рідше до лектину арахісу (PNA) – 22 % і сої (SBA) – 22 %. Наявність рецепторів до лектинів коливалася в межах кожного випадку, тобто відзначена гетерогенність РШ дифузного типу і за кількістю вуглеводних детермінант. Найбільш часта кількість рецепторів зростала при інвазії, а у випадках з інвазією судин у пухлинних клітинах емболів (порівняно з випадками без інвазії судин) значно більша кількість клітин з рецепторами до лектину виноградного равлика (у 4 рази), бобівника анагіролистого (у 3 рази) та бузини чорної (у 2 рази).

ВИСНОВКИ 1. На сьогодні частота дифузного раку шлунка зростає, і склала 49,6 % усіх випадків раку шлунка. Він незначно частіше зустрічався у чоловіків (56,4 %) у віці до 50 років та локалізувався у антральному відділі шлунка (46,1 %), у 92,7 % належав до прогресуючого з високою частотою інвазії судин та метастазуванням (40,8 %). 2. Дифузний тип раку шлунка у переважній більшості випадків був гетерогенним за ступенем диференціювання як на тканинному, так і на клітинному рівні, а так само у функційному відношенні за виразністю секреції слизу та ендокринного диференціювання. 3. Не зважаючи на високу продукцію муцину у пухлинних клітинах (69,6 %) та клітинах пухлинних емболів (92,8 %), було відсутнє полярне диференціювання, що свідчить про своєрідність канцерогенезу раку шлунка дифузного типу. 4. Склад вуглеводних специфічностей муцину, встановлений за допомо-

гою лектинної гістохімії пухлинних клітин, також був гетерогенним та мав відмінності гістотопографічні у випадках з інвазією судин, та без неї.

Перспективи. Отримані дані будуть зіставлені з іншими морфологічними особливостями дифузного раку шлунка, що може бути використано для оцінки прогнозу, вибору методу лікування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Данилова І.А. К вопросу о клинико-морфологических вариантах рака желудка // Арх. патологии. -2005. -№5. - С. 32-34.
2. Василенко І.В., Садчиков В.Д., Галахин К.А. и др. Предрак и рак желудка: этиология, патогенез, морфология, лечебный патоморфоз// К.: Книга плюс. – 2001 – 232с.
3. Шалімов С.О., Федоренко З.П., Гулак Л.О. і співавт. – Рак в Україні, 2000 – 2001// Бюлетень національного канцер-реєстру України – К., – 2002. – 73с.
4. Lee K.H., Lee J.H., Cho J.K., Kim T.W., Kang Y.K., Lee J.S., Kim W.K., Chung J.G., Lee I.C., Sun H.S. A prospective correlation of Lauren's histopathological classification of stomach cancer with clinicopathological findings including DNA flow cytometry // Pathol. Res. Pract. – 2001. – Vol. 197, № 4. – P 223-229.
5. Mita T., Shimoda T. Risk factors for lymph node metastasis of submucosal invasive differentiated type gastric carcinoma: clinical significance of histopathological heterogeneity // J. Gastroenterol. – 2001. – Vol. 36, № 10. – P. 661-668.
6. Sasaki O., Soejima K., Korenaga D., Haraguchi Y. Comparison of the intratumor DNA ploidy distribution pattern between differentiated and undifferentiated gastric carcinoma // Annal. Quant. Cytol. Histol. – 1999. – Vol. 21, № 2. – P. 161-165.
7. Stachura J., Krzeszowiak A., Popiela T., Urbanczyk K., Pituch-Noworolska A., Wieckiewicz J., Zembala M. Preferential overexpression of CD44v5 in advanced gastric carcinoma Goseki grades I and III // Pol. J. Pathol. – 1999. – Vol. 50, № 3. – P. 155-161.

Григорьева Е.А.

ОСОБЕННОСТИ МОРФОГЕНЕЗА СУСТАВНОГО ХРЯЩА НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ГИДРОКОРТИЗОНА БЕРЕМЕННЫМ

Запорізький державний медичний університет

ОСОБЛИВОСТІ МОРФОГЕНЕЗУ СУГЛОБОВОГО ХРЯЩА НОВОНАРОДЖЕНИХ ЩУРІВ В НОРМІ І ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ ГІДРОКОРТИЗОНУ ВАГІТНИМ – У роботі за допомогою використання морфометричних, гістологічних, гістохімічних засобів проведено вивчення особливостей морфогенезу суглобового хряща щурів на тлі внутрішньоутробного впливу гідрокортизону. Встановлено, що внутрішньоутробний вплив гідрокортизону на організм плода викликає зменшення довжини гомілки щурів в ранньому післянатальному періоді онтогенезу, викликає витонченню суглобового хряща дистального епіфізу стегнової кістки щурів переважно завдяки зменшення товщини поверхневої зони; змінює розміри хондроцитів, їх ядер та показники ядерно-цитоплазматичного співвідношення в морфофункціональних зонах суглобового хряща щурів у ранньому післянатальному періоді.

ОСОБЕННОСТИ МОРФОГЕНЕЗА СУСТАВНОГО ХРЯЩА НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ГИДРОКОРТИЗОНА БЕРЕМЕННЫМ – В работе, на основании применения морфометрических, гистологических, гистохимических методов исследования проведено изучение особенностей морфогенеза суставного хряща крыс на фоне внутриутробного воздействия гидрокортизона. Установлено, что внутриутробное воздействие гидрокортизона на организм плода приводит к уменьшению продольных размеров голени крыс в раннем постнатальном периоде онтогенеза, вызывает истончение суставного хряща дистального эпифиза бедренной кости крыс преимущественно за счет уменьшения толщины поверхностной зоны; изменяет размеры хондроцитов, их ядер и показатели ядерно-цитоплазматического отношения в морфофункциональных зонах суставного хряща крыс в раннем постнатальном периоде.

MORPHOGENESIS PECULIARITIES OF NEWBORN ARTICULAR CARTILAGE UNDER THE HYDROCORTISONE INFLUENCE ON PREGNANT RATS – On the basis of morphometrical, histological, histochemical methods were examined the peculiarities of rats' articular cartilage morphogenesis against the

background of intranatal hydrocortisone influence. It was established that intranatal hydrocortisone injection decreased the length of the rat's leg in early postnatal period, influenced on the fetal organism by decreasing of articular cartilage thickness, changes chondrocytes' characteristics, nucleo-cytoplasmic index, the density of chondrocytes allocation in morphofunctional articular cartilage zones of rats in early postnatal period, changes the correlation between chondrocytes and extracellular matrix in morphofunctional articular cartilage zones.

Ключові слова: суглобовий хрящ, хондроцит, гідрокортизон.

Ключевые слова: суставной хрящ, хондроцит, гидрокортизон.

Key words: articular cartilage, chondrocyte, hydrocortisone.

ВВЕДЕНИЕ Костная и хрящевая ткани характеризуются значительной пластичностью и чувствительностью к изменению регуляторно-метаболических процессов в организме, являются мишенью действия различных экзо- и эндогенных факторов [1, 6, 8]. На сегодняшний день нарушения развития опорно-двигательного аппарата у детей находят на одном из первых мест в структуре общей заболеваемости [5]. Изменение гормонального статуса беременных влияет на процессы морфогенеза внутренних органов плода [7]. Задержка роста организма и отставание костного возраста составляют симптомокомплекс многих эндокринных заболеваний. Гормональный дисбаланс беременных является одной из основных причин развития синдрома недифференцированной дисплазии соединительной ткани у новорожденных [10]. Рост числа заболеваний соедини-

тельной ткани, в целом, и суставов, в частности, в структуре общей заболеваемости у детей указывает на необходимость изучения морфогенеза суставного хряща в раннем постнатальном периоде на фоне изменения гормонального статуса беременных.

Цель: изучить влияние введения гидрокортизона в третьем триместре беременности на морфогенез суставного хряща новорожденных крыс в раннем постнатальном периоде онтогенеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В работе исследованы три группы животных от момента рождения до 60-х суток жизни. Первая группа – интактные крысы линии Вистар. Беременным самкам второй группы животных внутримышечно ежедневно в третьем триместре беременности вводили гидрокортизон по методике Павловой И.Г. (1989) в дозе 10 мг/кг [7], беременным крысам третьей, контрольной группы в третьем триместре беременности вводили физиологический раствор. Забой животных осуществляли на 14, 30, 45, 60 суток после рождения. На каждый срок во всех группах животных были исследованы 5-6 крыс, у которых измеряли копчиково-теменное расстояние и длину голени. Для гистологического исследования вычленили левый коленный сустав, фиксировали кусочки в жидкости Буэна, декальцинацию проводили раствором муравьиной кислоты. Суставы обезвоживали в восходящей батарее спиртов, заливали в смесь парафина, воска и каучука из расчета 20:1:1. Изготавливали гистологические срезы толщиной 5-6 мкм, которые окрашивали реактивом Шиффа с докраской ядер гематоксилином. В срезах исследовали соотношение морфофункциональных зон суставного хряща дистального эпифиза бедренной кости. Оценивали плотность распределения хондроцитов на условной единице площади (2500 мкм²) в поверхностной, промежуточной зонах суставного хряща. С помощью программы обработки изображений «ВидеоТест 4.0» во всех морфофункциональных зонах суставного хряща определяли площадь хондроцитов, площадь, занимаемую цитоплазмой и ядром, митотически делящиеся клетки не учитывали. Оценивали динамику ядерно-цитоплазматического отношения в долях (площадь ядра/площадь цитоплазмы) в хондроцитах поверхностной, промежуточной и базальной зон суставного хряща в 5 полях зрения в 5 срезах у одного животного. Данные обработаны методом вариационной статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ Ранее нами установлено, что внутриутробное воздействие гидрокортизона существенно не изменяет копчиково-теменную длину крыс в раннем постнатальном периоде по сравнению с интактными и контрольными животными. Однако, длина голени у крыс после внутриутробного воздействия гидрокортизона меньше, чем у интактных и контрольных животных на протяжении первых двух месяцев постнатальной жизни [4]. Воздействие гидрокортизона во внутриутробном периоде развития вызывает истончение суставного хряща дистального эпифиза бедренной кости в раннем постнатальном периоде (до 45-х суток жизни), преимущественно за счет уменьшения толщины его поверхностной и промежуточной зон.

По данным А.А. Горлова (2003) глюкокортикоиды проникают через плаценту, но не вызывают угнетения гипоталамо-гипофизарной системы и не приводят к увеличению частоты врожденных пороков [3]. У новорожденных крыс после введения гидрокортизона в третьем триместре беременности замедляется формирование бесклеточной пластинки поверхностной зоны суставного хряща, что, по-видимому, связано с торможением синтеза коллагена хондроцитами поверхностной зоны после длительного введения гидрокортизона. Полученный результат согласуется с данными Радостиной А.И., отмечавшей схожие процессы в фибробластах дермы взрослых крыс [9], и с данными Ба-

туры И.А. [2], указывавшего на дезагрегацию коллагеновых волокон хрящевого матрикса, нарушение синтеза гликозаминогликанов хондроцитами при длительном введении высоких доз гидрокортизона.

У экспериментальных животных на 14-е сутки после рождения определяются достоверно меньшие размеры хондроцитов поверхностной зоны, по сравнению с контрольными и интактными крысами (38,78±1,29 мкм² и 50,46±2,32 мкм², соответственно). Площадь ядер хондроцитов поверхностной зоны экспериментальных крыс также существенно меньше, чем в контроле. Реже, чем в контроле, встречаются двуядерные клетки (3,28 % в эксперименте, 9,09% – в контроле). Однако, ядерно-цитоплазматическое отношение хондроцитов поверхностной зоны экспериментальных животных выше, чем в контроле (0,66 ± 0,03 и 0,57 ± 0,04, соответственно). В 6,56 % встречаются хондроциты, у которых ядерно-цитоплазматическое отношение > 1, в то время как в контроле хондроциты с таким показателем ядерно-цитоплазматического отношения не встречаются. Чаще, чем в контроле, определяются хондроциты с ядерно-цитоплазматическим отношением ≥ 0,5 (70,49 % и 63,64 %, соответственно). Полученный факт свидетельствует о снижении интенсивности синтетических процессов в цитоплазме хондроцитов, что соответствует данным Радостиной А.И., указывавшей на задержку развития гранулярной эндоплазматической сети, комплекса Гольджи и митохондрий фибробластов крыс после воздействия гидрокортизона [9]. Полученные результаты согласуются с ранее опубликованными данными о повышенной, по сравнению с интактными животными, плотности распределения хондроцитов поверхностной зоны суставного хряща на условной единице площади.

В промежуточной зоне, наоборот, площадь хондроцитов экспериментальных крыс достоверно больше, чем у интактных (123,51±4,06 мкм² и 103,489±1,43 мкм², соответственно). Цитоплазма хондроцитов промежуточной зоны экспериментальных крыс вакуолизована, чему соответствует и увеличение площади цитоплазмы хондроцитов по сравнению с контролем (118,35±2,59 мкм² и 90,19±1,45 мкм², соответственно). В 2 раза чаще, чем у интактных встречаются клетки, не содержащие ядер (51,33 %). Ядерно-цитоплазматическое отношение всех хондроцитов промежуточной зоны как контрольных, так и экспериментальных крыс < 0,5. В базальной зоне также размеры клеток экспериментальных крыс превышают размеры хондроцитов в контроле.

В дальнейшем, к окончанию второго месяца жизни у экспериментальных животных бесклеточная пластинка поверхностной зоны суставного хряща остается не сформированной. За счет этого толщина поверхностной зоны суставного хряща больше, чем у интактных крыс (46,74±2,88 мкм и 43,59±1,81 мкм, соответственно). Хондроциты поверхностной зоны экспериментальных крыс округлой формы, в то время, как в контроле их продольная ось располагается параллельно суставной поверхности. В эксперименте размеры хондроцитов поверхностной зоны несколько больше, чем в контроле (45,66±2,33 мкм² и 43,68±1,92 мкм², соответственно), ядерно-цитоплазматическое отношение хондроцитов поверхностной зоны экспериментальных животных по-прежнему выше, чем в контроле (0,57±0,03 и 0,39±0,04, соответственно). На долю хондроцитов с ядерно-цитоплазматическим отношением ≥ 0,5 приходится 48,94 % хондроцитов, в то время как в контроле – 25 %, у экспериментальных крыс в 8,51 % хондроцитов ядерно-цитоплазматическое отношение ? 1, в контроле такие хондроциты не встречаются. Увеличивается площадь хондроцитов промежуточной зоны (139,61±3,55 мкм²), цитоплазма хондроцитов вакуолизована. В то же время, размеры хондроцитов промежуточной зоны интактных крыс уменьшаются по сравнению как с 45-ми сутками жизни, так и с экспери-

ментальними животними (84,12±2,63 мкм²). Во всех группах животных ядерно-цитоплазматическое отношение хондроцитов промежуточной зоны ≤ 0,5 безъядерные хондроциты в эксперименте встречаются в 6,7 %, а в контроле – в 27,27 %. Размеры хондроцитов базальной зоны отличаются незначительно во всех группах крыс, однако в эксперименте в 2 раза реже встречаются хондроциты, не содержащие ядер (73,85 и 37,21 %, соответственно).

Таким образом, гидрокортизон, проникающий через плаценту при введении беременным на протяжении третьего триместра беременности, влияет на функциональную активность хондроцитов суставного хряща новорожденных, что проявляется изменением соотношения морфофункциональных зон суставного хряща, соотношения хондроцитов и межклеточного вещества в суставном хряще, ядерно-цитоплазматического отношения хондроцитов.

Выводы 1. У новорожденных, родившихся от крыс, которым вводили гидрокортизон в течение третьего триместра беременности, наблюдается истончение суставного хряща дистального эпифиза бедренной кости новорожденных крыс в раннем постнатальном периоде (до 45-х суток жизни), преимущественно за счет уменьшения толщины его поверхностной и промежуточной зон. Нарушение формирования бесклеточной пластинки поверхностной зоны, что к 60-м суткам жизни приводит к утолщению поверхностной зоны суставного хряща по сравнению с интактными крысами (46,74±2,88 мкм и 43,59±1,81 мкм, соответственно). 2. После введения гидрокортизона беременным крысам в течение третьего триместра беременности изменяют размеры хондроцитов всех морфофункциональных зон суставного хряща новорожденных крыс. В поверхностной зоне уменьшается площадь хондроцитов, за счет снижения площади, занимаемой цитоплазмой, увеличивается ядерно-цитоплазматическое отношение. В промежуточной зоне площадь хондроцитов увеличивается за счет увеличения площади вакуолизированной цитоплазмы.

Перспективы. Изучение динамики синтетической активности хондроцитов морфофункциональных зон сустав-

ного хряща, особенностей экстрацеллюлярного матрикса, динамики клеточного состава синовиальной оболочки в условиях экспериментального моделирования гормонального дисбаланса у лабораторных животных позволит детально описать морфологический субстрат синдрома недифференцированной дисплазии соединительной ткани, и использовать полученные данные для прогнозирования и профилактики данного заболевания у детей раннего возраста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аврунин А.С., Корнилов И.В., Иоффе И.Д. Адаптационные механизмы костной ткани и регуляторно-метаболический профиль организма // Морфология. - 2001. - Т. 120, № 6. - С. 7-12.
2. Батура И.А. Особенности роста бедренных костей крыс разных возрастов при длительном введении высокой дозы гидрокортизона // Український морфологічний альманах. - 2003. - Т. 1, № 2. - С. 5-8.
3. Горлов А.А., Матвеев А.В. Молекулярные механизмы биологических эффектов глюкокортикоидов // Таврический медико-биологический вестник. - 2003. - Т. 6, № 4. - С. 170-175.
4. Григорьева Е.А., Шестакова А.В. Особенности динамики массоростовых показателей крыс в раннем постнатальном периоде в норме и после внутриутробного введения иммуноглобулина и гидрокортизона / / Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. - 2005. - Вип. XIV. - С. 181-185
5. Лукьянова О.М. Проблеми здоров'я дитини та наукові аспекти профілактики його порушень // Мистецтво лікування. - 2005. - № 2. - С. 6-15.
6. Ковешников В.Г., Скрябина Е.Н. Гормоны и кости // Український морфологічний альманах. - 2003. - Т. 1, № 1. - С. 92-95.
7. Павлова И.Г. Влияние измененного гормонального фона в системе мать-плацента-плод на массу тела, надпочечников, тимуса и на лейкоцитарный состав периферической крови у потомства // Архив АГЭ. - 1989. - Т. 97, № 9. - С. 60-64.
8. Побег А.Н. Действие химических токсинов на костную и хрящевую ткани // Ортопедия, травматология и протезирование. - 1998. - № 2. - С. 143-151.
9. Радостина А.И. Влияние гормонов коры надпочечников на ультраструктуру фибробластов дермы крыс в постнатальном онтогенезе. Данные электронной морфометрии // Онтогенез. - 1986. - Т. 17, № 5. - С. 508-515.
10. Рой I.B., Біло I.I., Вовченко А.Я. Прояви дисплазії сполучної тканини у новонароджених // Ортопедия, травматология и протезирование. - 2005. - № 3. - С. 69-73.

Кучеренко Н.П.

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ КИШЕЧНИКА ЩУРІВ ПІД ДІЄЮ АНТИБІОТИКОТЕРАПІЇ

Донецький державний медичний університет ім. М. Горького

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ КИШЕЧНИКУ ЩУРІВ ПІД ДІЄЮ АНТИБІОТИКОТЕРАПІЇ – Експериментально створено модель постантибіотикового дисбіозу кишків у 25 щурів. Антибіотики вводили тваринам внутрішньочеревно 1 раз на добу. Морфологічно у експериментальних тварин вивчені тонка та товста кишка. Встановлено, що під впливом антибіотиків у слизовій оболонці тонкої та товстої кишків розвиваються структурні зміни, які викликають порушення функції (всмоктування, продукції лізоциму) а також розвиток імунодефіцитного стану у вигляді редукції лімфоїдних утворень кишківника.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КИШЕЧНИКА КРЫС ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ – Экспериментально создана модель постантибіотикового дисбіоза кишківника у 25 крыс. Антибіотики назначали животным внутривбрюшинно 1 раз в сутки. Морфологически у експериментальних животных изучена тонкая и толстая кишка. Установлено, что под воздействием антибиотикотерапии в слизистой оболочке тонкой и толстой кишків развиваются структурные изменения, которые приводят к нарушению функции (всасывания, продукции лизоцима), а также развитию иммунодефицитного состояния в виде редукции лимфоидных образований кишківника.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF RAT INTESTINE UNDER INFLUENCE OF ANTIBIOTIC THERAPY – The model of postantibiotics disbiosis of intestine for 25 rats was created in experiments. The antibiotics were injected to animals once a day. Small intestine and colon in experimental animals were studied morphologically. It was established, phthat under effect of antibiotic therapy

the structural changes develop in mucosa of small intestine and colon, which result in function violation (suction, lysocyme production), and also development of immunodeficit condition manifested by reduction of lymphoid formations of intestine.

Ключові слова: експеримент, антибіотики, кишківник, щури.
Ключевые слова: експеримент, антибіотики, кишківник, крысы.
Key words: experiment, antibiotics, digestive tube, rats.

ВСТУП У зв'язку зі збільшенням числа факторів, що викликають порушення мікрофлори кишківника [1, 2], розробка ефективних методів профілактики та лікування дисбіозів кишківника різної етіології є однією з важливих проблем сучасної охорони здоров'я. Застосування антибіотиків, особливо у дітей першого року життя, приводить до розвитку дисбіозу кишківника і це змушує вести пошуки шляхів нормалізації мікрофлори [3, 4].

Мета дослідження - вивчити морфологічні зміни кишківника щурів під впливом антибіотиків.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Експеримент проведено на 25 щурах. У дослід були взяті щури-самці віком 3 місяці і вагою 220-380 г. Усі вони були розділені на 2 групи (у

кожній групі по 10 тварин) з однією підгрупою у кожній групі, залежно від використаної схеми і тривалості антибіотикотерапії: 1 група - семиденне введення ампіциліну в дозі 125мг/кг маси тіла, гентаміцину - 4 мг/кг маси тіла (по 5 тварин); 2 група - дванадцятиденна терапія ампіциліном та гентаміцином (по 5 тварин). Контрольна група - (5 тварин) практично здорові щури того ж віку, статі та маси тіла, з тим же раціоном харчування, що й у щурів досліджених груп, але яким не вводили ніяких лікарських препаратів. Антибіотики вводили тваринам внутрішньочеревно 1 раз на добу з метою відтворення постантибіотичного дисбіозу кишечника. Декапітацію проводили в умовах ефірного наркозу.

Морфологічно у всіх експериментальних тварин вивчені тонка і товста кишка. Зрізи фарбувалися гематоксиліном та еозином.

Отримані дані оброблялися методами математичної статистики на персональному комп'ютері IBM PC P-II з застосуванням прикладної програми MINITAB.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ У результаті проведеного морфологічного дослідження тонкої і товстої кишок установлено, що структурні зміни найбільш виражений характер мають у тонкій кишці та її лімфоїдному апараті. Структурні зміни в товстій кишці за результатами візуальної оцінки, корелюють з тяжкістю та характером ураження слизової оболонки тонкої кишки.

Слизова оболонка тонкої кишки експериментальних тварин після семиденного введення ампіциліну або гентаміцину зазнавала істотних односпрямованих змін. Насамперед, звертають на себе увагу різко виражені дистрофічні

зміни покривного епітелію, аж до некрозу клітин та посиленої десквамації їх у просвіт кишки, що призводить до оголення поверхневих відділів ворсин з формуванням поверхневих дефектів слизової оболонки – ерозій (рис. 1). При цьому відзначається уповільнення процесів фізіологічної регенерації епітелію слизової оболонки тонкої кишки та недостатність репаративної регенерації, що могла б забезпечити відновлення структури слизової оболонки в умовах патогенного впливу. Найбільш ймовірною причиною порушення репаративно-регенеративних процесів є дистрофічні зміни епітеліального вистилання слизової оболонки тонкої кишки експериментальних тварин під впливом антибіотикотерапії, у тому числі і дрібних циліндричних клітин кишкових крипт, які грають роль стовбурних.

Одночасно відбувається зміна якісного складу епітеліальної клітинної популяції ворсин. Поряд зі зменшенням питомої частки циліндричних клітин зростає кількість клітин, які продукують слиз та келихоподібних, які, очевидно, мають захисно-приспосувальне значення: збільшення продукції слизу дозволяє зменшити концентрації токсичних речовин на поверхні слизової оболонки тонкої кишки (рис. 2). Однак, дистрофічні зміни з неминучим ушкодженням щіткової облямівки та складових її мікроворсинок циліндричних кліток, а також зменшення чисельності їхньої популяції призводить до різкого зниження усмоктувальної функції тонкої кишки за типом синдрому мальабсорбції. Крім того, істотною відмінністю будівлі ліберкулових крипт слизової оболонки тонкої кишки експериментальних тварин на тлі антибіотикотерапії є різка зміненість морфологічного стану клітин Панета.

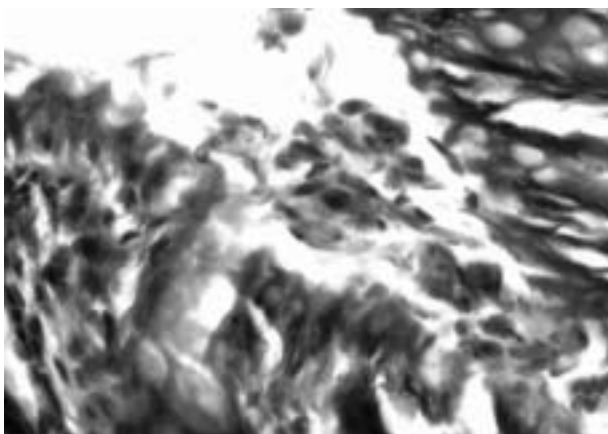


Рисунок 1. Ампіцилін, 7 днів. Різкі дистрофічні зміни, аж до некрозу, та десквамації епітелію з формуванням ерозій у слизовій оболонці тонкої кишки. Фарбування гематоксиліном та еозином. X 400

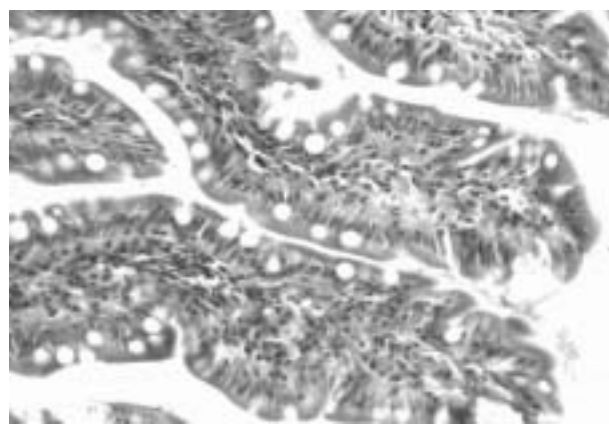


Рисунок 2. Ампіцилін, 7 днів. Інтенсивна клітинна інфільтрація стромы, достаток келихоподібних клітин, дистрофія та некроз епітелію ворсинок слизової оболонки тонкої кишки. Фарбування гематоксиліном та еозином. X 200

У частині з них спостерігається повне зникнення еозинофільних гранул з цитоплазми, внаслідок чого вони стають практично нерозрізненні при звичайній світловій мікроскопії в препаратах, пофарбованих гематоксиліном та еозином. В інших панетовських клітках еозинофільні гранули, накопичуючись в цитоплазмі, збільшуються в розмірах, зливаються між собою, стають більш блідими, що може свідчити про порушення секреторної функції. Крім того, еозинофільні гранули зустрічаються у просвіті ряду кишкових крипт. Такі морфологічні зміни свідчать про порушення синтезу та секреції зимогенних гранул у клітках Панета і, в першу чергу, лізоциму – основного засобу протимікробного захисту слизових оболонок.

Істотною особливістю будови ворсинок слизової оболонки тонкої кишки експериментальних тварин під впливом антибіотикотерапії є значне збільшення їхньої площі, що реєструється

незалежно від кута проходження зрізу. При цьому відзначається різке повнокрів'я, розширення стромы ворсин, виражений її набряк та інтенсифікація інфільтрації клітинними елементами. Клітинна інфільтрація стромы ворсин під впливом тижневої антибіотикотерапії, на відміну від контрольної групи експериментальних тварин, змінює не тільки свою щільність, але і якісний склад. Найбільш істотним є те, що в складі клітинного інфільтрату різко зростає кількість еозинофільних поліморфноядерних лейкоцитів. Велика кількість еозинофілів з'являється також у підслизовому шарі тонкої кишки, а крім того – у базальних відділах слизової оболонки, де в нормі вони практично не зустрічаються. Їхня поява у великій кількості в різних відділах слизової оболонки тонкої кишки є свідченням розвитку процесів алергізації, тобто розвитку реакцій гіперчутливості негайного типу. У свою чергу, зміна імунної реактивності може бути обумовлена,

щонайменше, двома причинами. По-перше, це може бути зв'язане з тим, що сам антибіотик являє собою антигенну субстанцію "у чистому виді" або, що більш імовірно, антиген гаптенного типу. По-друге, антигенна стимуляція сенсibilізованого організму може бути обумовлена посиленням антигенного впливу мікроорганізмів, що живуть у просвіті товстої кишки внаслідок зміни її мікробного спектра. Це твердження ґрунтується на тому факті, що еозинофільна інфільтрація відзначається і у різних відділах слизової оболонки товстої кишки експериментальних тварин в умовах антибіотикотерапії. Однак, перший механізм здається більш ймовірним, тому що інтенсивність еозинофілії у тонкій кишці значно вища. У складі клітинного інфільтрату в стромі слизової оболонки тонкої кишки, особливо в стромі ворсин, звертає на себе увагу також велика кількість плазматичних клітин, так звана плазматизація стромы ворсин, яка покликана забезпечити посилення антитілоутворення і місцевий гуморальний захист.

Крім того, відзначається візуально помітне зменшення площі лімфоїдних утворень тонкої кишки, оскільки вони стають більш однорідними за розміром площі, що складає структурну основу розвитку імунodefіциту, недостатності імунної відповіді у кишечнику.

У слизовій оболонці товстої кишки після семиденної антибіотикотерапії ампіциліном або гентаміцином також спостерігається формування дрібних ерозій внаслідок дистрофії та некрозу епітелію з наступною його десквамацією.

Звертає на себе увагу різко виражений набряк слизового та підслизового шарів, інфільтрованих лімфоцитами, нечисленними плазматичними клітинами та осередковими дрібними скупченнями еозинофільних поліморфноядерних лейкоцитів. Інтенсивність інфільтрації стромы власне слизової оболонки товстої кишки значно нижча, ніж така у слизовій оболонці тонкої кишки. При цьому істотно відрізняється і якісний склад інфільтрату, представленого головним чином лімфоцитами та макрофагами, що формують нерідко дрібні скупчення по типу гранулем. Численність еози-

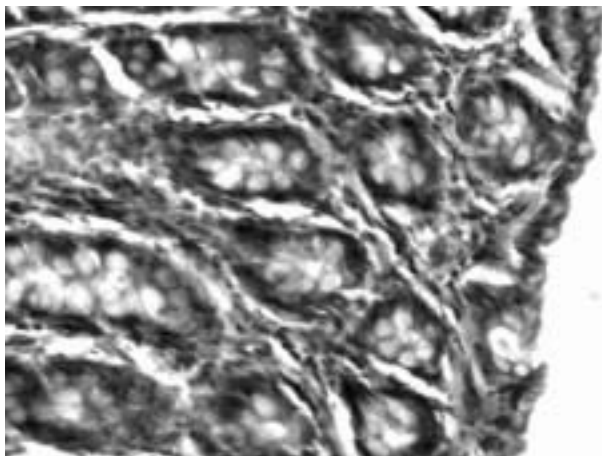


Рисунок 3. Гентаміцин, 7 днів. Виразений набряк стромы, осередкова рясна лімфогістіоцитарна інфільтрація, активація келихоподібних клітин слизової оболонки товстої кишки. Фарбування гематоксиліном та еозином. X 400

З метою розробки об'єктивних критеріїв ступеня структурних змін кишечника в експериментальних тварин під впливом різних схем антибіотикотерапії нами проведено морфометричне дослідження основних структурних компонентів тонкої кишки щурів в експерименті. При цьому обмірювані такі показники як площа ворсинок, площа стромы ворсинок, площа лімфоїдних утворень, а крім того, за результатами отриманих вимірів, обчислена питома частка

нофілів, будучи і так меншою, порівняно зі слизовою оболонкою тонкої кишки, прогресивно зменшується в напрямку до просвіту товстої кишки, а в поверхневих відділах слизової оболонки еозинофілії практично не зустрічаються.

Необхідно відзначити, що при визначеній однотипності та односпрямованості змін у слизовій оболонці товстої кишки як при введенні ампіциліну, так і гентаміцину, все-таки існують визначені їхні відмінності. Так, після семиденного введення ампіциліну звертає на себе увагу нерівномірність товщини слизової оболонки товстої кишки. Зменшення її на окремих ділянках, очевидно, обумовлено тим, що переважно в базальних відділах кишкових крипт просвіту залоз виглядають різко розширеними, а вистилаючи їх залозні клітини - сплосченими, відтиснутими до базальної мембрани, цитоплазма в них практично не визначається, що створює картину кістозного розширення.

Після семиденного введення гентаміцину переважно в базальних відділах кишкових крипт слизової оболонки товстої кишки різко виражена гіперсекреція келихоподібних клітин, цитоплазма яких значно збільшена в обсязі за рахунок наявності в ній великих, частіше оптично порожніх або напівпорожніх вакуолей, що свідчить про низьку концентрацію слизу (рис. 3). Крім того, на дні окремих крипт відзначається загибель окремих залоз, унаслідок різко виражених дистрофічних та некротичних змін клітин залозистого епітелію (рис. 4). У поверхневих відділах слизової оболонки товстої кишки (на вершині кишкових крипт) відзначаються різко виражені дистрофічні зміни епітеліальних клітин з посиленою їх десквамацією. У просвіті крипт, унаслідок цього, спостерігається скупчення слизу, дистрофізованих та некротизованих клітин кишкового епітелію. При цьому у поверхневих відділах крипт келихоподібні клітини нечисленні або зовсім не визначаються. Зустрічаються також окремі, непротяжні ділянки слизової оболонки товстої кишки з вираженою атрофією залоз і початковими явищами фіброзу стромы, рясно інфільтрованими лімфо-макрогальними клітинними елементами.

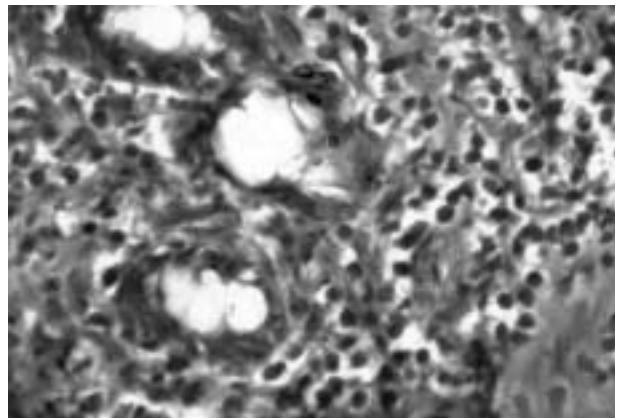


Рисунок 4. Гентаміцин, 7 днів. Різкі дистрофічні зміни та некроз епітелію залоз у ділянках інтенсивної клітинної інфільтрації слизової оболонки товстої кишки. Фарбування гематоксиліном та еозином. X 400

стромы ворсинок слизової оболонки тонкої кишки.

Вихідними показниками для аналізу служили морфометричні параметри тонкої кишки контрольної групи експериментальних тварин. Порівняння їх з різними дослідними групами показало, що під впливом різних схем антибіотикотерапії відзначаються досить закономірні зміни структурної організації тонкої кишки. Так, після семиденної антибіотикотерапії ампіциліном площа ворсинок слизової

оболонки тонкої кишки експериментальних тварин зростає в 2,85 раза, їхньої строми - у 5,33 раза, при цьому питома частка строми зростає в 1,9 раза ($P < 0,05$), що обумовлено, з однієї сторони вираженими альтернативними змінами епітелію ворсинок, а з іншого боку – різким набряком та інтенсивною клітинною інфільтрацією їхньої строми.

Аналогічні, але менш виражені зміни, виявлені і після семиденної антибіотикотерапії гентаміцином. При цьому середня площа ворсинок зростає в 2,48 раза, їхньої строми - у 4,58 раза, а питома частка строми - у 1,63 раза відповідно, що пов'язано з менш інтенсивним набряком строми ворсинок слизової оболонки тонкої кишки у експериментальних тварин цієї дослідної групи. Одночасно під впливом ізольованої антибіотикотерапії спостерігаються зміни середньої площі лімфоїдних утворень тонкої кишки у вигляді їхньої редукції в 1,2 раза при терапії ампіциліном і в 1,16 раза - гентаміцином, що служить структурним відображенням імунодефіциту, що розвивається у експериментальних тварин.

Таким чином, виявлені зміни свідчать про інгібуючу дію антибіотикотерапії на силу імунної відповіді, що зростає зі збільшенням її тривалості. Разом з тим, необхідно підкреслити, що імунодепресивна дія гентаміцину, хоча і не дуже істотно, але все-таки менша, ніж ампіциліну.

ЛІТЕРАТУРА

1. Алешукина А. В., Патрушева Е. В., Голошва Е. В. и др. Показатели аутосенсбилизации при экспериментальном дисбактериозе и его коррекция иммунобиологическими препаратами. // Материалы конференции "Актуальные вопросы разработки, производства и применения иммунобиологических препаратов", Ч. 1. – Уфа, 2000. – С. 209-211.
2. Коровина Н. А., Вихирева З.Н., Захарова И. Н. Профилактика и коррекция нарушенный микробиоценоза кишечника у детей раннего возраста.- М., 2001.- 36 с.
3. Сийгур У. Х., Тамм А. О.// Колонизационная резистентность и химиотерапевтические препараты.- М., 2000, Ч.1.- С. 115 - 118.
4. Чхаидзе И. Г., Лиходед В. Г., Лиходед Н. В. Корректирующее действие антител при экспериментальном кишечном дисбактериозе.// Журн. микробиология, 2000, N4.- С. 12 - 14.

Ремезюк Е.В., Боднар Я.Я., Дацко Т.В., Сельський П.Р., Леськів І.М. АНАЛІЗ КЛІТИН ЗАПАЛЬНОГО ІНФІЛЬТРАТУ ПЕРІУЛЬЦЕЛЯРНОЇ ЗОНИ ПРИ ВИРАЗКОВІЙ ХВОРОБІ, УСКЛАДНЕНІЙ ПЕРФОРАЦІЄЮ

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

АНАЛІЗ КЛІТИН ЗАПАЛЬНОГО ІНФІЛЬТРАТУ ПЕРІУЛЬЦЕЛЯРНОЇ ЗОНИ ПРИ ВИРАЗКОВІЙ ХВОРОБІ, УСКЛАДНЕНІЙ ПЕРФОРАЦІЄЮ – Досліджували клітинний склад запального інфільтрату періульцелярної зони. Зростання лімфоцитарної активності до 24 год після перфорації виразки свідчить про аутоімунні фактори в патогенезі розвитку ускладнень.

АНАЛІЗ КЛЕТОЧНОЇ ІНФІЛЬТРАЦІЇ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ІНФІЛЬТРАТУ ПЕРІУЛЬЦЕЛЯРНОЇ ЗОНИ ПРИ ЯЗВЕННІЙ БОЛЕЗНІ, ОСЛОЖНЕННІЙ ПЕРФОРАЦІЄЮ – Исследовали клеточный состав воспалительного инфильтрата періульцелярної зони. Повышение лимфоцитарной активности к 24 ч после перфорации свидетельствует о аутоиммунных факторах в патогенезе осложнений.

ANALYSIS OF CELLS OF INFLAMMATORY INFILTRATE OF PERIULCELAR ZONE AT PEPTIC ULCER COMPLICATED BY PERFORATION – Cellular composition of inflammation infiltrate of perіuльцелярної зони has been researched. Increasing of lymphocytic activity within 24 h after perforation testifies to autoimmune factors in pathogenesis of complications.

Ключові слова: виразкова хвороба, перфорація.

Ключевые слова: язвенная болезнь, перфорация.

Key words: ulcer disease, perforation.

Перфорація хронічної виразки шлунка чи дванадцятипалої кишки із розвитком перитоніту не рідкісне ускладнення виразкової хвороби. Вивчення цієї проблеми залишається актуальним і на сьогодні.

Морфологічні дослідження в зоні перфорації та виразкової інфільтрації проводились на післяопераційному матеріалі у 153 пацієнтів з виразковою хворобою шлунка та дванадцятипалої кишки, ускладненою перфорацією в умовах поширеного перитоніту. Вік хворих коливався від 18 до 75 років. Переважну більшість пацієнтів становили чоловіки. Досліджували гістологічну структуру країв стінки виразки, зону перфорації гастродуоденальної виразки та зону періульцелярного запального інфільтрату в умовах поширеного перитоніту в різні періоди з моменту перфорації: до 6; 6-2; 12-18; 18-24, більше 24 год. Тканину слизової оболонки шлунка та дванадцятипалої кишки з періульцелярної зони фіксували в 10 % розчині формаліну, зневоднювали, заливали в парафін, зрізи товщиною 5 мкм зафарбовували гематоксиліном та еозином. Після звичайного описання гістологічної картини проводили морфометричне дослідження зрізів методом точкового рахунку за допомогою окулярної

стереометричної сітки (Автандилов Г.Г., 1992)

Встановлено, що незалежно від поширеності перитоніту при перфорації виразки зона перифокального запалення розповсюджувалась від 0,5 до 1,5 см назовні концентрично навколо періульцелярного сполучнотканинного валу.

Кількісна оцінка клітинного складу періульцелярної ділянки слизової оболонки виявила, що переважаючими клітинами в міжклітинному запальному інфільтраті були лімфоцити. Відсоток нейтрофільних, еозинофільних лейкоцитів і фіброцитів, включаючи інтраепітеліальні нейтрофільні лейкоцити у всіх досліджуваних зонах у хворих з виразковою хворобою, ускладненою перфорацією в період з 18 по 24 год був вищим, ніж у попередніх групах. Однак, плазматичних клітин і макрофагів, розміщених навколо залоз, в попередніх групах переважало. Лаброцити і фіброласти у порівняльних групах представлені в незначних кількостях, як в міжзалозистому інфільтраті, так і навколо залоз (табл.1).

У пацієнтів, прооперованих в ранні періоди розвитку перфорації, кількість інтраепітеліальних лімфоцитів у біоптатах тканини шлунка значно переважала, ніж у пацієнтів в пізні строки перфорації.

При гістологічному дослідженні біопсійного матеріалу гастродуоденальної періульцелярної зони у пацієнтів, прооперованих в період більше 24 годин з моменту перфорації спостерігали наступну гістологічну картину.

Середній діаметр проривної пілородуоденальної виразки, якщо з моменту перфорації пройшло більше 24 годин, становив – до $1,3 \pm 0,06$ см.

Середній діаметр запального періульцелярного інфільтрату довкола проривної пілородуоденальної виразки, якщо з моменту перфорації пройшло більше 24 годин, сягав до $4,2 \pm 0,68$ см.

Зона перифокального запалення поширювалися від 1,2 до 1,6 см назовні концентрично навколо періульцелярного сполучнотканинного валу, в середньому до 1,5 см назовні від сполучнотканинного валу.

Гістологічно виявлено ознаки запалення, які проявлялися переважно альтерацією у вигляді некрозу і дистрофії, поверхневого епітелію і залозистих клітин, лімфоцитарною

Таблиця 1. Клітинний склад запального інфільтрату періульцелярної зони при виразковій хворобі, ускладненій перфорацією (%)

Клітинні елементи	Періоди досліджень з моменту перфорації (год)					
	доперфор.	до 6 год	6-12 год	12-18	18-24	після 24 год
Нейтрофільні лейкоцити	8,9±0,09	8,32±0,63	9,1±0,54	8,9±0,07	8,7±0,24	12,2 ±0,56
Еозинофільні лейкоцити	8,2±0,07	8,21 ±0,07	9,7±0,10	8,01±0,04	9,04± 0,02	9,1±0,98
Макрофаги	0,9±0,03	0,4±0,01	0,7±0,01	0,8±0,01	0,8±0,05	0,7 ±0,02
Лаброцити	1,0±0,04	0,9±0,05	0,8±0,01	0,9±0,01	1,0±0,03	0,9±0,02
Лімфоцити	57,6±2,07	58,1±3,24	57,9±3,01	57,8±2,19	59,7±2,90	60,0±3,23
Плазмоцити	18,7±0,97	18,2±1,03	19,1±1,09	17,9±0,98	19,7±1,32	20,3±1,24
Фіброцити	4,1±0,09	4,5±0,47	4,8±0,27	4,4±0,09	4,4±0,07	4,68±1,03
Фібробласти	0,2±0,002	0,4±0,001	0,4±0,006	0,6±0,003	0,3±0,002	0,4±0,001

інфільтрацією всіх шарів слизової оболонки і вираженим склерозом та гіалінозом, а також дисрегенераторними процесами у даних структурах. Атрофія залозистого апарату виражалась в зменшенні кількості відкритих в ямку залоз або їх кінцевих відділів, а також в зменшенні кількості клітин і в перерозподілі співвідношення спеціалізованих клітин, що створюють залозу. Існуючі атрофічні зміни розцінювались як помірні і виражені. В ряді випадків вони поєднувались із нерівномірною гіпертрофією шийкових відділів залоз і перебудовою шлункових ямок в кишковій крипти. В 94 % усіх досліджуваних біоптатів з періульцелярної зони визначались дисплазії епітелію I та II ступенів. Гістологічною особливістю була виражена лімфоцитарна інфільтрація строми з утворенням вогнищевих скупчень лімфоцитів, в центрі яких виявлялись пошкоджені залози, інфільтровані лімфоцитами та нейтрофільними лейкоцитами. Як видно, в періульцелярній зоні таких хворих виявлялася помірна дисплазія епітелію із ознаками аутоагресії.

Таким чином, при гістологічному дослідженні стінки дванадцятипалої кишки та шлунка в ділянці перфорації виразки та в періульцелярній зоні запальної інфільтрації у різні строки з моменту перфорації в умовах перитоніту були виявлені ознаки хронічного запалення, які проявлялись переважно альтерацією у вигляді некрозу і дистрофії поверхнього епітелію та залозистих структур, виявлена виражена лімфоїдноплазмочитарна інфільтрація усіх шарів слизової оболонки, склероз та гіаліноз бальних мембран, судин мікроциркуляторного русла та артерій, дистрофічними та склеротичними змінами в м'язових волокнах, а також дисрегенераторними процесами в даних структурах. В лімфатичних фолікулах в більшості спостережень виявлялися реактивні центри, насичені плазмобластами. По периферії виразки в ділянці періульцелярного запального інфільтрата спостерігались фібриноїдні зміни стінок судин з накопиченням біля них кислих мукополісахаридів. Нерівномірне повнокрів'я судин, вогнищеві крововиливи локалізувалися у всіх шарах стінки органа поблизу виразкового дефекту в межах зони періульцелярного запального інфільтрату і поєднувалися з

високим коефіцієнтом плазматизації слизової оболонки. Часом виявлялися множинні опасисті клітини в стані дегрануляції, які знаходилися в грануляційній тканині, переважно по ходу кровоносних судин дрібного калібру.

Встановлено, що в різні строки з моменту перфорації, незалежно від поширеності перитоніту, зона перифокального запалення сягала не більше до 1,5 см назовні концентрично навколо періульцелярного сполучнотканинного валу. В ній відмічено патологічні зміни судин та нервових волокон, що схожі на зміни в фіброзному шарі виразки. В артеріях та венах відмічалася запальна інфільтрація та картина продуктивного артеріїту з пошкодженням всіх стінок судини, значне потовщення його внутрішньої оболонки, облітерація просвіту або формування тромбів. В стінках вен розвивався гіпереластоз, склероз. Ці судинні зміни є причиною погіршення кровопостачання пошкоджених ділянок стінки кишки.

Наявні зміни в поєднанні з літературними даними вказують про участь аутоімунних факторів в патогенезі перфорації гастродуоденальних виразок. Цей факт потрібно враховувати в хірургічному лікуванні ускладненої виразкової хвороби при виборі розмірів висікання країв виразки. Ознаки аутоалергії, що виявляються при перфоративній виразці вказують на необхідність видалення джерела антигенного подразнення.

Висічення пілородуоденальної виразки необхідно здійснювати в межах здорових тканин з непорушеним кровотоком, враховуючи при висіченні поширеність зони запального інфільтрату, ліквідуючи тим самим джерело аутоімунного подразнення.

ЛІТЕРАТУРА

- Blaser M.J. Helicobacter Pilyry phenotypes associated with peptic ulceration // Scand. J. Gastroenterol. Supp. – 1994. – Vol. 205. – P. 1-5.
- Saeki Y., Higuichi K., Hasegana N. et al. Localization of endothelium in Human gastric mucosa // 10 th World Congress of Gastroenterology. Los Angeles, 1994. - Abstracts 11. Poster presentations. – 1412 p.
- Самсонов В.А. Язвенная болезнь: новые материалы к патологии осложненных ее форм. – Петрозаводск. – 1975. – 169с.

Сікора В.В.

УЛЬТРАСТРУКТУРА КІРКОВОЇ РЕЧОВИНИ НИРОК ЩУРІВ ПРИ СПОЖИВАННІ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

УЛЬТРАСТРУКТУРА КІРКОВОЇ РЕЧОВИНИ НИРОК ЩУРІВ ПРИ СПОЖИВАННІ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ – В роботі вивчені ультраструктурні зміни кіркової речовини нірок в умовах споживання солей важких металів. Доведено, що ступінь вираженості змін залежить від строків навантаження тварин. Через 1 місяць не виникає суттєвих змін в ультраструктурі кіркової речовини, через 2 місяці помітні незначні зміни, що зосереджені в основному в ніркових тільцях і проксимальних звивис-

тих каналцях нефрона. При споживанні металів протягом 3 місяців спостерігаються глибокі патологічні зміни всіх компонентів кіркової речовини нірок.

УЛЬТРАСТРУКТУРА КОРКОВОГО ВЕЩЕСТВА ПОЧЕК КРЫС ПРИ УПОТРЕБЛЕНИИ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ – В работе изучены ультраструктурные изменения коркового вещества почек в условиях употребления тяжелых металлов. Установлено, что степень выраженности изме-

нений зависить от сроков нагрузки животных. Через 1 месяц не развиваются существенных изменений в ультраструктуре коркового вещества, через 2 месяца развиваются незначительные изменения, которые сосредоточены в основном в почечных тельцах и проксимальных извитых канальцах. При употреблении металлов в течении 3 месяцев наблюдаются глубокие патологические изменения всех компонентов коркового вещества почек.

ULTRASTRUCTURE OF RAT RENAL CORTEX AT USAGE OF HEAVY METALS SALTS – The study has investigated ultrastructural changes in renal cortex resultant from a diet containing heavy metals salts. It is found that the degree of variation is related to a time period over which subject animals have been exposed to harmful substances. No significant ultrastructural changes are developed in renal cortex after one month period. In a two-month period only slight changes become evident, mostly in renal corpuscles and proximal convoluted renal tubules. Following a 3 month diet of heavy metal salts deep pathology evolves in all renal cortex tissues.

Ключові слова: ультраструктура, кіркова речовина нирок, солі важких металів.

Ключевые слова: ультраструктура, корковое вещество почек, соли тяжелых металлов.

Key words: ultrastructure, renal cortex, salts of heavy metals.

ВСТУП Велика кількість як простих, так і складних хімічних сполук, природних та синтетичних, зростаюче число останніх, роблять дуже складною, навіть неможливою своєчасну характеристику біологічної дії кожної з цих сполук окремо [2]. Біомоніторинг хімічних забруднень навколишнього середовища знаходить усе більш широке застосування в наукових дослідженнях як у нашій країні, так і за кордоном. Шляхом визначення хімічної речовини в біосферах людини і тварин можна розрахувати загальне його навантаження на організм у результаті надходження з різних середовищ – із питною водою, їжею, вдихуванням повітрям, через шкіру і т.д. [1, 3]. Якщо виявляється, що навантаження надмірне, виникає необхідність у використанні заходів щодо обмеження впливу даної хімічної сполуки на організм.

Серед металів, що відносно рівномірно розподіляються в організмі, частіше спостерігається найбільш високий їх вміст в органах, де зосереджені інтенсивні біохімічні процеси – нирках, печінці, залозах внутрішньої секреції [2, 5]. Безумовно, що розподіл металів усередині клітини корелює з вмістом у ній металозалежних ферментів, а їх надмірне надходження може спричинити зміни органел та порушити внутрішньоклітинний обмін [6].

Тому метою нашої роботи стало вивчення ультраструктури кіркової речовини нирок молодих щурів в умовах споживання підвищеної кількості солей важких металів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Робота проведена на 48 билих лабораторних щурах-самцях тримісячного віку (клубочки щурів формуються протягом трьох місяців після народження) масою 150-200 г, які перебували в стаціонарних умовах виварію. 18 особин були залишені інтактними та склали контроль. Інші щури (30) були поділені на 3 експериментальні серії.

I серія (10 щурів) – навантаження солями важких металів протягом місяця. Дози металів відповідали даним Новомосковської експедиції (1991 рік): міді ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) – 1 мг/л, свинцю ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) – 0,1 мг/л, цинку ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) – 5 мг/л, хрому (K_2CrO_7) – 0,1 мг/л, марганцю ($\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) – 0,1 мг/л. II та III серії одержували вільно з питною водою солі важких металів протягом 2-х та 3-х місяців відповідно.

Після закінчення експерименту тварин зважували на технічних вагах та забивали під ефірним наркозом шляхом декапітації. Забір матеріалу для електронно-мікроскопічного дослідження компонентів нирки проводили згідно із загальноприйнятими правилами [4]. Для дослідження вибирали кусочки із середньої частини кіркової речовини. Матеріал фіксували у 2,5 % розчині глютаральдегіду з активною реакцією середовища Ph 7,3-7,4 приготуваному на фосфатному буфері Міллоніга. Фіксований матеріал через 50-60 хв переносили у буферний розчин і промивали про-

тягом 20-30 хв. Постфіксацію здійснювали 1 % розчином чотириокису осмію на буфері Міллоніга протягом 60 хв, після чого проводили їх дегідратацію в спиртах і ацетоні та заливали в суміш епоксидних смол. Згідно із загальноприйнятою методикою ультратонкі зрізи, виготовлені на ультратримікротомі УМПП-7 та ЛКБ-III, забарвлювали 1 % розчином уранілацетату, контрастували згідно з методом Рейнольдса та вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-100К.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Ультрамiкроскопiчні дослідження ниркових тiлець кіркової речовини нирок щурів першої серії свiдчать, що їх структура незначно відрiзняється від норми.

В другій серії субмікроскопічно виникають зміни компонентів фільтраційного бар'єру. Зокрема, спостерігається потовщення ендотеліальної вистілки клубочкових капілярів, з появою на окремих ділянках внутрішньої плазмолемі випинань у вигляді невеликих цитоплазматичних острівців, повернутих у просвіт капілярів. Ядра ендотеліоцитів збільшені за розмірами, у каріолемі наявні невеликі інвагінації. Гранули хроматину дифузно розсіяні по всій каріоплазмі. Апарат Гольджі незмінений, представлений плоскими цистернами, пухирцями і вакуолями. Мітохондрії набрякли, з просвітленим матриксом, частково редукованими кристами. Гранулярна ендоплазматична сітка представлена поодинокими розширеними цистернами, на мембранах яких фіксуються окремі рибосоми. Цитоплазма ендотеліоцитів містить вільні полісоми, рибосоми та мікропіноцитозні пухирці. Базальна мембрана клубочкових капілярів нерівномірно потовщується, її контур стає нерівним, електронна щільність дещо зменшується. Спостерігається збільшення тіл подоцитів. У більшості подоцитів клубочкових капілярів візуалізується значна кількість вакуолей і мікропіноцитозних пухирців. Ядра неправильної форми з вираженими інвагінаціями, що обумовлює нерівності каріолемі. Нуклеолема середньої електронної щільності. Хроматин у нуклеоплазмі конденсується в окремі грудки. У цитоплазмі подоцитів і цитотрабекул гранулярна ендоплазматична сітка представлена розширеними цистернами і канальцями, на їх мембранах зменшується кількість рибосом.

Наявна значна кількість набряклих мітохондрій округлої або видовженої форми. Мітохондріальний матрикс слабкої електронної щільності, з невеликою кількістю крист. У цитоплазмі цитотрабекул і цитоподій міститься незначна кількість мікропіноцитозних пухирців середніх розмірів. Величина фільтраційних щілин між цитоподіями без особливостей.

В епітеліоцитах проксимальних звивистих канальців нефрона відмічається деформація мікроворсинок щітчастої облямівки, місцями виражений їх набряк. У плазмолемі утворюються неглибокі інвагінації. В апікальній частині клітин збільшується кількість дрібних піноцитозних пухирців і вакуолей. Ядра епітеліоцитів кулястої форми зменшені за розмірами, розміщені центрально. Нуклеоплазма гомогенна, помірної електронної щільності. Хроматин групується у невеликі грудки. Зовнішні контури ядер з невеликими інвагінаціями каріолемі. Перинуклеарний простір місцями незначно розширений. Елементи апарату комплексу Гольджі не змінені. Гранулярна ендоплазматична сітка рівномірно розміщується по всій цитоплазмі, її цистерни дещо розширені. Спостерігається невелика кількість зв'язаних з нею рибосом. У базальній частині епітеліоцитів наявна значна кількість мітохондрій округлої форми, з добре розвинутими кристами. Їх матрикс середньої електронної щільності, дрібнозернистий. Зустрічаються гіпертрофовані мітохондрії з фрагментованими кристами і гомогенізацією матриксу. Бічні поверхні плазматичної мембрани гладкі. Складки цитоплазматичної мембрани утворюють неглибокі випинання, які проникають у цитоплазму.

Ультраструктурні зміни епітеліоцитів в дистальних звивистих канальцях нефрона в даній серії подібні до таких,

що спостерігаються в його проксимальних відділах. Але є деякі відмінності. Так, в їх апікальній частині визначається невелика кількість коротких, безладно розташованих мікроворсинок. Ядра зміщуються апікально, зменшені, значно витягнуті в апікально-базальному напрямку. Основна маса гранулярних компонентів каріоплазми розміщується поблизу каріолеми. Перинуклеарно розташований апарат Гольджі, який представлений розширеними цистернами різної величини, зі світлим вмістом. Цистерни і каналці гранулярної ендоплазматичної сітки розширені. Мітохондрії збільшені за розмірами, матрикс їх просвітлений, кристи фрагментовані. Складки цитоплазматичної мембрани вкорочені і розширені, місцями деколи відмічається розпушення базальної мембрани.

Субмікроскопічні дослідження в третій серії тварин виявили, що зустрічаються ендотеліальні клітини клубочкових капілярів з ознаками низької функціональної активності. Ядра збільшуються, з глибокими інвагінаціями каріолеми. Хроматин у нуклеоплазмі групується в окремі грудки, які розташовані вздовж ядерної оболонки. Кількість цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки і профілів апарату Гольджі зменшується. Мітохондрії набрякли, з просвітленим матриксом і редукованими кристами.

Базальна мембрана клубочкових капілярів має звивистий хід, часто відмічаються розширення, які направлені у бік подоцитів. У подоцитах ядра збільшені, з вираженими інвагінаціями каріолеми. Хроматин нуклеоплазми в стані маргінальної агрегації. Наявна дезінтеграція гранулярної ендоплазматичної сітки і апарату комплексу Гольджі. Мітохондрії набрякли, з просвітленим матриксом і редукованими кристами. Цитоплазма подоцитів і цитотрабекул слабкої електронної щільності, містить великі вакуолі. Наявне збільшення кількості лізосом. Цитоподії подоцитів деформовані, з нечіткими, місцями зруйнованими, плазматичними мембранами.

В епітеліоцитах проксимальних звивистих каналців нефрона наявні зміни – ознаки функціонального перенапруження. Присутня десквамація мікроворсинок щіткової облямівки, подекуди руйнування клітинної мембрани. Поодинокі мікроворсинки вкорочені і потовщені, проміжки між ними розширені, частина мікроворсинок зміщена у просвіт каналців. Простежуються вакуолі різних розмірів і помірна кількість міхурців з електронно-щільним матриксом.

Ядра епітеліоцитів набрякли, деформовані, займають апікальне положення. Ядерна оболонка нерівна, з інвагінаціями. Гранулярна ендоплазматична сітка дезорганізована. Цистерни апарату Гольджі розпадаються на дрібні пухирці. Мітохондрії локалізовані у базальному відділі, серед них зустрічаються набрякли, з фрагментацією крист і вогнищевою гомогенізацією матрикса. Також спостерігаються мітохондрії з поодинокими кристами і просвітленим матриксом. У базальній частині епітеліоцитів складки плазмолемі збільшуються за кількістю і глибше проникають в цитоплазму.

Поряд зустрічаються гіпертрофовані епітеліоцити проксимальних звивистих каналців нефрона. Ядра в них набрякли. Контури ядерної оболонки згладжені. Глибки гетерохроматину дифузно розсіяні по всій нуклеоплазмі. Пе-

ринуклеарний простір нерівномірно розширений. Апарат Гольджі містить велику кількість дрібних пухирців, гранулярна ендоплазматична сітка представлена каналцями, які частково фрагментовані. У цитоплазмі наявна значна кількість вільних рибосом і полісом. Спостерігається дезорганізація мітохондрій з набряканням і гомогенізацією матриксу та редукцією крист. Мікроворсинки щіткової облямівки видовжені і потовщені. Базальна мембрана, що обмежує епітеліоцити, помірно розширена, з невеликою кількістю шилоподібних виростів, які проникають у просвіт між складками базальної частини плазматичної мембрани.

Субмікроскопічно в епітеліоцитах дистальних звивистих каналців нефрона виявлено дезорганізацію поверхні клітин. У цитоплазмі окремих клітин з'являються однорідні, напівпрозорі білкові краплі. В апікальній частині епітеліоцитів спостерігаються різні за розмірами вакуолі, що вказує на розвиток гідратації цитоплазми. Ядра невеликих розмірів, зміщені в апікальному напрямку. Їх мембрани з гладкими контурами. Перинуклеарний простір розширений. Гетерохроматин розміщений вздовж каріолеми. У нуклеоплазмі місцями наявні вогнища просвітлення. Гранулярна ендоплазматична сітка трансформується в незернисту. Спостерігається розпад сплосчених мішечків, які утворюють диктіосоми апарату Гольджі. Мітохондрії збільшені за розмірами, набрякли, з гомогенним матриксом, зруйнованими кристами. Складчастість базальної плазматичної мембрани стає нерівномірною. Наявні ділянки плазмолемі з глибокими інвагінаціями в цитоплазму.

ВИСНОВКИ Ультраструктурні зміни клітин кіркової речовини нирок залежать від строків споживання солей важких металів. Навантаження солями металів протягом 1 місяця не викликає суттєвих змін в ультраструктурі кіркової речовини, через 2 місяці виникають незначні зміни, що зосереджені в основному в ниркових тільцях і проксимальних звивистих каналцях нефрона. При споживанні металів протягом 3 місяців спостерігаються глибокі патологічні зміни всіх компонентів кіркової речовини нирок.

Перспективи подальших розробок В подальшому планується вивчити ультраструктурні зміни кіркової речовини нирок в умовах комбінованої дії солей важких металів та низьких доз іонізуючого випромінювання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова А.С. Микроэлементозы человека. – М.: Медицина, 1991. – 495 с.
2. Дельва Ю.В., Нейко Е.М. Микроэлементозы как этиология заболеваний почек // Урология и нефрология. – 1990. – №1. – С.72 – 75.
3. Запрянов З., Антоф Г. Изменения количества нуклеиновых кислот в печени и почках крыс при экспериментальной свинцовой интоксикации (Статья из Софии) // Фармакология и токсикология. – 1997. – Т. 40, №5. – С. 617 – 619.
4. Комиссарчик Я.Ю., Миронов А.А. Электронная микроскопия клеток и тканей: замораживание-скальвание-травление / Под. ред. П.П. Румянцева; АН СССР ин-т цитологии. – Л.: Наука, 1990. – 143 с.
5. Коломийцева М.Г., Габович Р.Д. Микроэлементы в медицине. – М.: Медицина, 1978. – С. 3 – 223.
6. Моисеенко Т.И., Яковлева В.А., Кудрявцева Л.П. Токсикологические аспекты аккумуляции тяжелых металлов в водных экосистемах Кольского севера // Вторая всесоюзная конференция по рыбохозяйственной токсикологии, С.Пб., Рыбинск. – ИБВВ АН СССР. 1991. – С.52 – 54.

Ющак М.В., Голод Б.В., Флекей П.П., Волошин В.Д.
СТРУКТУРНІ ТА ФІЗІОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ДОВГИХ КІСТКАХ ТВАРИН З ПАРАСИМПАТОТОНІЧНИМ
ТИПОМ ВЕГЕТАТИВНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ПРИ ЗАГАЛЬНІЙ ДЕГІДРАТАЦІЇ

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

СТРУКТУРНІ ТА ФІЗІОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ДОВГИХ КІСТКАХ ТВАРИН З ПАРАСИМПАТОТОНІЧНИМ ТИПОМ ВЕГЕТАТИВНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ПРИ ЗАГАЛЬНІЙ ДЕГІДРАТАЦІЇ – Робота представляє результати досліджень морфологічних перетворень в довгих кістках скелета у білих беспородних лабораторних щурів-самців з парасимпатотонічним типом домінування вегетативної нервової системи при загальній дегідратації організму. Були використані морфометричні, гістологічні, хіміко-аналітичні методи дослідження та математична обробка одержаних даних. Експериментальні тварини з парасимпатотонічним типом вегетативної нервової системи характеризувалися відносною опірністю до фактора загального зневоднення. Зміни структури були направлені на зменшення величини основних структур довгих кісток та порушення їх зон росту: зменшення величини росткової пластинки, її зони проліферації, кількості клітинних елементів у ній. Одночасно спостерігалось виведення макро- та мікроелементів з кісткової тканини.

СТРУКТУРНЫЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ДЛИННЫХ КОСТЯХ ЖИВОТНЫХ С ПАРАСИМПАТОТОНИЧЕСКИМ ТИПОМ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ОБЩЕМ ОБЕЗВОЖИВАНИИ – Работа представляет результаты исследованной морфологических преобразований в длинных костях скелета белых беспородных лабораторных крыс-самцов с парасимпатотоническим типом доминирования вегетативной нервной системы при общем обезвоживании организма. Использованы морфометрические, гистологические, химико-аналитические методы исследования, а также математический метод обработки данных. Экспериментальные животные с парасимпатотоническим типом вегетативной нервной системы характеризовались относительной стойкостью к фактору гипертонической дегидратации. Изменения структуры направлены на уменьшение величин основных структур длинных костей, редукцию их зон роста: уменьшение величины ростковой пластинки, ее зоны пролиферации, количества клеточных элементов. Одновременно наблюдалось выведение макро- и микроэлементов из костной ткани.

STRUCTURAL AND PHYSIOLOGICAL CHANGES IN THE LONG BONES OF ANIMALS WITH THE PARASYMPATHOTONIC TYPE OF VEGETATIVE NERVOUS SYSTEM IN GENERAL DEHYDRATION – The work introduces the results of investigation of morphologic and functional changes of skeleton long bones of white laboratory male rats in general dehydration condition of organism with the parasympathotonic type of autonomic nervous system. The researches were done by morphometric, histological, chemico-analytic methods and mathematical analysis of data obtained. Experimental animals with parasympathotonic vegetative nervous system showed good resistance results to the negative changes at general dehydration. However, this one initiated growth up reduction of long bones and epiphyseal cartilage. Its proliferation zone narrowed. We fixed the reduction of cellular elements amount in growth areas and structural violations. Elimination of macroelements and osteotropic microelements from bone tissue was observed.

Ключові слова: довгі кістки, епіфізарний хрящ, діафіз, хімічний склад, загальне зневоднення, парасимпатична вегетативна нервова система.

Ключевые слова: длинные кости, эпифизарный хрящ, диафиз, химический состав, общее обезвоживание, парасимпатотонический отдел вегетативной нервной системы.

Key words: long bones, epiphyseal cartilage, diaphysis, chemical composition, general dehydration, parasympathotonic autonomic nervous system.

АКТУАЛЬНІСТЬ Теорія адаптації від часу створення є однією з фундаментальних, що визначає напрямки сучасної біології. Адаптаційна діяльність організму людини і тварин не лише забезпечує виживання і еволюційний розвиток, але і повсякденне пристосування до змін навколишнього середовища. Теорія Г. Сельє про загальний адаптаційний синдром описує фазовий характер адаптаційних реакцій і обґрунтовує провідну роль виснаження регуляторних систем при гострих і хронічних стресових ситуаціях в розвитку більшості патологічних станів і захворювань [5].

Епідемічного поширення в наш час набула така нозологічна одиниця як остеопороз, що вражає переважно більшість людей похилого віку. Це системне захворювання скелета характеризується зниженням кісткової маси та порушенням мікроархітектоніки кісткової тканини, що веде до підвищення крихкості кісток, збільшення ризику переломів і виражається не тільки тривалою втратою працез-

датності, але й значними економічними збитками [4].

Стрімкий розвиток остеопорозу від зневоднення організму доведений численними публікаціями в науковій літературі [7]. Оскільки дегідратаційний чинник супроводжує величезну кількість найрізноманітніших патологічних станів, то й боротьба з фактором зневоднення повинна займати вагоме місце в практичній роботі та наукових дослідженнях. Однак, залишилися поза увагою учених залежність його тяжкості та особливості перебігу у організмів з різним типом вегетативного домінування.

Аналіз варіабельності серцевого ритму (BCP) став методом оцінки стану механізмів регуляції фізіологічних функцій в організмі, зокрема, загальної активності регуляторних механізмів, співвідношення між симпатичним і парасимпатичним відділами вегетативної нервової системи. Поточна активність даних відділів оптимізує в організмі відповіді пристосування і відображає адаптаційну реакцію цілісного організму [2].

Мета Вияснити взаємозв'язок між парасимпатотонічним типом домінування вегетативної нервової системи та ступенем морфологічних змін у довгих кістках при гіпертонічній дегідратації організму.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Двоконтурна модель регуляції серцевого ритму Р.М. Баєвського [1] ґрунтується на твердженні, що система регуляції синусового вузла може бути індикатором взаємин між симпатичним та парасимпатичним відділами. Варіаційна пульсометрія полягає у вивченні закону розподілу кардіоінтервалів як випадкових величин і обчислює індекс напруги регуляторних систем, тобто стан домінування одного з відділів вегетативної нервової системи. Серед експериментальних тварин 24 % мали переважання парасимпатичного відділу вегетативної нервової системи.

Їх поділили на 2 підгрупи: 18 – контрольні (інтактні) та 18 – експериментальні. Експериментальних тварин піддавали впливу загального зневоднення методом водної депривації [6]. Тривалість експерименту становила 10 днів. Тварин виводили з експерименту під ефірним наркозом методом декапітації з наступним скелетуванням і подальшим виділенням плечових кісток. Мікроскопічно вивчали проксимальний епіфізарний хрящ довгих кісток, губчаста та компактна речовина діафіза. Морфометричні дослідження хрящової тканини та діафіза проводили згідно з методом А.А. Гуцоло і Ю.Ю. Кондратьєва при допомозі стандартної окулярної сітки та лінійки. Дослідження хімічного складу кісток згідно з методом [3] проводили на атомному абсорбційному спектрофотометрі С-115. Цифровий матеріал був систематизований та оброблений на персональному комп'ютері типу IBM за допомогою програми Excel. Достовірно вважали імовірність помилки менше 5 % ($P < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Протягом експерименту кожні три доби організм щурів втрачав 3 % води, отже, тяжкий ступінь досягався на 9 добу експерименту. При цьому спостерігалися втрати остеометричних показників: довжини плечової кістки – на 0,13 %, ширини проксимального та дистального епіфізарного кінця відповідно на 0,09 та 0,11 %, ширини середини діафіза та його передньозаднього розміру – на 0,06 та 0,04 % відповідно. Це стало наслідком структурних порушень в ділянках росту, що виявлялися при дослідженнях довгих кісток. В епіфізарній пластинці росту спостерігається значний приріст проміжної речовини, що зменшує густину клітинних елементів та руйнує орієнтацію колонок хондроцитів в зоні розмноження. Відмічаємо відсутність мітозів в хондроцитах. Згладжується межа між окремими зонами. Хрящові клітини, не

досягаючи зрілості, поступово переходять у зону деструкції, що містить напівзруйновані хондроцити. Процеси руйнування спостерігаються по усій ширині росткової пластинки. Колагенові та еластичні волокна проміжної речовини зони продовжуються у губчасту тканину, утворюючи зубці, що направлені в сторону діафіза. Загалом росткова хрящова пластинка втратила 14,25 % своєї ширини, зона проліферації – 15,98 %.

Метафіз довгих кісток формується середньо- та великорозмірними комірчастими структурами. Трабекули первинної спонгіози витончені або зруйновані, що збільшує розміри комірків. В склад клітин, що оселяються на трабекулах метафіза, входять остеобласти та остеокласти. Диспропорція на користь останніх і є руйнівним фактором в губчастій речовині кісток. Кількість остеобластів порівняно з контролем зменшена на 36,32 %, а їх функція знижена, що приводить до зменшення об'єму первинної спонгіози на 16,92 %, загальної – на 16,86 %. Довжина трабекул первинної спонгіози зменшена на 12,34 %, а глибина проникнення хрящових колонок у порожнину кісткового мозку зменшена на 5,38 %.

Негативний вплив тяжкого зневоднення спричинив ураження структур діафіза довгих кісток. Втрачається чіткість меж

між зонами діафіза, вкрай нерівномірна за товщиною зовнішня генеральна пластинка. Тканина компактною речовини порушена різноманітної форми та розмірів лакунами резорбції, які займають площу декількох суміжних остеонів (рис. 6.6). Порожнини лакун заповнені крововиливами та уламками зруйнованої кісткової тканини. Остеони формуються деформованими пластинками. Лінії склеювання переривчасті, добре контуруються на масивах остеоїду. Наявні ознаки гладкоклітинної резорбції. Молода грубоволокниста кісткова тканина збільшує площу зовнішніх оточуючих пластинок на 9,32 %, внутрішніх – на 10,13 %. Центральний канал деформований, зміщений і розширений на 8,91 %. Місце деформації заселене остеокластами. Морфометричні дані представлені у (табл. 1).

Дегідратація довгих кісток в даний період експерименту становила 8,67 %. Втрата мінеральних елементів при загальному зневодненні та активні руйнівні процеси на 15,09 % зменшують загальну кількість неорганічних елементів у кістці. Втрати кальцію і фосфору фіксуються на рівні 19,56 та 15,46 % відповідно. Серед неорганічних елементів найбільшому втрат зазнали натрій та калій (різниця з показниками контролю 33,27 та 24,66 % відповідно) (табл. 2).

Таблиця 1. Морфометричні дані плечових кісток контрольних та експериментальних білих безпородних лабораторних щурів-самців з парасимпатикотонічним типом вегетативної нервової системи

Показники	Модель	10-ий день експерименту	
		(М)	(м)
Максимальна довжина кістки, мм	К	26,76	2,51
	Е	26,72	0,86
Ширина проксим. епіфізу, мм	К	5,41	1,04
	Е	5,41	0,15
Ширина дистального епіфізу, мм	К	6,78	0,64
	Е	6,77	0,20
Ширина середини діафізу, мм	К	3,37	0,40
	Е	3,37	0,09
Передньозадній розмір середини діафізу, мм	К	2,98	0,33
	Е	2,98	0,08
Ширина епіфізарного хряща, мкм	К	225,60	8,25
	Е	184,92	5,14
Ширина зони проліферації, мкм	К	116,12	4,65
	Е	93,13	2,03
Ширина зони дефінітив. хряща, мкм	К	84,25	8,25
	Е	82,30	2,24
Об'єм первинної спонгіози, %	К	28,87	1,78
	Е	23,29	0,31
Об'єм загальної спонгіози, %	К	53,30	0,64
	Е	41,42	1,20
Глибина хрящ. трабекул в к/мозк. порожн., мкм	К	5,17	0,31
	Е	4,82	0,09
Довжина трабекул первин. спонгіози, мкм	К	363,78	16,46
	Е	301,76	7,64
К-сть остеобластів у первинній спонгіозі, шт	К	31,85	1,03
	Е	18,77	0,60
Ширина зони внутр. оточуючих пластин, мкм	К	83,45	4,63
	Е	72,84	1,60
Ширина зони зовн. оточуючих пластин, мкм	К	113,29	5,40
	Е	102,24	2,72
Ширина остеонного шару, мкм	К	276,29	4,20
	Е	252,62	7,68
Площа діафізу, мм ²	К	5,90	0,31
	Е	5,49	0,14
Площа кістково-мозкового каналу, мм ²	К	1,68	0,09
	Е	1,52	0,04
Діаметр остеонів, мкм	К	32,20	1,14
	Е	30,21	0,59
Діаметр каналів остеонів, мкм	К	13,96	0,65
	Е	12,44	0,48

Таблиця 2. Показники вмісту основних макро- та мікроелементів в плечових кістках контрольних та експериментальних білих безпородних лабораторних щурів-самців з парасимпатикотонічним типом вегетативної нервової системи

Показники	Модель	10-ий день експерименту	
		(М)	(м)
Вміст води, %	К	25,86	1,14
	Е	22,89	0,47
Загальна кількість мінер. речовин, % на суху вагу	К	63,12	1,73
	Е	50,89	2,08
Кількість кальцію, % на золу	К	35,69	1,58
	Е	27,18	0,58
Кількість фосфору, % на золу	К	17,78	0,65
	Е	13,27	0,46
Кількість натрію, % на золу	К	1,63	0,13
	Е	1,07	0,02
Кількість калію, % на золу	К	1,52	0,19
	Е	1,03	0,03
Кількість магнію, % на золу	К	4,71	0,22
	Е	5,69	0,16
Кількість марганцю, мг%	К	11,48	0,38
	Е	15,17	0,50
Кількість міді, мг%	К	30,22	0,93
	Е	38,60	0,98
Кількість цинку, мг%	К	472,47	9,98
	Е	644,35	17,14
Кількість заліза, мг%	К	1,00	0,07
	Е	1,24	0,03
Кількість свинцю, мг%	К	5,50	0,43
	Е	6,11	0,19

При визначенні кількості остеотропних мікроелементів вперше від початку дослідження у групі ваготонічних щурів відмічаємо стрімке падіння їх кількості і меншу їх концентрацію, ніж у контролі. Магнію, марганцю, міді, цинку та заліза менше, ніж у контролі на 28,79, 27,67, 26,53, 33,96 та 13,81 % відповідно. Загальне зневоднення сприяє декумуляції свинцю і на даному етапі його вміст менший за контроль на 11,04 %.

ВИСНОВКИ Сублетальний ступінь гіпертонічного ексікозу у білих лабораторних щурів з парасимпатотонічним типом вегетативної нервової системи призводить до зриву компенсації систем організму та значного порушення основних структур довгих кісток, спричиняє втрати макро- та мікроелементів, що проявляється ознаками остеомаляції та остеопорозу (демінералізація – 15,09 %, декальци-

нація – 19,56 %; втрати цинку – 33,96 %, міді – 26,53 %, марганцю – 27,67 %, магнію – 28,79 %; зменшення остеонного шару на 5,49 %, площі діафіза – на 4,45 %, діаметра остеонів – на 6,74 %, розширення кістково-мозкової порожнини на 6,36 %, діаметру каналів остеонів – на 8,91 %).

ЛІТЕРАТУРА

1. Баевский Р.М., Кириллов О.И., Клецкин С.З. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе. – М.: Наука, 1984. – 219 с.
2. Вариабельность сердечного ритма. Теоретические аспекты и практическое применение. Тезисы международного симпозиума 12-14 сентября 1996 г. Ижевск. – 1996. – С. 225.

3. Неменко Б.А., Молдакулова М.М. Атомно-абсорбционное определение микроэлементов // Гигиена и санитария. – М.: Медицина, 1980. – № 4. – С. 64-66.

4. Поворознюк В.В., Подрушняк Е.П., Орлова Е.В. и др. Остеопороз на Украине. – К., 1995. – 48 с.

5. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме / Пер. с англ. М.: Медгиз, 1960. – С. 275.

6. Соболева А.Д. Реакция клеток и тканей на обезвоживание / Отв. ред. А.Ф. Никифоров. – Новосибирск: Наука, 1975. – 64 с.

7. Федонюк Я.И., Реминецкий Б.Я., Микула Н.М. Взаимоотношение органического и минерального компонентов скелета при дегидратационном нарушении водно-солевого обмена. – В сб.: "Мат. XI съезда АГЕ" – Полтава, 1992. – С. 257.

Цицюра Р.І.

ДОСВІД ВИКОРИСТАННЯ А-БАКТЕРИНУ В ЛІКУВАННІ ГНІЙНИХ РАН

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського

ДОСВІД ВИКОРИСТАННЯ А-БАКТЕРИНУ В ЛІКУВАННІ ГНІЙНИХ РАН – У 60 пацієнтів хворих на цукровий діабет із нейропатично-інфікованою формою синдрому стопи діабетика вивчено клінічні та морфологічні зміни при місцевому застосуванні еубіотику А-бактерин. Встановлено, що еубіотик А-бактерин більш ефективний в лікуванні гнійно-запальних ран відносно антисептика "Діоксидину".

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ А-БАКТЕРИНА В ЛЕЧЕНИИ ГНОЙНЫХ РАН – У 60 больных сахарным диабетом с нейропатически-инфицированной формой синдрома стопы диабетика изучены клинические и морфологические изменения при местном использовании эубиотика А-бактерин. Определено, что эубиотик А-бактерин более эффективный в лечении гнойно-воспалительных ран по отношению к антисептику "Диоксидину".

EXPERIENCE of A-bacterin using in treatment of purulent wounds – The clinical and morphological changes during local application of eubiotic A-bacterin in 60 patients with neuropathic-ischemic form of diabetic foot syndrome on the basis of diabetes mellitus are investigated. It was established that in treatment of purulent-inflammatory wounds eubiotic A-bacterin is more effective than antiseptic "Dioxidin".

Ключові слова: гнійна рана, еубіотики, лікування.

Ключевые слова: гнойная рана, эубиотики, лечение.

Key words: purulent wound, eubiotics, treatment.

ВСТУП Величезний клінічний досвід, накопичений хірургами, які працюють в сфері теорії і практики лікування гнійних ран, свідчить, що навіть найбільш ефективні лікувальні засоби у процесі їх застосування знижують свою антимікробну і ранозагоювальну активність і викликають побічні ефекти різного характеру [1, 3].

Значний відсоток хворих з гнійно-запальною патологією припадає на пацієнтів із синдромом стопи діабетика (ССД), який виникає протягом життя у 5 % вищезазначених хворих. У 3 % пацієнтів з цукровим діабетом ССД становить безпосередню причину високих ампутацій нижніх кінцівок на тлі розвитку гнійно-некротичних уражень тканин стоп [2, 6, 8, 9, 11].

Не зважаючи на певні досягнення в місцевому лікуванні гнійних ран, в зв'язку з поліморфізмом та різновариантністю резистентності мікрофлори гнійних осередків, існуючі чинники не завжди є достатньо ефективними. У зв'язку з цим, значний інтерес має вивчення впливу на регенераторні процеси в рані бактерій-антагоністів, які представлені в препаратах еубіотиків [4, 5, 7, 10].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ На стаціонарному лікуванні в клініці загальної хірургії Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського протягом 2003-2005 років перебувало 60 хворих на цукровий діабет (ЦД) із нейропатично-інфікованою формою синдрому стопи діабетика (ССД). Всім хворим під загальним знеболюванням проведено оперативне втручання за показаннями – хірургічна обробка стопи, трансметатарзальна ам-

путація стопи. В комплекс лікування гнійно-запальних процесів включали дезінтоксикаційну терапію, антибактеріальну терапію в терапевтичних дозах: цефалоспорино першого покоління (цефазолін); цефалоспорино третього покоління (цефтріаксон), препарати фторхінолонового ряду (норфлоксацин, офлоксацин, ципрофлоксацин) в комбінації з метрогілом. Корекцію мікроциркуляторних змін в зоні запалення проводили шляхом внутрішньовенного застосування тренталу та перорального застосування нікошпану.

Для місцевого лікування ран у 25 хворих (контрольна група) використовували антисептик "Діоксидин".

У 35 хворих (основна група) лікування ран під пов'язкою проводили із застосуванням еубіотику А-бактерин – препарату, що належить до групи бактерійних препаратів нормальної мікрофлори людини і являє собою ліофілізовану культуру мікроорганізмів з роду *Aerococcus viridans*.

Для контролю загоєння рани оцінювали стан її країв, вираженість перифокального набряку, наявність в рані некротизованих тканин, час появи і характер грануляцій. Вивчали ранові мазки-відбитки отримані за методикою М. П. Покровської і М. С. Макарова в модифікації М. Ф. Камаєва.

Морфологічна картина рани служила критерієм розпізнання фазового розвитку регенераторних перетворень у тканинах.

Морфологія ранового процесу вивчена з використанням цитологічних методів (методу дослідження ранових відбитків та методу поверхневої біопсії). Для морфологічних досліджень біоптати тканин із ран масою від 0,2 до 0,5 грамів брали під місцевою анестезією 0,25 % розчином новокаїну. Вирізані шматочки тканини розміщували у 10 % розчин формаліну і фіксували при кімнатній температурі протягом 48 годин. Фарбування зрізів проводили гематоксилін-еозинном, толуїдиновим синім за Браше на РНК, за Шабдашем на глікоген, за Ван-Гізон.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ На першу добу після операції у всіх хворих рана мстила помірну кількість некротизованих тканин, перифокальний набряк, гіперемію. При вивченні морфології тканин, що оточують гнійне вогнище, встановлено наявність гіперкератозу епідермісу з формуванням акантозу. Судини переважно не зустрічалися, проте деколи відмічався гнійний деструктивний васкуліт, який трансформувався в мікроабсцеси. Часто вогнища гнійного розплавлення поширювалися аж до підшкірної основи, еластичні фібрили були майже відсутні. Лімфатичні судини щілоподібні, забиті полінуклеарами.

У запальному інфільтраті превалювали нейтрофільні гранулоцити, виявлялись гнійні тільця і мікроорганізми (вільні і фагоцитовані). Краї рани і дно представляли собою

гнійно-некротичну зону, в складі якої виявлялись вогнища запально зміненої підшкірної клітковини, фібринно-гнійний ексудат. Краї рани і вогнища некрозу були інфільтровані поліморфно-ядерними лейкоцитами, макрофагами, в меншій кількості зустрічалися лімфоцити, поодинокі плазматичні клітини, лаброцити.

Рановий процес характеризувався дегенеративним типом клітинної реакції. Спостерігався масовий некроз клітин (80,7±3,4) %, який проявлявся цитолізмом (35,4±6,3) %, зморщенням і їхнім розпадом (45,3±4,3) %. В мазках преувальювали дегенеративні нейтрофіли (85,0 %), у полі зору виявлялось багато детрити. Звертало на себе увагу різке зниження процесу фагоцитозу.

У основній групі хворих на ЦД із нейропатично-інфікованою формою ССД вже на третю добу місцевого застосування А-бактерину у вигляді аплікацій на рану відмічено посилення регенераторних процесів у тканинах. Проліферуючий ендотелій із пошкоджених судин створював синусоїди, які наповнювали рану. В краях рани посилено проліферували епітеліальні клітини. В стромі, яка оточувала рану, відмічались численні елементи фібропластичного і епітеліоїдного характеру, а також волокнисті структури. В переважній більшості спостережень на поверхні грануляційної тканини визначався тонкий шар епітеліальних клітин, які по краях рани переходили у ростковий шар потовщеного епідермісу. У глибоких шарах виявлялися ознаки дозрівання сполучної тканини аж до самого фіброзу, простежувалися пучки грубоволокнистої сполучної тканини. При вивченні цитогам спостерігався запально-регенераторний тип клітинної реакції.

Після триденного застосування антисептика "Діоксидин" у хворих контрольної групи чітко позитивної динаміки ранового процесу не спостерігалось. Утримувались запальні процеси у дермі і підшкірній клітковині. На фоні

гнійно-запальної інфільтрації виявлялись масивні вогнища некрозу і крововиливів, під якими місцями простежувалися лише поодинокі новоутворені капіляри. Відмічалась різка гіперемія судин. Ендотелій лімфатичного русла набряклий, ядра його значно збільшені.

Цитологічно клітинна реакція характеризувалась дегенеративно-запальним типом. Половину нейтрофілів представляли дегенеративні форми, які виявлялись у 65 % у полі зору. В препаратах були присутні скупчення некротичних мас і проміжної речовини, що свідчило про затяжний перебіг першої фази ранового процесу і характеризувалась відповідною клінічною картиною; значні серозно-гнійні виділення з ранової поверхні, нашарування фібрину на дні рани, наявність вторинних осередків некрозу, набряк оточуючих тканин, гіперемія шкіри, що змушувало задумуватися про більш активну хірургічну тактику щодо рани. Фагоцитарна активність нейтрофільних лейкоцитів не виявлялась.

На 7-ту добу лікування А-бактерином у хворих зникли гіперемія шкіри і набряк тканин або були незначно виражені. Дно і стінки ран наповнювались рожевими соковитими грануляціями з незначною кількістю серозно-слизистих виділень (табл. 1). У 16 пацієнтів грануляційна тканина, що росла, наповнювала просвіт рани, яка починала закриватися, активізувалася крайова епітелізація. При цьому ріст капілярів і проліферація фіброblastів фіксувались у вигляді синхронних процесів. Лімфатичні капіляри розширені, містять лімфу з окремими клітинами. Довкола ендотеліоцитів колагенові структури без видимих слідів гіалінозу. Ядра ендотелію набрякли, різко випинаються в просвіт капілярів, що свідчить про активну роботу лімфатичної системи, а її робота є важливим компонентом лікування даного контингенту хворих.

При вивченні цитогам в цей період встановлено регенераторний тип клітинної реакції.

Таблиця 1. Результати лікування А-бактерином та "Діоксидином" хворих із нейропатично-інфікованою формою ССД

Група хворих	Клінічні критерії динаміки ранового процесу, дні		
	Очищення рани від гнійно-некротичних мас	Поява грануляцій	Поява крайової епітелізації
Основна група	3,2 ± 0,3	4,1 ± 0,3	5,3 ± 0,3
Контрольна група	5,0 ± 0,2	5,2 ± 0,4	6,4 ± 0,2
	P<0,01	p<0,01	p<0,01

При вивченні цитогам на 7-у добу місцевого застосування антисептика встановлено, що клітинна реакція, як і на 3-ю добу, характеризувалась запально-дегенеративним типом. Більше половини нейтрофілів (58,5 %) склали дегенеративні форми. Загальна кількість нейтрофілів порівняно із 3-ю добою, залишалась на попередньому рівні (85 %). Фагоцитарна активність практично не простежувалась.

Морфологічно відмічали наступні зміни: розширення просвіту артеріол, агрегація еритроцитів в просвіті артеріол, набряк стінки артеріол, інфільтрація стінки нейтрофілами, розширення просвіту кровоносних капілярів, стаз крові, лімфатичні судини розширені, заповнені лімфою.

ВИСНОВКИ 1. Використання А-бактерину у місцевому лікуванні гнійно-запальних ран сприятливо впливає на клінічний перебіг захворювання, проявляє протизапальну та некротичну дію. 2. У клінічному плані застосування А-бактерину порівняно з "Діоксидином" скорочує термін очищення ранової поверхні в середньому на 2 доби, виникнення грануляцій та крайової епітелізації на 1,5-2 доби. 3. Проведені морфологічні дослідження довели наявність лімфостимулюючої дії А-бактерину, яка відсутня у відомих на сьогодні антисептиках.

Перспективи подальших досліджень Враховуючи те, що еубіотики відносяться до препаратів з вираженою імунотимулюючою дією, отримані дані можуть бути підґрунтям для подальших клінічних та імунологічних досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

- Бондарев Р.В. Основні принципи лікування хворих з гнійно-запальними захворюваннями м'яких тканин в першій фазі ранового процесу // Український медичний альманах. – 1999. – Т. 2, – № 1. – С. 162-168.
- Гостищев В.К., Афанасьев А.Н., Хохлов А.М. Хирургическое лечение диабетической остеоартропатии, осложненной гнойно-некротическими поражениями стопы // Хирургия. – 1999. – № 8. – С. 98-103.
- Теория и практика местного лечения гнойных ран / Под ред. Даченко Б.М. – К.: Здоров'я, 1995. – 384 с.
- Кременчуцкий Г.М. Биологические свойства и перспективы практического использования аэрококков-антагонистов: Дис... д-ра мед. наук. – Днепропетровск, 1989. – 498 с.
- Коваленко Н.К. и др. Использование селекционированных штаммов молочнокислых бактерий для получения лечебно-профилактических продуктов // Антибиотики и колонизационная резистентность: Труды ВНИИА. – М., 1990. – Вып. XIX. – С. 182-185.
- Ляпис М.О., Герасимчук П.О. Синдром стопы диабетика. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – С. 276.
- Ханина Г.И. и др. Новые лекарственные формы бактериальных препаратов на современном этапе их разработки // Эпидемиология, клиника, профилактика и лечение острых и хронических кишечных инфекций. – М.: МНИИЭМ, -15. – С. 115-118.
- Федоренко В.П. Некротично-запальні ураження стопи у хворих на цукровий діабет // Практична медицина. – 1997. – № 7-8. – С. 98-103.
- Reiber G.E. The Epidemiology of the Diabetic Foot Problems // Diabetic Medicine Suppl. – 1996. – Vol. 13 – P. 6-11.
- Sanders M. Probiotics: considerations for human health // Nutritional Review. – 2003. – Vol. 61, № 3. – P. 91-100.
- Williams H., Hutchinson K. J. Gangren of the foot in diabetics // Arch. Surg. – 1996. – Vol. 106, № 4. – P. 609-611.

СТАН РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ САМЦІВ БІЛИХ МИШЕЙ ЛІНІЇ ICR ЗА УМОВ АДРИБЛАСТИНОВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Одеський державний медичний університет

СТАН РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ САМЦІВ БІЛИХ МИШЕЙ ЛІНІЇ ICR ЗА УМОВ АДРИБЛАСТИНОВОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ – В роботі розглянуто основні показники стану фертильної функції самців мишей за умов впливу адрибластину з використанням стандартних методик виявлення гонадотоксичності: обчислення індексу плодючості, кількості плодів в посліді, морфологічних досліджень статевих залоз. Адрибластин є антибіотиком антрациклінового ряду, що його часто застосовують в протипухлинній терапії. Введення препарату в сумарній дозі 2 мг/кг здійснювали внутрішньоочеревинно двічі, по половині сумарної дози з інтервалом 7 днів. Виведення самок з експерименту проводили на 17-18-ий день вагітності, самців – на 12-й, 22-й та 32-й дні після останньої ін'єкції адрибластину. З'ясовано, що здатність до запліднення та кількість плодів, отриманих від самців, що підлягали впливові адрибластину, значно знижені на відміну від групи, де токсичній дії підлягали самки. Морфологія сім'яників характеризується наявністю атрофічних змін сперматогенного епітелію. Рівень тестостерону в сироватці крові значно знижується протягом місяця від початку досліджень. Обґрунтовується можливість застосування адрибластину для моделювання вторинного гіпогонадізму.

СОСТОЯНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ САМЦОВ МЫШЕЙ ЛИНИИ ICR В УСЛОВИЯХ АДРИБЛАСТИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ – В работе рассмотрены основные показатели состояния фертильной функции самцов мышей при воздействии адрибластина с использованием стандартных методик изучения гонадотоксичности: определение индекса плодovitости, количества плодов в помете, морфологических исследований половых желез. Адрибластин является антибиотиком антрациклинового ряда, который часто применяют в противоопухолевой терапии. Введение препарата в суммарной дозе 2 мг/кг осуществляли внутривбрюшинно, дважды, по половине суммарной дозы с интервалом 7 дней. Выведение самок из эксперимента производили на 17-18-й день беременности, самцов – на 12-й, 22-й и 32-й дни после последней инъекции адрибластина. Выяснено, что способность к оплодотворению и количество плодов, полученных от самцов, подвергшихся воздействию адрибластина, значительно снижены в отличие от группы, где токсическому действию подверглись самки. Морфология семенников характеризуется наличием атрофических изменений сперматогенного эпителия. Уровень тестостерона в сыворотке крови значительно снижается в течение месяца от начала исследований. Обосновывается возможность применения адрибластина для моделирования вторичного гипогонадизма.

THE STATE OF REPRODUCTIVE FUNCTION OF MALES OF MICE ICR LINE UNDER ADIRIBLASTIN TOXIC INFLUENCE – The basic indexes of the state of reproductive function of mice males under the influence of adriblastin using standard methods of gonadotoxicity exposure are considered in the work: determination of index of fertility, amount of offspring, morphological researches of reproductive glands. Adriblastin is an antibiotic of antracycline row which is often applied in antitumour therapy. Introduction of preparation in a total dose of 2 mg/kg was carried out intraabdominally, twice, in a half total dose with an interval of 7 days. Ephthanasia of females was done on the 17th-18th day of pregnancy, of males – on the 12th, 22nd and 32nd days after the last injection of adriblastin. It is found out that fertilizing capacity and amount of the offspring, got from the males exposed to influence of adriblastin, is considerably reduced unlike a group, where females were exposed to toxic action. Morphology of seminal glands is characterized by the presence of atrophic changes of spermatogenic epithelium. The level of testosterone in the blood serum considerably decreases during a month from the beginning of researches. Possibility of application of adriblastin for the secondary hypogonadism modelling is substantiated.

Ключові слова: репродуктивна функція самців мишей, адрибластин.

Ключевые слова: репродуктивная функция самцов мышей, адрибластин.

Key words: reproductive function of male mice, adriblastin.

Постановка проблеми В цей час дослідження, спрямовані на виявлення патогенетичної ролі змін, що виникають в гаметах та тканинах ембріону та плода під впливом хімічних сполук, активно розвиваються. Пошкодження біохімічних процесів в органах репродуктивної системи можуть виявитися пусковим механізмом розвитку інфертильності, вагітності, що не відбулася та аномалій розвитку нащадків.

Одним з препаратів, що його часто застосовують в схемах протипухлинної терапії, є антибіотик антрациклінового ряду адрибластин. Адрибластин швидко проникає в клітини, взаємодіє з ДНК, перешкоджаючи синтезу нуклеїнових кислот, викликає гальмування мітотичної активності, сприяє виникненню хромосомних аберацій [1].

Аналіз останніх досліджень і публікацій Як було показано в наших попередніх дослідженнях, адрибластин не викликає токсичних змін паренхіматозних органів (печінка, нирки), а також може застосовуватися при експериментальному моделюванні кардіоміопатії в умовах хронічного експерименту [4, 7]. З урахуванням загальної токсичної дії адрибластину виникає проблема його впливу на репродуктивну систему, що знаходиться в тісній взаємодії з життєво значущими системами організму, а саме: системою синтезу білків та регулювання гомеостазу.

Постановка завдання Виходячи з наведеного, метою нашої роботи було вивчення особливостей репродуктивної функції самців мишей лінії ICR за умов дії адрибластину.

Виклад основного матеріалу дослідження Експеримент був проведений на 45 самцях та 220 самках мишей лінії ICR вагою 23 - 30 г, віком – 5 - 6 міс. Всіх тварин було розподілено на три групи: I група – самки після дворазової ін'єкції адрибластину в сумарній дозі 2 мг/кг з наступним спарюванням з інтактними самцями на 10-12-й день після останньої ін'єкції; II група – самці після дворазової ін'єкції адрибластину в сумарній дозі 2 мг/кг з наступним спарюванням з інтактними самками; III група – інтактні самці та самки, що спарювалися (контроль). Адрибластин вводили внутрішньоочеревинно по половині сумарної дози двічі з інтервалом 7 днів. Тварини всіх досліджуваних груп знаходилися в стандартних умовах віварію. Виведення з експерименту проводилося під легким ефірним наркозом шляхом зсунення шийних хребців на 17-18-й день вагітності (першим днем вагітності вважали день виявлення сперматозоїдів в мазках з піхви) самок, а самців – на 12-й, 22-й та 32-й дні після останньої ін'єкції адрибластину. Виділені тестикули фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну. Парафінові зрізи завтовшки 3-5 мкм, забарвлювали гематоксиліном та еозином і досліджували з використанням світлового мікроскопа «Leica-DMLS».

У тварин з'ясовували такі показники: індекс плодючості (I_n), який обчислювали відношенням кількості отриманих породілей до кількості тварин, що спарювали; середню кількість плодів в породіллі. Крім того, у самців проводили вимірювання рівня тестостерону в сироватці крові методом «ELISA» з використанням стандартних імуноферментних наборів.

В результаті проведених досліджень виявлено, що запліднення з наступною вагітністю мало місце в 51 самки (з 60) I групи, таким чином індекс плодючості в середньому становив 0,85. Для другої групи I_n був значно менший – 0,62, а в контрольній групі – 0,87.

Середня кількість плодів у I групі становила $10,22 \pm 1,3$; у II групі – $7,12 \pm 1,23$; у III групі – $11,06 \pm 1,4$.

У самців I та III груп (інтактних) мікроскопічна картина сім'яників була тождною протягом всього експерименту: на зрізі сім'яних каналців були наявні всі шари сперматогенного епітелію, що знаходився на різних стадіях диференціації, з присутністю всіх клітин сперматогенезу; інтерстицій без особливостей. На 12-й день експерименту в сім'яних каналцях самців мишей II групи в більшості каналців

спостерігалася повна відсутність сперматогоній, окрім стовбурових. Канальці виглядали такими, що запустили через зменшення кількості клітин, просвіти збільшені, в них можна побачити тільки скупчення білкового детриту. На 22-й день виявилася повна відсутність сперматогоній, що диференціюються і диференційованих, навіть при збереженні інших шарів епітелію, а в деяких канальцях сперматогоній епітелій повністю відсутній. Проте на 32-й день відбулося практично повне відновлення сперматогенного епітелію.

Рівень тестостерону в сироватці крові у самців I групи на 12-й день після останньої ін'єкції адрибластину був 100 нмоль/л, що становило 61 % відносно контролю, і прогресивно зменшувався в кожній досліджуваній строк: на 22-й день до 95 нмоль/л, на 32-й день до 76,7 нмоль/л (58 % та 46 % відповідно відносно контролю).

Можна помітити, що для I групи, де для покриття самок використовувались інтактні самці, I_p та середня кількість плодів в посліді майже не відрізнялися від таких контрольної групи. В цей самий час, у II групі ці показники фертильної функції були значно менше ніж у контролі. Це свідчить про те, що у самців, які підлягали впливові адрибластину, спостерігається зниження здатності до відновлення. Підтвердженням даної думки є результати вимірювання рівня тестостерону: прогресивне зменшення протягом місяця спостережень. Якщо зіставити вищенаведені дані з результатами морфологічних досліджень, що ми їх проводили, то вирисовується чітка картина морфофункціональної неспроможності репродуктивної системи самців за умов впливу адрибластину. Відомо, що адрибластин діє на клітини, де відбувається активний процес синтезу РНК [6]. В умовах токсичної дії зовнішніх факторів стовбурові сперматогонії починають активний поділ. Тому на 32-й день експерименту спостерігаються ознаки майже повної регенерації сперматогенного епітелію, хоча рівень тестостерону залишається дуже низьким, тобто повного відновлення морфофункціонального стану яєчок не відбувається. Слід зазначити, що виразних змін в здатності до запліднення та плодючості самок після введення адрибластину не було. Це підтверджує існуючі дані про більшу стійкість гамет са-

мок до зовнішніх подразників порівняно з самцями [3]. Швидше за все, це явище обумовлене більшою щільністю та меншим проникненням гематофолікулярного бар'єру.

Висновки і перспективи подальших досліджень

1. Здатність до запліднення та кількість плодів у самок після спарювання з самцями, що отримували адрибластин в сумарній дозі 2 мг/кг, виявлялися меншими порівняно з контролем.

2. Здатність до запліднення та кількість плодів у самок, що отримували адрибластин в сумарній дозі 2 мг/кг, після спарювання з інтактними самцями майже не відрізнялися від таких в контролі.

3. Морфологічна картина, що ми її спостерігаємо в гонадах самців після введення адрибластину, корелює з виявленими порушеннями репродуктивної функції.

4. Зміни морфофункціонального стану репродуктивної системи самців мишей після ураження адрибластином показують можливість використання даного препарату для моделювання вторинного гіпогонадізму у самців експериментальних тварин.

Подальші роботи дозволять виявити можливість корекції виявлених змін за допомогою протекторних та метаболічних препаратів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. Т.2. – 14-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: ООО "Издательство новая Волна", 2000. – 608 с.
2. Райцина С.С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции. М.: Наука, 1985. – 206 с.
3. Светлов П.Г. Физиология (механика) развития: В 2-х т. Т.II. Внутренние и внешние факторы развития / Ленинград «Наука», 1978. – 263 с.
4. Холодкова Е.Л., Пыхтеев Д.М., Щербатюк А.Л. Создание у крыс патогенетически обоснованной модели кардиомиопатии // Патология, 2005. - Т.2. - №.2. – С.76-78.
5. Grudzinskas J.G., Yovich J.L. Gametes – the spermatozoon // Cambridge University Press, 1995. – 307 p.
6. Kraus-Berthier L. et al. Histology and sensitivity to anticancer drugs of two human non-small cell lung carcinomas implanted in the pleural cavity of nude mice // Clin. Cancer Res. – 2005. – P. 297-304.
7. Zaporozhan V.N., Kholodkova E.L., Pykhteyev D.M., Perepelyuk N.N. Influence of G-CSF on the state of visceral organs in acute toxic affection // The International Journal of Artificial Organs. – 2005. – Vol. 28, № 9. – P. 935.

Сафин Р.Я.

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ ТРУПНОЙ КРОВИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДАВНОСТИ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ

Челябинская государственная медицинская академия

ЗАСТОСУВАННЯ ІМУНОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ЛЕЙКОЦИТІВ ТРУПНОЇ КРОВІ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ДАВНОСТІ НАСТАННЯ СМЕРТІ – Вивчена динаміка зміни фагоцитарної функції нейтрофільних лейкоцитів трупної крові, забраної із порожнин серця шурів, в перші 3 доби після настання смерті. Проаналізована залежність швидкості зміни фагоцитарної функції нейтрофілів трупної крові.

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ ТРУПНОЙ КРОВИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДАВНОСТИ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ – Изучена динамика изменения фагоцитарной функции нейтрофильных лейкоцитов трупной крови, забранной из полостей сердца крыс, в первые 3 суток после наступления смерти. Проанализирована зависимость скорости изменения фагоцитарной функции и температуры среды, при которой находились трупы крыс. После наступления смерти происходит постепенное снижение показателей фагоцитоза. В ходе исследования выявлено влияние температуры среды на скорость изменения фагоцитарной функции нейтрофилов трупной крови.

USE OF IMMUNOLOGICAL RESEARCH METHODS OF NEUTROPHIL LEUCOCYTES OF CADAVERIC BLOOD FOR ESTIMATING THE TIME OF DEATH – The dynamics of phagocytic function change of neutrophil leucocytes of cadaveric blood

taken from the cavities of the rat hearts in first three days after the death was studied. The dependence between speed of phagocytic function change and temperature of environment was analyzed. After death gradual lowering of phagocytosis values occurred. In investigation we revealed the influence of environment temperature on speed of phagocytic function change in neutrophil leucocytes of the cadaveric blood.

Ключові слова: давність настання смерті, діагностика, нейтрофільні лейкоцити.

Ключевые слова: давность наступления смерти, диагностика, нейтрофильные лейкоциты.

Key words: time of death, diagnosis, neutrophil leucocytes.

Актуальность проблемы Организм представляет собой систему, элементами которой являются клетки. Одним из свойств этой системы является ее смерть. Смерть организма – постепенно протекающий процесс, который имеет как свои особенности при различной патологии, так и некоторые общие закономерности. На современном этапе разви-

тия науки пришло понимание, что организм как целое перестает существовать раньше прекращения жизнедеятельности каждой из своих частей. Таким образом, биологическая система гибнет как система раньше, чем полностью истощаются материальные ресурсы ее составных элементов [6].

Установление давности наступления смерти входит в число самых актуальных проблем судебной медицины. Оценка состояния клеток после смерти организма возможна как по качественным показателям (структурные изменения), так и количественным (изменения активности тех или иных функций клеток).

Анализ последних исследований и публикаций

Достаточно большое количество работ посвящено исследованию структурно-функциональных изменений в клетках крови, в частности нейтрофильных лейкоцитах, так как они обладают высокой функциональной активностью и обязательно реагируют на экзогенные и эндогенные изменения параметров среды [1, 2, 3, 4, 5, 7, 8]. Известно, что в периоде агонии и после смерти происходит нарушение гомеостаза (изменяются концентрации газов и многих химических элементов крови), в этих условиях нейтрофилы реагируют изменением своей активности [9]. Однако, в работах, посвященных исследованию процессов происходящих в нейтрофильных лейкоцитах после наступления смерти организма, нет данных о зависимости изменения различных функций нейтрофилов в зависимости от давности наступления смерти при различных температурных условиях окружающей среды, в которой находится труп.

Цель работы С учетом выше описанного, нам представляется интересным изложить результаты проведенного исследования по определению зависимости изменения фагоцитарной функции нейтрофильных лейкоцитов крови от давности наступления смерти организма и температуры среды, в которой находится труп.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ Исследования были выполнены на белых нелинейных лабораторных крысах обоего пола весом 170-220 грамм. Эвтаназия осуществлялась путем погружения животных в глубокий медикаментозный наркоз с последующей декапитацией. Трупы 59 крыс находились при температуре 16-21 °С и по 25 трупов крыс – при температуре 4 °С и 37 °С. Кровь забирали шприцем из полостей сердца. Забор осуществляли сразу и через 3, 6, 18, 24, 48, 72 часа поле гибели животного. Сразу после забора к

100 мкл крови добавляли 50 мкл взвеси стандартных частиц полистирольного монодисперсного латекса диаметром 1,7 мкм (получен из НИИ синтетического каучука, Санкт-Петербург) в концентрации 10⁸ частиц/мл, далее пробирки инкубировались в течение 30 минут при 37 °С, после чего готовились мазки. Мазки высушивались, фиксировались в 96 % этаноле и окрашивались по Романовскому-Гимзе. В мазке подсчитывались 100 нейтрофилов и количество поглощенных ими частичек латекса, поле чего определялись следующие показатели: активность фагоцитоза нейтрофилов – процент активных клеток из общего количества подсчитанных нейтрофилов, интенсивность фагоцитоза – среднее количество фагоцитированных частиц латекса одним нейтрофилом.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования показали, что показатели активности и интенсивности фагоцитоза постепенно снижаются по мере увеличения сроков, прошедших после наступления смерти, вне зависимости от стационарных температурных условий нахождения трупов крыс. В таблицах 1.1 и 1.2 представлены средние значения и стандартные отклонения показателей активности и интенсивности фагоцитоза нейтрофильных лейкоцитов в зависимости от давности наступления смерти и температуры нахождения трупного материала.

На втором этапе исследования полученные данные подвергли статистической обработке с использованием пакета статистических программ "Statistica, version 6.0" компании StatSoft, Inc. Для статистического анализа параметров выбрали непараметрические методы исследования. Показатели первичного исследования и исследований через 3, 6, 18, 24, 48 часов после наступления смерти крыс, распределенные по группам в зависимости от температурных условий нахождения трупного материала, сравнивали путём использования критерия Крускала-Уоллиса. Полученные результаты, представленные в таблице 1.3, позволяют сделать вывод, что между исследуемыми группами в первые шесть часов с момента наступления смерти статистически значимых различий не выявлено, а через 18 и 24 часа от момента наступления смерти выявляются статистически значимые различия. К концу вторых суток, во всех группах, поглощение латекса нейтрофильными лейкоцитами не определялись, за исключени-

Таблица 1.1. Средние значения и стандартные отклонения активности фагоцитоза нейтрофилов крови (Кровь забрана из полостей сердца трупов крыс, находившихся при различных стационарных температурных условиях внешней среды)

Температура окруж. среды	Сразу после наступления смерти (Н.С.)	Через 3 часа после Н.С.	Через 6 часов после Н.С.	Через 18 часов после Н.С.
4° С	44,28±8,67% (n-25)	33,91±10,15% (n-11)	24,42±6,32% (n-12)	7,40±2,99% (n-10)
16-21° С	40,29±7,97% (n-58)	29,76±4,62% (n-17)	23,07±5,67% (n-14)	6,81±2,23% (n-16)
37° С	40,76±8,10% (n-25)	28,00±4,11% (n-10)	20,20±3,82% (n-10)	4,00±1,33% (n-10)
	Через 24 часа после Н.С.	Через 48 часов после Н.С.	Через 72 часа после Н.С.	
4° С	3,09±0,83% (n-11)	0,33±0,49% (n-12)	0,00±0,00% (n-5)	
16-21° С	2,85±0,97% (n-26)	0,00±0,00% (n-5)	0,00±0,00% (n-2)	
37° С	0,20±0,63% (n-10)	0,00±0,00% (n-5)	-	

Таблица 1.2. Средние значения и стандартные отклонения интенсивности фагоцитоза нейтрофилов крови (Кровь забрана из полостей сердца трупов крыс, находившихся при различных стационарных температурных условиях внешней среды)

Температура окруж. среды	Сразу после Н.С.	Через 3 часа после Н.С.	Через 6 часов после Н.С.	Через 18 часов после Н.С.
4° С	1,36±0,50 ед. (n-25)	0,97±0,42 ед. (n-11)	0,51±0,21 ед. (n-12)	0,13±0,07 ед.(n-10)
16-21°С	1,29±0,41 ед. (n-58)	0,72±0,20 ед. (n-17)	0,56±0,17 ед. (n-14)	0,10±0,04 ед.(n-16)
37° С	1,25±0,51 ед. (n-25)	0,70±0,15 ед. (n-10)	0,45±0,10 ед. (n-10)	0,04±0,01 ед.(n-10)
	Через 24 часа после Н.С.	Через 48 часов после Н.С.	Через 72 часа после Н.С.	
4° С	0,04±0,01 ед. (n-11)	0,003±0,005 ед. (n-12)	0,00±0,00 ед. (n-5)	
16-21°С	0,04±0,02 ед.(n-26)	0,00±0,00 ед. (n-5)	0,00±0,00 ед. (n-2)	
37° С	0,00±0,01 ед.(n-10)	0,00±0,00 ед. (n-5)	-	

Таблица 1.3. Данные статистического анализа. Критерий Крускала-Уоллиса (критическое значение критерия Крускала-Уоллиса – 5,991, для p=0,05, число степеней свободы, v – 2)

Критерий Крускала-Уоллиса, Н	Сразу после Н.С.	Через 3 часа после Н.С.	Через 6 часов после Н.С.
Для активности фагоцитоза нейтрофильных лейкоцитов	4,513 (n= 108) p>0,05	2,585 (n= 38) p>0,05	2,859 (n= 36) p>0,05
Для интенсивности фагоцитоза нейтрофильных лейкоцитов	0,209 (n= 108) p>0,05	2,397 (n= 38) p>0,05	2,576 (n= 36) p>0,05
	Через 18 часов после Н.С.	Через 24 часа после Н.С.	Через 48 часов после Н.С.
Для активности фагоцитоза нейтрофильных лейкоцитов	10,998 (n= 36) p<0,05	23,565 (n= 47) p<0,05	3,889 (n= 22) p>0,05
Для интенсивности фагоцитоза нейтрофильных лейкоцитов	15,379 (n= 36) p<0,05	22,536 (n= 47) p<0,05	3,889 (n= 22) p>0,05

ем нескольких случаев в группе, где тушки крыс находились при температуре 4° С.

Проведенные исследования позволили получить ряд сведений о происходящих изменениях в иммунной системе после наступления биологической смерти. Они показали, что с увеличением срока после смерти происходит постепенное и планомерное снижение фагоцитарной функции нейтрофильных лейкоцитов крови. Отмечается некоторая зависимость скорости изменения исследуемой функции нейтрофильных лейкоцитов и температуры среды, при которой содержится труп. Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод, что данный метод может быть применен в совокупности с другими для определения давности наступления смерти в первые трое суток. Методика исследования проста, не требует дорогостоящей аппаратуры и может быть использована в лаборатории любого бюро судебно-медицинской экспертизы. Однако, для внедрения в практику необходимо проведение подобных исследований на нейтрофильных лейкоцитах трупной крови человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакян А.А., Алавердян М.И. Морфологическая картина белой крови и фагоцитарная активность лейкоцитов у трупов. – В кн.: Сборник

трудов кафедры судебной медицины I Ленинградского медицинского института № 2. – Л., 1958. – С. 83-86.

2. Кадиев Б.Б. Установление давности наступления смерти по динамике посмертных изменений в форменных элементах крови // Судебно-медицинская экспертиза. – 1987. – №1. – С. 14-17.

3. Кадиев Б.Б., Кононенко В.И. Применение гистохимических методов при исследовании степени альтерации лейкоцитов трупной крови / / Диагностика давности процессов в объектах судебно-медицинской экспертизы. – Кишинев: Штиница, 1986. – С. 14-15.

4. Казарновская М.Л. Репродукция лимфоцитов трупной крови. Судебно-медицинские и биологические аспекты. – Кишинев: Штиница, 1983. – 104 с.

5. Костылев В.И. Иммунологический метод и давность наступления смерти // Диагностика давности процессов в объектах судебно-медицинской экспертизы. – Кишинев: Штиница, 1986. – С. 20-21.

6. Лушников Е.Ф., Абрисимов А.Ю. Гибель клетки (Апоптоз). – М.: Медицина, 2001.

7. Мельников Ю.Л., Жаров В.В. Судебно-медицинское определение времени наступления смерти. – М.: Медицина, 1978.

8. Науменко В.Г., Митяева Н.Л. Гистологический и цитологический методы исследования в судебной медицине. – М.: Медицина, 1980.

9. Пальцын А.А., Захарова О.А., Каем Р.И., Бадикова А.К., Червонская Н.В. Электронно-радиографическое исследование жизнеспособности клеток человека после смерти. Посмертная активация синтеза РНК в нейтрофилах // Бюл. экспериментальной биологии и медицины. – 1991, Т. 111, №2. – С. 199-201.

Чорнописький О.Я., Волков К.С.

МОРФОЛОГІЧНІ І КІЛЬКІСНІ ЗМІНИ ЛЕЙКОЦИТІВ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ОПІКАХ І ВИКОРИСТАННІ ЛІОФІЛІЗОВАНИХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТІВ

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

МОРФОЛОГІЧНІ І КІЛЬКІСНІ ЗМІНИ ЛЕЙКОЦИТІВ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ОПІКАХ І ВИКОРИСТАННІ ЛІОФІЛІЗОВАНИХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТІВ – В експерименті, на морських свинках, вивчені зміни лейкоцитів у периферійній крові при глибоких опіках і закриття ран ліофілізованими ксенодермотрансплантатами. Встановлено позитивний вплив ксенопластики, після ранньої некретомії, на морфологічний стан лейкоцитів, їх кількісні співвідношення.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОЖОГАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛИОФИЛИЗОВАННЫХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТОВ – В эксперименте, на морских свинках, изучены изменения лейкоцитов в периферической крови при глубоких ожогах и закрытия ран ксенокожей. Установлено положительное влияние ксенопластики, после ранней некретомии, на морфологическое состояние лейкоцитов, их количественное соотношение.

MORPHOLOGICAL AND QUANTITATIVE LEUCOCYTE CHANGES IN PERIPHERAL BLOOD DURING EXPERIMENTAL THERMAL INJURIES WITH LYOPHILIZED XENOGRAFTS USAGE – Changes in the leucocytes of peripheral blood at deep burns and lyophilized xenografts usage were investigated in experiment on guinea pigs. Positive influence of xenoplasty and early necrectomy on morphological condition of leucocytes is proved.

Ключові слова: ліофілізовані ксенодермотрансплантати, опік, лейкоцити, лейкоцитарна формула.

Ключевые слова: лиофилизированные ксенодермотрансплантаты, ожог, лейкоциты, лейкоцитарная формула.

Key words: lyophilized xenografts, burn, leucocytes, leucogram.

ВСТУП Опікова хвороба і її ускладнення є однією з найбільш актуальних проблем сучасної медицини. Актуальність її визначається частотою (від 5,8 до 10 %) [1], ступенем тяжкості ураження, складністю і довготривалістю лікування, високою летальністю потерпілих при значних опіках.

Результати і тактика лікування обпечених хворих залежать від площі і глибини опікових ран, комплексу патологічних змін в організмі. Вищевказане і зумовлює розвиток, перебіг та наслідки опікової хвороби.

Корекція різноманітних порушень, що виникають в тканинах і органах потерпілих, неможлива без відновлення шкірного покриву у короткі терміни, коли регенераторні властивості організму ще збережені і хворі не винажені тривалим перебігом захворювання. Саме тому тут знайшли своє застосування ліофілізовані кріоксенодермотрансплантати [2].

Аналіз останніх досліджень. У роботах, що виконувались раніше, проводились дослідження периферійної крові при опіках, але морфологічний стан і кількісні зміни лейкоцитів при тяжких опіках з використанням ксенодермотрансплантатів для закриття ран після ранньої некретомії проводяться вперше.

Мета дослідження. Метою роботи було встановити морфологічні і кількісні зміни лейкоцитарної формули в експерименті при глибоких опіках із застосуванням ліофілізованих ксенодермотрансплантатів з ранньою некретомією, використовуючи морських свинків.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ. Дослід проводився на 35 ставозрілих морських свинках з масою тіла 500-600 г. Опік наносили під загальним ефірним наркозом на епіловану поверхню шкіри спини водяною парою при температурі 96-97 °С протягом 60 секунд. Розміри ділянки ураження склали 18-20 % поверхні тіла тварин. Результати гістологічних досліджень пошкодженої шкіри засвідчили глибину ураження, що відповідає опіку IIIA-IIIБ ступеня.

При щоденному огляді контролювали загальний стан, ступінь прояву місцевих змін в ділянці опікової рани, масу тіла і летальність морських свинків. Піддослідні тварини були розділені на 3 групи :

- I. Інтактні морські свинки - 5 тварин.
- II. Тварини з опіковою травмою - 15 тварин (контрольна група).
- III. Морські свинки з опіковою травмою, яким після некретомії опікову рану закривали ліофілізованими ксенодермотрансплантатами - 15 тварин.

Для дослідження змін у периферичній крові у динаміці забір крові проводили із вушної вени за методикою Г. В. Федорова (1961) [5], вакуумвідсмоктуванням, отримуючи до 5 мл венозної крові, що згідно з сучасними уявленнями [1], відповідають стадіям опікової хвороби: 7, 14 і 21 доби (відповідно – стадії ранньої і пізньої токсемії та септикотоксемії). Забір крові проводився при декапітації тварин. Перед забором матеріалу оглядали опікову поверхню, відзначали особливості опікового струпа і наявність чи відсутність гнійних ускладнень в ділянці рани.

Мазки готувались за традиційною методикою Романовського-Гімзи. Підрахунок формених елементів проводився з використанням світлового мікроскопа з допомогою імерсійного об'єктиву. [4]. Підраховували 100 лейкоцитів, визначали їх приналежність до тієї чи іншої групи. Характер деструкції сегментоядерних нейтрофілів, обумовлених загальною токсичністю плазми крові, вивчали за допомогою електронного мікроскопа згідно з методикою З.А. Бутенко (1974). Лейкоцитарну плівку, яку виділяли із гепаринізованої венозної крові експериментальних тварин шляхом центрифугування, фіксували в 2,5 % розчині глютаральдегіду на фосфатному буфері з наступною дофіксацією у 1 % розчині чотириокису осмію, дегідрували в спиртах і ацетоні, контрастували ураніацетатом і заливали в епоксидні смоли. Із залитих в епоксидні смоли зразків виготовляли ультратонкі зрізи, на ультрамікротомі УМПТ-7, які контрастували за Рейнольдсом і вивчали в електронному мікроскопі EM-125K.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. У тварин другої групи на 7 добу спостерігався лейкоцитоз в межах $12-15 \cdot 10^9/\text{л}$ (норма $8-10 \cdot 10^9/\text{л}$) [5], зсув лейкоцитарної формули вліво кількість паличкоядерних нейтрофілів зростає до $0,12 \pm 0,025$ % (норма $0,08 \pm 0,025$ %) [5]. На 7 добу в цій же групі після опікової травми з'являються нейтрофільні гранулоцити з електронно-мікроскопічними ознаками помірно вираженої мембранної активності (наявність псевдоподій, фагосом та дегрануляція зернистості цитоплазми, зменшення гранул глікогену). Одночасно суттєво зменшувався об'єм цитоплазми, що призвело до зростання ядерно-цитоплазматичного співвідношення на 18,7 % проти норми. В лімфоцитах, насамперед, визначаються

деструктивні зміни мітохондрій, наявна їх гіпертрофія з просвітленням мітохондріального матриксу і деструкція крист, розширення просвіту каналців ендоплазматичної сітки, з частковою їх вакуолізацією В гіалоплазмі наростає кількість мікроевезикул, визначаються окремі лізосоми.

На 14 добу лейкоцитоз із зсувом лейкоцитарної формули різко поглибився і склав $17-19 \cdot 10^9/\text{л}$ і $0,15 \pm 0,025$ % відповідно. Як один із проявів опікової хвороби у цій групі спостерігалось виділення гнійного ексудату з рани в значних кількостях. Разом з ексудатом при цьому втрачались білки, вода, електроліти, що ще більше поглиблювало патологічний процес. Електронно-мікроскопічно загальна площа клітин, площа ядер та цитоплазми достовірно зменшилась проти норми та попереднього терміну спостереження, що призвело до зростання ядерно-цитоплазматичного співвідношення на 80,3 % проти норми та на 51,9 % проти попереднього терміну спостереження. В нейтрофільних гранулоцитах наявні збільшені сегменти ядер, в більшості з них розширені перинуклеарні простори, в каріоплазмі переважає гетерохроматин.

На 21 добу ми отримали при підрахунку наступні дані: лейкоцитоз змінився на глибоку лейкопенію $4-6 \cdot 10^9/\text{л}$, що потягнуло за собою приєднання вторинної інфекції та загибель частини тварин. На 21 добу після опіку в ультраструктурі лейкоцитів крові піддослідних тварин спостерігаються найбільш виражені зміни. Останні стосуються, насамперед, мембранних компонентів гіпертрофованих, без крист, із світлим вакуолізованим матриксом мітохондрій. Одночасно в просвітленій цитоплазмі таких лімфоцитів виявляються розширені каналці ендоплазматичної сітки, збільшується кількість мікроевезикул і світлих вакуолей, зростає в об'ємі диктіосоми комплексу Гольджі і порівняно мало рибосом і полісом. Електронно-мікроскопічно із зміною величини клітин, вони стають крупнішими за рахунок суттєвого зростання площі ядра і цитоплазми порівняно із клітинами попереднього терміну спостереження, однак, залишаючись меншими за розмірами проти лімфоцитів при нормі та 3-4 доби після термічної травми. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення лімфоцитів мало лише тенденцію до зниження проти попереднього терміну спостереження, але залишалось суттєво високим порівняно з нормою та на 7 добу після термічної травми.

Тоді як у тварин, яким разом із ранньою некретомією проводилась ксенопластика протягом усього періоду спостереження (7, 14, 21 доба), мав місце незначний лейкоцитоз $11-13 \cdot 10^9/\text{л}$ із помірним зсувом лейкоцитарної формули вліво, кількість паличкоядерних нейтрофілів зростає до $0,10 \pm 0,025$ %, що свідчило про адекватні компенсаторно-приспосовувальні властивості білої крові. Ультрамікроскопічні дослідження нейтрофільних гранулоцитів показали, що при використанні ліофілізованих ксенодермотрансплантатів значно наростає внутрішньоклітинна грануляція, особливо за рахунок первинної зернистості. На 14 день спостерігається подальша стабілізація мембранних компонентів органел. Мають місце добре виражені ознаки внутрішньоклітинної репарації в цитоплазмі нейтрофільних гранулоцитів. Субмікроскопічно – менш виражені зміни якісного і кількісного характеру в органелах, їх деструкція була незначною порівняно із контрольною групою, ядерно цитоплазматичне співвідношення наблизилось до показників інтактних тварин.

Результати субмікроскопічних досліджень показали, що термічна травма викликає значні деструктивно-дегенеративні зміни структурних компонентів лейкоцитів периферійної крові. Застосування ліофілізованої ксеноскіри для закриття опікової рани після проведення ранньої некретомії приводить до активації пристосовувальних і компенсаційних процесів, за рахунок зменшення поступлення токсичних продуктів з опікової рани, активного виділення внутрішніх продуктів розпаду з клітин.

ВИСНОВКИ Отримані результати мікроскопічних досліджень дозволяють рекомендувати застосування ліофілізованих ксенодермотрансплантатів в комплексному лікуванні обпечених хворих і проведення подальших морфофункціональних досліджень у клініці.

Отже, проведені нами мікроскопічні дослідження периферійної крові експериментальних тварин свідчать про позитивний вплив ксенопластики із ранньою некректомією на перебіг опікової хвороби

ЛІТЕРАТУРА

1. Парамонов Б.А., Порембский Я.О., Яблонский В.Г. Ожоги: Руководство для врачей - Саб.: Спец. Лит, 2000. – 480 с.
2. Бігуняк В.В., Лучанко П.І. Досвід застосування ліофілізованих абактеріальних ксенодермотрансплантатів // Ліофілізовані абактеріальні ксенотрансплантати свиней шкіри в хірургії. – М. – 1995. С. 15-16.
3. Козинец Г.П., Слісаренко С.В., Радзіховський А.П., Повстяний Н.Е., Шейман Б.С. Ожогова інтоксикація. Патогенез, клініка, принципи лікування. – К.: Фенікс. – 2004. – 272 с.
4. Саркисов Д.С., Петрова Ю.Л. Мікроскопічна техніка. - М.: Медицина, 1996. – 544 с.: іл.
5. Западнюк І.П., Западнюк І.В., Захарія Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторні тварини. – К.: Вища школа. – 1983. С. 223-243.

**Шашкова О.Н., Изатулин В.Г., Воймова Ю.С., Изатулин А.В., Провадо А.И.
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ОРГАНАХ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ
ПРЕМОРБИДНЫМ И ТОКСИЧЕСКИМ СТРЕССОМ ПРИ ОТРАВЛЕНИЯХ ПРИЖИГАЮЩИМИ ЯДАМИ
И СУРРОГАТОМ АЛКОГОЛЯ – ЭТИЛЕНГЛИКОЛЕМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И КЛИНИЧЕСКОМ
ИССЛЕДОВАНИИ**

Иркутский государственный медицинский университет, Россия

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ПАРЕНХИМАТОЗНИХ ОРГАНАХ, ОБУМОВЛЕНІ ПРЕМОРБИДНИМ І ТОКСИЧНИМ СТРЕССОМ ПРИ ОТРУЄННІ ПРИПІКАЮЧОЮ ОТРУЮЮ І СУРОГАТОМ АЛКОГОЛЮ-ЕТИЛЕНГЛІКОЛЕМ В ЕКСПЕРИМЕНТІ І КЛІНІЧНОМУ ДОСЛІДЖЕННІ – Клінічна картина і наслідок гострих отруєнь залежать не тільки від характеру токсиканта, але і вираження стресіндукованої альтерації життєво важливих органів. Робота виконана на експериментальному матеріалі з використанням морфологічних і фізіологічних методик. Дослідження показало, що преморбідний стан організму є одним із основних факторів, які визначають розвиток отруєння. Якщо суїцидальній спробі передують тривалі психоемоційний стрес, то цей тип отруєння реалізується в стадію виснаження струс-реакції, коли компенсаторні механізми вже не здатні адекватно протидіяти впливу токсиканта. Дистрес викликає гострі дистрофічні зміни у печінці, нирках та інших органах, сприяючи розвитку швидких незворотних уражень паренхіматозних клітин при екзогенній інтоксикації, викликаних прийманням сублетальних доз токсичних речовин. Приймання токсичної речовини викликає підвищення рівня простресорних гормонів з розвитком токсичного стресу який має, як правило, затяжний перебіг. Токсичний стрес супроводжується вторинною альтерацією органів і тканин, поглиблюючи перебіг патологічного процесу. Зниження рівня стресорної дії дозволить значно знизити вторинну стресіндуковану альтерацію. Це зменшує ступінь ушкодження внутрішніх органів і тканин, вплине на терміни видужання, а також на наслідок отруєння в цілому. Результати проведеного дослідження можуть служити теоретичним обґрунтуванням для перегляду традиційної терапії гострих екзогенних отруєнь і застосування у комплексному лікуванні цієї патології стреслімітуючих препаратів.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ОРГАНАХ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ПРЕМОРБИДНЫМ И ТОКСИЧЕСКИМ СТРЕССОМ ПРИ ОТРАВЛЕНИЯХ ПРИЖИГАЮЩИМИ ЯДАМИ И СУРРОГАТОМ АЛКОГОЛЯ – ЭТИЛЕНГЛИКОЛЕМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И КЛИНИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ – Клиническая картина и сход острых отравлений зависят не только от характера токсиканта, но и выраженности стресс индуцированной альтерации жизненно важных органов. Работа выполнена на экспериментальном и клиническом материале с использованием морфологических и физиологических методик. Исследование показало, что преморбидное состояние организма является одним из основных факторов, определяющих развитие отравления. Если суицидальной попытке предшествует продолжительный психоэмоциональный стресс, то этот тип отравления реализуется в стадию истощения стресс-реакции, когда компенсаторные механизмы уже не способны адекватно противостоять действию токсиканта. Дистресс вызывает острые дистрофические изменения в печени, почках и других органах, способствуя развитию быстрых необратимых поражений паренхиматозных клеток при экзогенных интоксикациях, вызванных приемом сублетальных доз токсического вещества. Прием токсического вещества вызывает повышение уровня прострессорных гормонов с развитием токсического стресса, носящего, как правило, затяжной характер. Токсический стресс сопровождается вторичной альтерацией органов и тканей, углубляя течение патологического процесса. Снижение уровня стрессорного воздействия позволит значительно снизить вторичную стрессинду-

цированную альтерацию. Это уменьшит степень повреждения внутренних органов и тканей, повлияет на сроки выздоровления, а также, на исход отравления в целом. Результаты проведенного исследования могут служить теоретическим обоснованием для пересмотра традиционной терапии острых экзогенных отравлений и применении в комплексном лечении этой патологии стресс-лимитирующих препаратов.

STRUCTURAL CHANGES OF PARENCHYMATOUS ORGANS CAUSED BY THE PREMORBID AND TOXIC STRESS IN CASES CAUTERANTS AND SUBSTITUTE FOR ALCOHOL – ETHYLENE GLYCOL POISONING WITHIN THE EXPERIMENTAL AND CLINICAL INVESTIGATION – The clinical picture and acute poisoning outcome depend not only on the toxin nature but also on the intensity of stress-induced alteration of vitally important organs. The research work is based on experimental and clinical material with application of morphological and physiological techniques. During investigation it was revealed that premorbid organism status is one of the factors determining the poisoning development. If the long psycho-emotional stress is followed by the suicidal attempt this type of poisoning leads to the stage of stress reaction exhaustion when the compensatory mechanisms aren't able to resist adequately to the toxin action. Distress causes the acute dystrophic changes within liver, kidneys and other organs contributing to the development of quick irreversible damage of parenchymatous cells under exogenous intoxication provoked by taking up sublethal doses of the toxic substance. Taking up the toxic substance causes the increasing of prostress hormone level with the development of toxic stress that is protracted, as a rule. The toxic stress is accompanied by organs and tissues alteration that complicates the course of pathological process. The stress influence decline will permit the decreasing of the secondary stress induced alteration. It will reduce the internal injury and tissue damage, influence to the date of recovery and the poisoning outcome. The results of carried investigation can be used as a theoretical base for the traditional therapy of exogenous poisoning reviewing and for application of stress limited medicines within the complex treatment of this kind of pathology.

Ключові слова: отруєння, стрес, паренхіматозні органи, токсичний стрес.

Ключевые слова: отравления, стресс, паренхиматозные органы, токсический стресс.

Key words: poisoning, stress, parenchymatous organs, toxic stress.

Актуальность Острые отравления химической этиологии представляют проблему мирового масштаба. Развитие химической промышленности и создание значительных запасов химических веществ, широкое использование в быту продуктов бытовой химии, лекарственных препаратов, нередкие техногенные катастрофы с выбросом высокотоксичных соединений, возрастающая угроза террористических актов с применением химических реагентов привело к тому, что острые химические отравления вошли в число актуальных медико-социальных проблем, курируемых международными программами ВОЗ (1,6,10).

По данным различных токсикологических центров России в последние годы отмечаются изменения структуры острых отравлений. Возрастает доля отравлений лекарственными препаратами, на второе-третье место выходят отравления наркотическими веществами, сохраняют лидирующее положение алкоголь и его суррогаты, незначительно снижается число отравлений прижигающими ядами и заметно – отравления ядохимикатами и промышленными ядами (6).

Наибольшее число отравлений химической этиологии совершается с целью суицида (3,8,12,13). В связи с этим, восстребованными остаются экспериментальные исследования по воздействию химических веществ на организм с учетом преморбидного психоэмоционального стресса, имеющего самостоятельное значение в развитии патологического процесса (11,12).

Учитывая то обстоятельство, что предшествующий отравлению стресс, может значительно изменить резистентность организма и оказать существенное влияние на клиническую картину отравления (2,4,5,7,9), нами проведено экспериментально-клиническое исследование, с целью изучить морфологические изменения в некоторых паренхиматозных органах в преморбидный период и при острых отравлениях прижигающими ядами и этиленгликолем.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ Для выполнения исследования на экспериментальных животных моделировали различные типы стресса – адекватные реальным условиям отравления. Эксперимент выполнен на 50 крысах-самцах, массой 140-160 граммов, поделенных на 3 группы. 1 группа – 10 животных – контрольная (случайные отравления); 2 группа – животные с кратковременным 1-часовым психоэмоциональным стрессом (состояние аффекта) – 20 животных; 3 группа – продолжительный 7-суточный психоэмоциональный стресс (дистресс) – 20 животных.

Психоэмоциональный стресс моделировали иммобилизацией животных на спине с последующим выводом из эксперимента острым способом (одномоментная декапитация) с последующим забором материала (почки, печень, легкое, селезенка, надпочечник, поджелудочная и щитовидная железы). Кусочки органов фиксировали в 10 % формалине с последующей проводкой через спирты и заливкой в парафин. Для морфологического исследования микропрепараты окрашивали гематоксилин-эозином и по методу Ван-Гизон. Содержание аскорбиновой кислоты в надпочечниках выявляли по методу Бакхуса с последующим гистометрическим определением ее концентрации.

Клинический материал изучен по историям болезни 270 больных, с отравлением прижигающими ядами и 128 – с отравлением этиленгликолем. Секционный материал – 46 случаев отравлений прижигающими ядами и 82 – этиленгликолем. Кусочки органов фиксировали в 10 % формалине. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилин-эозином, по методу Маллори-Слиенченко, Ван-Гизон, Суданом –III-IV, с последующим морфологическим исследованием с применением микроскопической техники.

Для оценки интенсивности и продолжительности стрессорного воздействия определяли концентрацию кортикостерона, адреналина, пролактина, малонового альдегида (МДА), исследовали динамику содержания эозинофилов в крови. Уровень гормонов в крови определяли радиоиммунным способом, а концентрацию МДА по методу И.Д.Стальной и Т.Г.Гаришвили.

Затравку животных проводили через желудочный зонд 10 % раствором едкого натра и тормозной жидкостью в дозах мг/кг веса животных.

В контрольную группу клинических исследований вошли 10 человек для определения исходного уровня гормонов и 10 человек, причиной смерти которых являлась механическая асфиксия, для изучения морфологических изменений в исследуемых органах. Возраст людей 1 и 2 контрольных групп составил 19,4 года.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ Нами выявлено, что преморбидное состояние, предшествующее отравлению сопровождается повышением уровня глюкозы и прострессорных гормонов, изменением количества эозинофилов в периферической крови, увеличением содержания МДА, снижением показателей адреналина.

При морфологическом исследовании органов человека наблюдаются неравномерное кровенаполнение сосудов в печени и почках, полнокровие капилляров и вен, носящих чаще очаговый характер, наблюдается набухание стенок сосудов. Нефроциты канальцев почки и гепатоциты с зернистой цитоплазмой от 5 до 15 % объемной доли. В селезенке также выявлено полнокровие пульпы, обеднение ее клеточного состава, в 5,3 % случаев фолликулы без реактивных центров. В надпочечниках – неравномерное кровенаполнение сосудов, немногочисленные небольшие очажки делипоидизации клеток коры. В легких – неравномерное кровенаполнение и с преимущественным, до 76,3 % полнокровием капилляров и вен; очажки интраальвеолярных кровоизлияний. В отечных альвеолах в 26 % наблюдений видны слущенные пневмоциты и альвеолярные макрофаги. Соединительная ткань стромы разрыхлена, коллагеновые волокна набухшие, аргирофильные волокна слабо импрегнируются серебром. Такие же аргирофильные волокна выявляются в сосудах мелкого и среднего калибра.

Экспериментальные данные морфологических исследований печени, почки, легких, селезенки, надпочечника подтверждают стрессорные поражения этих органов, а степень выраженности повреждений напрямую зависит от длительности стрессорного воздействия.

При морфологическом исследовании органов людей, погибших в результате приема токсического вещества с суицидальной целью, выявлена прямая зависимость степени повреждения паренхиматозных органов от длительности психоэмоционального стресса, предшествующего отравлению. Это доказывается более ранним и выраженным повреждением паренхимы органов при меньшей дозе отравляющего вещества.

В 32 случаях (69,57 %) отравлений уксусной кислотой, погибшие находились в состоянии стресса более 15 дней (по данным историй болезни и посмертным запискам исследуемых), в остальных случаях – от 1 до 5 суток. Из 82 больных, умерших от отравления этиленгликолем, только 7,3 % приняли яд с целью отравления. Все лица находились в состоянии длительного психоэмоционального стресса (более 1 месяца), а летальная доза этиленгликоля в этой группе составила 38,7 мл.

Установлено, что в печени больных, погибших от отравления прижигающими ядами, наблюдается неравномерное расширение портальных трактов, лейкоцитарная инфильтрация по ходу сосудов. По периферии долек десквамация эндотелия сосудов. Гепатоциты без четких контуров, множественные очаги мелко и крупнокапельного ожирения. По периферии дольки обширные участки некрозов от 24 до 57 объемной доли процента. Снижено количество двуядерных гепатоцитов.

В почках выявлено неравномерное кровенаполнение сосудов стромы, выраженное полнокровие сосудов мозгового вещества, слабое кровенаполнение капилляров клубочков. В просветах капсул (63,2 %) почечных телец слабозернистые эозинофильные массы. Нефротелий извитых канальцев со слабозернистой просветленной цитоплазмой, в просветах прямых канальцев слабозернистые эозинофильные массы. Дистрофия нефротелия канальцев составила в среднем 16,4 %.

В легких – полнокровие сосудов, неравномерно выраженный внутрисосудистый лейкоцитоз. В просветах расширенных бронхов пласты слущенного эпителия (38 %). Альвеолы (42,6 %) заполнены гомогенным эозинофильным содержимым, в 12,3 % наблюдаются пристеночные скоп-

ления лейкоцитов. Выраженная макрофагальная инфильтрация стромы, 87,9 % из них с гемосидерином. Очаги диствектаза выявлены в 18,6 процентах, вздутие групп альвеол в 34,18 %.

Морфологическое исследование печени людей, погибших в результате отравления этиленгликолем, показало, что уже в ранние сроки отравления отмечается резкое полнокровие периферии долек. Печеночные триады сохранены, отек эндотелиальных клеток незначительный. Отмечается гидропическая дистрофия гепатоцитов центра долек с развитием в более поздние сроки (2-4 сутки с момента отравления) централобулярных некрозов (34,6 – 67,4 % объемной доли). Выявлены скопления лейкоцитов в капиллярах и местах некроза, расширение пространств Диссе с наличием в них зернистой белковой массы. В цитоплазме печеночных клеток при окраске Суданом III-IV наблюдается наличие жировых включений. В печеночных макрофагах и клетках эндотелия печеночных синусов включения не выявлены.

В почках патологоанатомические сдвиги в период мозговых расстройств, схожи во многом, с изменениями при смерти от асфиксии. В эпителии извитых канальцев отмечается выраженная зернистая дистрофия с разряжением цитоплазмы. Разряженные участки, как правило, увеличены, принимают вид вакуолей. В просветах канальцев изредка видны кристаллы щавелевокислого натрия. Сосудистая сеть почечных клубочков неравномерного кровенаполнения, базальные мембраны капилляров незначительно утолщены, эндотелий отечный. В период олигоурии и анурии в 53 % случаев отмечаются симметричные кортикальные некрозы, диаметр пораженных участков составляет от 0,5-3 см (сегментарный некроз); обширные поля некроза порой охватывают большую часть почки (субтотальный некроз). При гистологическом исследовании очагов кортикальных некрозов отмечаются изменения аналогичные геморрагическим инфарктам. Как правило, зона ишемического некроза окружена геморрагической зоной, на их границе формируется лейкоцитарный вал различной степени выраженности. В подкапсулярной зоне лейкоцитарная инфильтрация более выраженная. В случаях отсутствия геморрагической зоны, лейкоцитарный вал формируется на границе зоны некроза и сохранившейся паренхимы почки.

В легких – полнокровие сосудов, очаги отека, гемморгий. Соединительная ткань стромы разрыхлена с большим количеством макрофагов, цитоплазма которых заполнена гемосидерином. Наблюдается «коллагенизация» аргирофильных волокон.

Проведенные нами исследования показали, что предшествующий отравлению стресс значительно снижает резистентность организма, вызывает индуцированные стрессом поражения паренхиматозных органов различных систем. Степень выраженности поражения зависит от интенсивности и продолжительности стрессорного воздействия, что подтверждается изменением уровня гормонов, МДА в плазме крови, количестве эозинофилов в периферической крови. Поражение паренхиматозных органов составляет в среднем 5-8 %.

При отравлении токсическим веществом на фоне продолжительного стрессорного воздействия уже в первые сутки после отравления развиваются грубые нарушения органного кровотока, повышение проницаемости сосудистых стенок, острые дистрофические изменения клеток паренхимы и быстрым развитием некрозов даже при дозах токсического вещества не являющихся летальными. Эти морфологические изменения при отравлении не сочетаются с изменениями показателей крови, отражающих функции печени и почек.

ВЫВОДЫ На основании полученных результатов можно заключить:

- преморбидное состояние организма является одним из основных факторов, определяющих развитие отравления;
- если суицидальной попытке предшествует продолжительный психоэмоциональный стресс, то этот тип отравления реализуется в стадию истощения стресс-реакции, когда компенсаторные механизмы уже не способны адекватно противостоять действию токсиканта;
- дистресс вызывает острые дистрофические изменения в печени, почках и других органах, способствуя развитию быстрых необратимых поражений паренхиматозных клеток при экзогенных интоксикациях, вызванных приемом сублетальных доз токсического вещества;
- прием токсического вещества вызывает повышение уровня стрессорных гормонов с развитием токсического стресса, носящего, как правило, затяжной характер. Токсический стресс сопровождается вторичной альтерацией органов и тканей, усугубляя течение патологического процесса;
- снижение уровня стрессорного воздействия позволит значительно снизить вторичную стресс-индуцированную альтерацию. Это уменьшит степень повреждения внутренних органов и тканей, повлияет на сроки выздоровления, а также, на исход отравления в целом;
- результаты проведенного исследования могут служить теоретическим обоснованием для пересмотра традиционной терапии острых экзогенных отравлений и применении в комплексном лечении этой патологии стресслимитирующих препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аналитический обзор ГЦОО и некоторые перспективы развития токсикологической службы Екатеринбурга / С.А. Акулов // Актуальные проблемы клинической токсикологии: Сб. мат. городского науч.-практ. конф. – М., 1997. – Т.106. – С. 53.
2. Барабой В.А. Перекисное окисление липидов / В.А.Барабой, И.И.Брежман, И.В.Кудряшов – С.Пб.: Наука, 1992. – 149 с.
3. Голиков С.Н. Общие механизмы токсического действия / С.Н.Голиков, И.В.Саночкин, Л.А.Тиунов – Л.: Медицина, 1986. – 280 с.
4. Даровский Б.П. Кортикальные некрозы почек при отравлении этиленгликолем // Врачебное дело. – 1969. – №2. – С.62-66.
5. Зимица Л.Н. Морфологические изменения печени и почек при отравлении этиленгликолем // Архив патологии. – 1977. – №2. – С.51-58.
6. Зобнин Ю.В. Развивать токсикологическую службу. Итоги Российской научно-практической конференции // Сибирский медицинский журнал. – Т.38 - №3. – 2003. – С.101-104.
7. Изатулин В.Г. Особенности течения острых экзогенных отравлений на фоне эмоционального стресса / В.Г.Изатулин, О.Н.Шашкова, Ю.С.-Воймова, А.И.Провато, А.В.Изатулин // Морфологические ведомости – 2004. – №1-2. – С.42.
8. Лужников Е.А. Неотложные состояния при острых отравлениях (диагностика, клиника, лечение) / Е.А.Лужников, Ю.Н.Остапенко, Г.Н.Суходолова. – М.: Медпрактика – 2001. – 220 с.
9. Шашкова О.Н. Некоторые патогенетические аспекты интенсивной терапии отравлений этиленгликолем и его производными / О.Н. Шашкова, В.Г.Изатулин // Актуальные вопросы интенсивной терапии – 2001. – №8-9. – С.41-44.
10. Iliev Y.T. Psychopathology and psychosocial causes in adult deliberate self-poisoning in Plovdiv region, Bulgaria / Y.T. Iliev, I.N. Mitrev, S.G. Andonova // Folia Med. (Plovdiv). – 2000. – Vol. 42, № 3. – P. 30-33.
11. Oquendo M.A. Association of comorbid posttraumatic stress disorder and major depression with greater risk for suicidal behavior / M.A. Oquendo, J.M. Friend, B. Halberstam, B.S. Brodsky, A.K. Burke, M.F. Grunebaum, K.M. Malone, J.J. Mann // Am. J. Psychiatry. – 2003. – Vol. 160, № 3. – P. 580-582.
12. Praag N.M. Stress and suicide are we well-equipped to study this issue / N. M. Praag // Crisis. – 2004. – Vol. 25, № 2. – P. 80-85.
13. Smith M.T. Suicidal ideation in outpatients with chronic musculoskeletal pain: an exploratory study of the role of sleep onset insomnia and pain intensity / M.T. Smith, M.L. Perlis, J.A. Haythornthwaite // Clin. J. Pain. – 2004. – Vol. 20. № 2. – P. 111-118.

Пермякова И.С.

ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННОЙ ОРАЛЬНОЙ КОНТРАЦЕПЦИИ НА ПРИМЕРЕ ПРЕПАРАТА «РЕГУЛОН» НА СИСТЕМУ АДГЕЗИВНОЙ АКТИВНОСТИ В СИСТЕМЕ «CANDIDA ALBICANS – ВАГИНАЛЬНЫЕ ЭПИТЕЛИОЦИТЫ»

Челябинская государственная медицинская академия

ВПЛИВ КОМБІНОВАНОЇ ОРАЛЬНОЇ КОНТРАЦЕПЦІЇ НА ПРИКЛАДІ ПРЕПАРАТУ «РЕГУЛОН» НА СИСТЕМУ АДГЕЗИВНОЇ АКТИВНОСТІ В СИСТЕМІ «CANDIDA ALBICANS – ВАГІНАЛЬНІ ЕПІТЕЛІОЦИТИ» – В статті представлено аналіз літератури та дослідження впливу прогестерон-естроген-індукованих механізмів адгезивної активності *Candida albicans* на вагінальні клітини жінок репродуктивного віку. У зв'язку із зростанням ролі *Candida albicans* як збудника поверхневих та системних кандидозів, фактори ризику вимагають детального вивчення. Досліджено рівень адгезивної активності *Candida albicans* із вагінальними клітинами жінок віком 18-45 років, які приймали 1 таблетку препарату «Регулон» протягом 7 місяців порівняно із групою жінок, які не приймали вищезазначений препарат. Одночасно досліджували білих різнолінійних щурів-самок (№ 50, середня маса тіла = 250-300г), яких годували 1 таблеткою препарату «Регулон» протягом 21 дня порівняно із аналогічною групою щурів, які не вживали регулон. Показники адгезивної активності у системі «*Candida albicans* – вагінальні клітини» у групі жінок, які не приймали контрацептивний препарат «Регулон» (1,48±1,4), суттєво не відрізнялися від показників у групі жінок, які приймали 1 таблетку цього препарату (1,89±1,8). Показники адгезії у системі «*Candida albicans* – вагінальні клітини» у групі білих щурів, які не приймали препарат «Регулон», складала (1,93±1,9) порівняно з щурами, які приймали 1 таблетку препарату (3,35±3,3).

ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННОЙ ОРАЛЬНОЙ КОНТРАЦЕПЦИИ НА ПРИМЕРЕ ПРЕПАРАТА «РЕГУЛОН» НА СИСТЕМУ АДГЕЗИВНОЙ АКТИВНОСТИ В СИСТЕМЕ «CANDIDA ALBICANS – ВАГИНАЛЬНЫЕ ЭПИТЕЛИОЦИТЫ» – В статье представлен анализ литературы и исследования влияния прогестерон-эстроген-индуцированных механизмов адгезивной активности *Candida albicans* на вагинальные клетки женщин репродуктивного возраста. В связи с возрастанием роли *Candida albicans* как возбудителя поверхностных и системных кандидозов, факторы риска требуют подробного изучения. Исследовано уровень адгезивной активности *Candida albicans* с вагинальными клетками женщин в возрасте 18-45 лет, которые принимали 1 таблетку препарата «Регулон» на протяжении 7 месяцев в сравнении с группой женщин, которые не принимали вышеуказанный препарат. Одновременно исследовали белых разнолинейных крыс-самок (№ 50, средняя масса тела = 250-300г), которых кормили 1 таблеткой препарата «Регулон» на протяжении 21 дня по сравнению с аналогичной группой крыс, которые не принимали регулон. Показатели адгезивной активности в системе «*Candida albicans* – вагинальные клетки» в группе женщин, которые не принимали контрацептивный препарат «Регулон» (1,48±1,4), существенно не отличались от показателей в группе женщин, которые принимали 1 таблетку этого препарата (1,89±1,8). Показатели адгезии в системе «*Candida albicans* – вагинальные клетки» в группе белых крыс, которые не принимали препарат «Регулон», составляли (1,93±1,9) по сравнению с крысами, которые принимали 1 таблетку препарата (3,35±3,3).

EFFECT OF COMBINED ORAL CONTRACEPTION ON EXAMPLE OF DRUG «REGULON» UPON SYSTEM OF ADHESIVE ACTIVITY IN THE SYSTEM «CANDIDA ALBICANS – VAGINAL EPITHELIOCYTES» – The article presents a literature review and the results of investigation on the impact of progesterones-estrogen-inducible mechanisms of adhesive activity *Candida albicans* on the cells of reproductive tract in women. With *Candida albicans* increasingly being recognized as a problem pathogen in superficial and systemic candidosis, host risk factors need additional study, as do important virulence factors. We have observed the level of adhesive activity *Candida albicans* with vaginal cells from women aged from 18 to 45, who used 1 tablet of drug «Regulon» during 7 months compared with the group of women who did not use this drug. Simultaneously, we investigated adult white rats of different lines (N=50, average body weight=250-300g), who used the 1 tablet of drug «Regulon» during 21 days when compared to the similar group of rats, who did not use the drug «Regulon». There were no significant differences between level of adhesive activity in the system of «*Candida albicans*-vaginal cells» in the group of women, who did not use a contraceptive drug «Regulon» (1,48±1,4), compared with the group of women, who use 1 tablet drug of «Regulon» (1,89±1,8). The level of adhesive activity in the system of «*Candida albicans* – vaginal cells» in the group of white rats, who did not use the drug «Regulon» was (1,93±1,9), compared to the rats, who used 1 tablet drug «Regulon» was (3,35±3,3).

Ключові слова: кандидоз, гормони, бактеріальний вагіноз, адгезія, цервіцит, вагінізм.

Ключевые слова: кандидоз, гормоны, бактериальный вагиноз, адгезия, цервицит, вагинизм.

Key words: candidosis, hormones, bacterial vaginosis, adhesion, cervicitis, vaginism.

АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ Вульвовагинальный кандидоз остается одной из важнейших и наиболее распространенных проблем гинекологии, дерматовенерологии, микологии. Заболеваемость вагинальным кандидозом за последние двадцать лет резко возросла, стоит на втором месте после бактериального вагиноза среди всех инфекций влагалища. В настоящее время чаще приходится сталкиваться со случаями подострого и хронического рецидивирующего вульвовагинального кандидоза, необоснованными подходами к диагностике и лечению вульвовагинального кандидоза, отмечается тенденция к увеличению числа устойчивых к антимикотикам штаммов.

Распространенность вагинального кандидоза неодинакова в разных возрастных группах. До наступления менархе заболевание встречается крайне редко. У двадцатилетних наблюдается значительный рост распространенности, но пик ее приходится на следующие двадцать лет. К двадцати пяти годам более чем половине женщин хотя бы один раз ставится диагноз вагинального кандидоза. После менопаузы вагинальный кандидоз встречается реже в целом, но чаще у женщин, принимающих препараты эстрогенов.

Основными факторами риска по вагинальному кандидозу считаются беременность, использование средств контрацепции, лечение антибактериальными препаратами.

Одним из наиболее значимых факторов, предрасполагающих к вагинальному кандидозу, является контрацепция. Несмотря на то, что более высокая заболеваемость ассоциируется с использованием разных средств контрацепции, в числе факторов риска выделяются, прежде всего, пероральные гормональные контрацептивы, а из них – препараты первого поколения с высоким содержанием эстрогенов. Спермициды, в частности моноксинол, используемые в сочетании с диафрагмой, также считаются фактором риска, но больше из-за возможности вертикальной передачи инфекции.

Известно, что выход кандид за пределы очага первичной колонизации сопровождается выраженным воспалительным процессом, в развитии которого активно вовлечены фагоциты (Сергеев А.Ю.; Сергеев Ю.; 2001). При этом, одним из главных эффекторов воспалительной реакции служат нейтрофилы, действующие в системе опсонической кооперации с антителами и комплементом (Challacombe S.J., 1994). Несмотря на многочисленные исследования роли местного иммунитета и воспалительной реакции в антимикробной защите, механизмы действия клеточных и гуморальных компонентов мукозального иммунитета на адгезию *Candida albicans* изучены недостаточно.

В связи с вышеизложенным, модель искусственной колонизации на примере *Candida albicans*, как одного из представителей микроорганизмов, на эпителии слизистой влагалища крыс-самок, получающих комбинированный препарат «Регулон», является простым и удобным способом оценки адгезивного потенциала данных микроорганизмов; позволяет оценить воздействие пероральных гормональных контрацептивов на примере эстроген-прогестагенового таблетированного препарата «Регулон» на факторы мукозального иммунитета репродуктивного тракта в системе «Макроорганизм-микроорганизм».

Актуальность выбранной проблемы связана с интересом количественной оценки степени адгезивной способно-

сти *Candida albicans* как наиболее частого возбудителя вагинального кандидоза у женщин репродуктивного возраста при приеме наиболее широко используемого и доступного контрацептивного препарата «Регулон». А выявление корреляции между состоянием антимикробной резистентности репродуктивного тракта женщин и состоянием гормонального гомеостаза не только расширит представления об иммунопатогенезе воспалительных заболеваний гениталий, но и откроет перспективы к совершенствованию диагностики и повышению эффективности лечения многих гинекологических заболеваний.

ЦЕЛИ ИССЛЕДОВАНИЯ Целью настоящего исследования является определение влияния гормонов на адгезию одного из возбудителей генитальной инфекции в системе «Микроорганизмы – эпителиоциты влагалища».

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Отработать стандартную тест-систему для изучения механизмов адгезии кандид на эпителии.

2. Сравнить адгезивную активность *Candida albicans* в реакциях с эпителиоцитами слизистой влагалища у здоровых женщин, не применяющих гормональную контрацепцию, и женщин, применяющих пероральный гормональный контрацептив «Регулон»; у здоровых крыс-самок, не получающих гормональных препаратов, и у крыс-самок, получающих препарат «Регулон» по 1 таблетке, согласно схеме.

3. Изучить влияние гормонов на примере препарата «Регулон» на участие нейтрофилов вагинальной слизи, как эффекторного звена в формировании ответной защитной реакции на воздействие таких микроорганизмов как *Candida albicans*.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В работе использовали штамм *Candida albicans*, выделенный на кафедре микробиологии Челябинской государственной медицинской академии, НИИ гигиены и профпатологии МЗ РФ *Candida albicans* 601. Исследованы 100 препаратов вагинального эпителия и нейтрофилы вагинального секрета 80 доноров.

Культуру *Candida albicans* получали во всех экспериментах в дрожжевой фазе на агаре Сабуро (24 часа, 37 °C). Посевы смывали, отмывали десятикратным объемом забуференного физиологического раствора (ЗФР), удаляли клеточные агрегаты центрифугированием (40 г 2 минуты) и ресуспендированием, в зависимости от эксперимента, в ЗФР в концентрации 10^7 - 10^9 клеток/мл. Концентрацию кандид определяли методом спектрофотометр при длине волны – 540nm.

Получение вагинальных эпителиоцитов осуществляли от здоровых небеременных женщин 18-45 лет, находящихся в первой фазе менструального цикла, из заднебокового свода влагалища, дважды отмывали ЗФР (40 г 5 мин) и готовили взвесь с концентрацией 10^6 кл/мл.

Получение вагинальных эпителиоцитов у белых разнолинейных небеременных крыс-самок репродуктивного возраста осуществляли в зимний период, натошак, в первую фазу эстрального цикла, предварительно умерщвляя с мидикаментозной анестезией, дважды отмывали ЗФР (40 г 5 мин) и готовили взвесь с концентрацией 10^6 кл/мл.

Оценку адгезии в системе «*Candida albicans* – вагинальные эпителиоциты» проводили следующим образом: равные объемы (по 0,5 мл) взвеси эпителиоцитов и кандидат инкубировали в течение 30 мин при 37°C в растворе Хэнкса без фенолового красного, встряхивая каждые 5 мин. Эпителиоциты трехкратно отмывали ЗФР от неприкрепившихся кандид (40 г 5 мин). Из осадка клеток готовили мазок, который после фиксации этанол-эфирной смесью окрашивали 0,25 % раствором генцианвиолета. Определяли индекс адгезии, т.е. среднее количество кандид в пересчете на 1 эпителиоцит (учитывали 100 клеток).

Влияние гормонального эстроген-прогестагенового препарата «Регулон» оценивали у женщин 18-45 лет, принимавших 1 таблетку (0,03 мг этинилэстрадиола и 0,15 мг дезогестрела) 21 день по схеме в течение не менее 7 месяцев.

Группу крыс-самок кормили целой таблеткой «Регулон» (0,03 мг этинилэстрадиола и 0,15 мг дезогестрела) в течение 21 дня утром в зимнее время года. Содержали в одинаковых условиях, соблюдая одинаковый пищевой режим. Через 21 день производили сбор вагинальных эпителиоцитов с помощью ложки Фолькмана, дважды отмывали ЗФР и готовили взвесь с концентрацией 10^6 кл/мл. Оценку адгезии проводили аналогичным образом, что и в системе «*Candida albicans* – вагинальные эпителиоциты» у женщин.

Данные, обработанные методами вариационной статистики, выражали в виде средней арифметической и её стандартной ошибки ($M \pm m$). Достоверность различий оценивали при помощи непараметрических критериев Вилкоксона, Ван дер Вардена. При проведении множественных сравнений вводили поправку Бонферрони. Результаты исследования обрабатывались на ПВМ с использованием пакета прикладных программ «Statistika 6.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нашей первой задачей было исследование вопроса о режиме, в котором следует изучать адгезивные реакции в системе «*Candida albicans* – вагинальные эпителиоциты». Проведенные исследования позволили ограничить масштаб различий между несколькими штаммами *Candida albicans* в адгезивных отношениях с вагинальными эпителиоцитами женщин и белых нелинейных крыс, как животной модели. Он был достаточно велик для музейных культур (6,1- 30 кандидат на 1 эпителиальную клетку) и в меньшей степени для штамма, только что выделенного из разных источников. Был выделен штамм (*Candida albicans* 601) для проведения дальнейших исследований, который отличался средними ($14,9 \pm 1,3$), но наиболее постоянными показателями адгезии. Установлен оптимальный режим экспериментов (37 °C, 30 мин), в условиях которого результаты не зависели от жизнеспособности кандид, не давали вторичного ореола адгезии (за счет коадгезии кандид, не успевших связаться с клетками-мишенями на первом этапе опыта).

Показатели адгезии у женщин репродуктивного возраста ($1,89 \pm 1,8$), применявших гормональный контрацептив «Регулон», существенно не отличались от показателей адгезии у женщин, не применявших гормональные препараты в возрасте 18-45 лет ($1,48 \pm 1,4$). Показатели адгезии в группах крыс-самок выделили следующие: в группе, которую кормили 1/10 таблетки «Регулон» (0,003 мг этинилэстрадиола и 0,015 мг дезогестрела) – ($3,35 \pm 3,3$). Сравнение показателей адгезии производили с показателями адгезии контрольной группы крыс-самок ($1,93 \pm 1,9$), не принимавших препарат «Регулон», содержащихся при тех же температурно-пищевых условиях и в одно время с предыдущими группами животных. Отсутствие существенной корреляции между уровнем естественной колонизации у человека и животных свидетельствует о том, что прием комбинированного низкодозированного препарата «Регулон», так активно применяемый женщинами репродуктивного возраста, не существенно влияет на адгезивные взаимоотношения в системе «*Candida albicans* – эпителиоциты влагалища».

Такой эффект от приема гормонального контрацептива «Регулон» объясняет его строение: действующими веществами являются этинилэстрадиол и дезогестрел. Контрацептивный эффект обусловлен влиянием на гипоталамо-гипофизарно-яичниковую систему: дезогестрел тормозит синтез лютеинизирующего и фолликулстимулирующего гормонов в гипофизе и предотвращает созревание фолликула, эффективно блокирует овуляцию, обладает антиэстрогенным действием; а этинилэстрадиол-синтетический аналог фолликулярного гормона эстрадиола участвует вместе с гормоном желтого тела в формировании менструального цикла, препятствует созреванию яйцеклетки, способной к оплодотворению. Контрацептивный эффект этинилэстрадиола обусловлен, с одной стороны, снижением восприимчивости эндометрия к блас-

тоцисте, с другой стороны, повышением вязкости слизи в шейке матки, препятствующей продвижению сперматозоидов.

Таким образом, проявление клинических симптомов и степень активности вагинального кандидоза напрямую зависят от протеолитической и липолитической активности *Candida albicans*. Существует четкая корреляция между степенью кандидозной колонизации и инфекцией. В мицелиарной фазе *Candida albicans* пенетрируют ороговевшие эпителиоциты. В целом, адгезия кандид на вагинальных эпителиоцитах складывается из 2 механизмов. Один из них зависит от уровня метаболической и цитоскелетной активности эпителиоцитов и отвечает примерно за половину реакций. Можно думать, что это пассивный механизм, который не связан с рецепторами кандид, а определяется гидрофобными, ван-дерваальсовыми и электростатическими взаимодействиями. Второй механизм является результатом метаболитически открытых клеток вагинального эпителия и клеток, участвующих в формировании локального иммунного ответа. Эта совокупность реакций, отвечающих за взаимоотношения живых клеток, которые лучше всего проявляются в физиологических условиях, где действует каскад нейро-гуморальных реакций. Таким образом, *Candida albicans* проникает и выживает в глубоких слоях цервикального и вагинального эпителия. Псевдомицелий проникает в глубь до 4-6 слоев эпителия. Проникновение внутрь клеток наряду с целостностью маннопротеиновой оболочки позволяет грибам противостоять факторам защиты макроорганизмов. Таким образом, начальные стадии процессов адгезии, прорастания, рост, характер инвазии и смена стадии колонизации при вагинальном кандидозе в целом такие же, как и при поверхностном кандидозе других локализаций. В большинстве случаев вагинального кандидоза, в том числе при его хроническом рецидивирующем течении, не удается выявить какого-либо состояния, однозначно predisposing к инфекции. В связи с этим, считается, что в патогенезе участвуют многие факторы, находящиеся в сложном взаимодействии. К ним традиционно относят дисбаланс микрофлоры влагалища и расстройств иммунитета (при вагинальном кандидозе носит преимущественно местный характер).

Исходя из полученных результатов, проведенных как в естественных условиях, так и у лабораторных животных, применявших комбинированный препарат «Регулон», видно незначительное изменение показателей адгезии *Candida albicans* в системе вагинальных эпителиоцитов в сторону незначительного увеличения. По-видимому, это связано с небольшим содержанием в препарате эстрогенового компонента, который в ряде работ (Knudsen P.J., 1987 год; Stefano G.B., 1999 год), оказывает иммуносупрессивное действие. Так, эстрадиол угнетает функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов и миграцию моноцитов в ответ на различные хемотаксические агенты (Boulangier C., Luscher T.F., 1990; Garzetti G.G. et al., 1998; Okada M. et al., 1997; Williamson S.A. et al., 1988). Через эстрадиол реализуется эффект отрицательной обратной связи между концентрацией ФСГ и ЛГ и прогестероном (подавляет синтез ФСГ и ЛГ при относительно высокой концентрации прогестерона в плазме (Говалло В.И.; 1987). Известно супрессорное воздействие ЛГ на нейтрофилы репродуктивного тракта (Телешева Л.Ф.; 1999 год). Эстрогены способствуют повышению Ig M опосредованно через транспорт Ig A и Ig M через эпителий слизистой полового тракта (Molland J.G. et al., 1990; Milson I. et al., 1991). Эстрогены увеличивают толщину влагалищного эпителия и способствуют секреции муцинов и других важных защитных факторов, таких как компоненты комплементарной системы. На фоне эстрогенной недостаточности развивается дисбактериоз влагалища, проявляющийся снижением лактобактерий и нарастанием количества бактерий фекальной группы (Whit H.D. 1997). Таким образом, эстрогены значительно улучшают иммунитет слизистых и,

соответственно, обеспечивают защиту от инфекций (Grossman C.J.; 1994 год, Brunelli R.; 1996). Что касается влияния прогестерона на иммунный ответ, то известно, что в отличие от эстрогенных рецепторов, лейкоциты не имеют классических прогестероновых рецепторов, но, как и макрофаги, имеют глюкокортикоидные рецепторы. Поэтому принято считать, что влияние прогестерона, производное которого является вторым основным компонентом препарата «Регулон», на иммунную систему, осуществляется опосредованно через глюкокортикоидные рецепторы (Grossman C.J.; 1994). Прогестерон и ацетилированные прогестагены прегнанового типа активизируют глюкокортикоидные рецепторы и оказывают глюкокортикоидподобное иммуносупрессивное действие. На гуморальное звено иммунитета действие прогестерона, как и глюкокортикоидов, носит противоположный характер. Прогестерон также влияет на воспалительную реакцию путем активации продукции моноцитами ИЛ-1, ФНО-б и угнетения синтеза оксида азота (Grossman C.J.; 1994). Самостоятельное действие гормона на уровне иммунных клеток реализуется благодаря экспрессии специфических рецепторов Pr (PR). Обобщая полученные в эксперименте результаты (Huber J., 2000), можно предположить, что применение прогестерона на фоне достаточного содержания эстрогенов не повышает чувствительность к инфекциям, в том числе при приеме комбинированного препарата «Регулон», а на фоне низкого, наоборот, – повышает риск инфицирования *Candida albicans*.

Выводы 1. Определены режимы и условия для изучения адгезивных реакций *Candida albicans* в системе с влагалищными эпителиоцитами женщин. Установлено существование незначительной разницы между адгезиями кандид у женщин репродуктивного возраста и у лабораторных животных на примере нелинейных белых крыс, несмотря на то, что эпителиоциты последних отличаются значительно более высоким уровнем естественной колонизации.

2. При сравнении адгезивной активности *Candida albicans* в реакциях с эпителиоцитами слизистой влагалища у женщин, применяющих пероральный гормональный контрацептив «Регулон», и здоровых женщин, не применяющих гормональную контрацепцию, не выявлено существенного повышения потенциала адгезии при применении данного эстроген-прогестагенового препарата.

3. При сравнении результатов подсчета индекса адгезии у белых нелинейных крыс-самок, получающих препарат «Регулон» по 1/10 таблетки (0,003 мг этинилэстрадиола и 0,015 мг дезогестрела) согласно схеме, наблюдается тенденция к увеличению его по сравнению с контрольной группой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бутенко Г.М. Старение иммунной системы // Проблемы строения и долголетия. – 1998. – № 3. – С. 28-34.
2. Взаимодействие нервной и иммунной систем / Тезисы докладов V Всесоюзного симпозиума (Оренбург, 28-30 августа 1990 г.) // Под ред. Корневой Е.А. – Ленинград- Ростов-на-Дону, 1990. – 2005 с.
3. Говалло В.И. Иммунология репродукции. – М.: Медицина, 1987. – 304 с.
4. Дедов И.И., Дедов В.И. Биоритмы гормонов. – М.: Медицина, 1992. – С. 185-188.
5. Добродеева Л.К., Щеголева Л.С., Сенькова Л.Е. Взаимосвязи в системе иммунитета. – Мед. иммунология. – Т. 2, № 2. – 2000. – С. 127.
6. Доценко Е.А., Юпатов Г.И., Чиркин А.А. Холестерин и липопротеины низкой плотности как эндогенные иммуномодуляторы // Иммунология, аллергология, инфектология. – № 3. – 2001. – С. 6-15.
7. Земсков А.М., Земсков В.М., Караулов А.В., Золотев В.И., Бжозовский Е., Ворновский В.А., Савенок Н.А. Нелимфоидные механизмы иммунологических расстройств // International journal on immunorehabilitation. – 2000. – Vol. 2, № 1. – P. 161-174.
8. Земченкова И.Г. Импульсная секреция гонадотропинов, пролактина, эстрадиола и прогестерона у больных с различными формами аменореи: Автореф. дисс... / Рос. АМН НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта. С.Пб., 1992. – С. 13.
9. Телешева Л.Ф. Иммунологические факторы секретов репродуктивного тракта женщин: Автореф. дисс... д.м.н. / Челябинск, 2000. – С. 41.