

Perspective in chronic kidney disease: targeting hypoxia-inducible factor (HIF) as potential therapeutic approach /A.B.Deshmukh, J.K.Patel, A.R.Prajapati [et al.] //Ren. Fail. - 2012.- Vol.34, №4.- P.521-532. Role of hypoxia in the pathogenesis of renal

disease /K.U.Eskardt, W.M.Bernhardt, A.Weidemann [et al.] //Kidney Int. Suppl.- 2005.- №99.- P.46-51.

Филипец Н.Д., Гоженко А.И., Давыденко И.С.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНЕЙ ПОЧЕК КРЫС В УСЛОВИЯХ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ НИТРИТА НАТРИЯ И 2,4-ДИНИТРОФЕНОЛА

Резюме. После сочетанного введения лабораторным нелинейным белым крысам нитрита натрия в дозе 50 мг/кг и 2,4-динитрофенола в дозе 3 мг/кг острое гипоксическое состояние сопровождается морфологической перестройкой преимущественно в корковом слое почек с повреждением клеток как клубочкового, так и канальцевого отделов нефрона. Особенности структурной организации после уменьшения дозы метгемоглобинообразователя до 25 мг/кг характеризуются аналогичными, но менее выраженными в количественном отношении морфологическими изменениями без структурных нарушений в мозговом слое почек.

Ключевые слова: нитрит натрия, 2,4-динитрофенол, почки, морфологические изменения.

Filipets N.D., Gozhenko A.I., Davydenko I.S.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE KIDNEY'S TISSUE OF THE RATS IN THE CASE OF THE COMBINATION OF THE USAGE OF SODIUM NITRITE AND 2,4-DINITROPHENOL

Summary. After the combined introduction to the laboratorial nonlinear white rats the sodium nitrite in the dose of 50mg/kg and 2,4-dinitrophenol in the dose of 3 mg/kg, sharp hypoxia state is accompanied with the morphological reorganization mainly in the cortical layer of the kidneys with the damage of the cells as glomerular as tubular sections of nephron. The peculiarities of the structural organization after the reducing the dose till 25 mg/kg characterizes analogous, but less expressed in proportion, morphological changes without the structural damage in the medullary area.

Key words: sodium nitrite, 2,4-dinitrophenol, kidneys, morphological changes.

Стаття надійшла до редакції 14.05.2013 р.

Філіпец Наталя Дмитрівна - канд. мед. наук - доцент кафедри фармакології Буковинського державного медичного університету; (0372) 235262; office@bsmu.edu.ua;

Гоженко Анатолій Іванович - д. мед. наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України, директор ДУ Український науково-дослідний інститут медицини транспорту; medtrans2@rambler.ru;

Давиденко Ігор Святославович - д. мед. наук, професор, завідувач кафедри патоморфології Буковинського державного медичного університету; office@bsmu.edu.ua.

© Чуйко Н.Я.

УДК: 616.831-005-091.818:616-008.9

Чуйко Н.Я.

Кафедра патоморфології та судової медицини Івано-Франківського національного медичного університету (вул. Федьковича, 91, м.Івано-Франківськ, 76008, Україна)

РОЛЬ АПОПТОЗА КЛІТИН СУДИННОЇ СТІНКИ У МОРФОГЕНЕЗІ ЗМІН АРТЕРІЙ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ МЕТАБОЛІЧНОМУ СИНДРОМІ

Резюме. У статті представлені результати дослідження апоптозу клітин стінок артерій головного мозку при метаболічному синдромі, ускладненому ішемічним і геморагічним інсультом. Встановлено, що при атеросклеротичному ураженні артерій головного мозку при метаболічному синдромі значну роль у морфогенезі змін судинної стінки відіграє апоптоз, як реакція на дію модифікованих ЛПНЩ, що мають цитотоксичний ефект.

Ключові слова: апоптоз, судинна стінка, метаболічний синдром.

Вступ

В Україні хвороби системи кровообігу становлять більше 60% у структурі загальної смертності, а найбільш актуальною проблемою є цереброваскулярні захворювання у зв'язку з їх поширеністю, грубою інвалідизацією і високою смертністю [Колотилів, 2011]. Особливо важкий перебіг судинні захворювання головного мозку мають на фоні метаболічного синдрому (МС), який поєднує у собі артеріальну гіпертензію, дисліпідемію, цукровий діабет 2 типу і абдомінальне ожиріння [Мычка, Чазова, 2009]. Дисліпопротеїдемії і атеросклероз є важливими етіологічними факторами порушення мозкового кровообігу та причиною виникнення інсульту.

В останні десятиріччя уявлення про атеросклероз

суттєво трансформувалися, тому що використання нових технологій, зокрема імуногістохімічного дослідження, дозволило проводити на клітинно-молекулярному рівні вивчення процесів, що проходять в стінці артерій, де реалізуються прояви атеросклерозу. З'явилися роботи, де формування атеросклеротичного ураження артерій обговорюється з позицій імунного запалення [Бобришев и др., 2010; Gui et al, 2012]. Початковою ланкою аутоімунних реакцій, що відбуваються у судинній стінці при атеросклерозі, є утворення модифікованих ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ) під впливом різних факторів [Нагорнев, Восканьянц, 2003]. Модифіковані ЛПНЩ активують клітини гематогенного поход-

ження - моноцити, макрофаги, лімфоцити, які мігрують в інтиму артерій, і клітини судинної стінки - ендотеліоцити, зірчасті і гладком'язові клітини, що спричиняють реакції, які підтримують вогнище запалення в стінці артерії. Акутальним є питання, чи спричиняють модифіковані ЛПНЩ лише активацію імунного запалення, чи ще й за рахунок токсичного впливу можуть викликати апоптоз і некроз клітин судинної стінки [Stoneman, Bennet, 2004; Seimon, Tabas, 2009]. Вивчення апоптоза може розширити уяву про механізми, що підтримують імунне запалення артерій.

Метою нашого дослідження стало вивчення апоптоза клітин стінок артерій головного мозку при метаболічному синдромі, ускладненому ішемічним і геморагічним інсультом.

Матеріали та методи

Нами досліджені судини головного мозку 30 померлих з геморагічними інсультами, 30 - з ішемічними інфарктами на фоні МС, і 20 померлих від причин, не пов'язаних із цереброваскулярними захворюваннями (група порівняння). Середній вік померлих з геморагічним інсультом становив $52,6 \pm 2,8$ років, з ішемічним інсультом - $54,8 \pm 3,6$ років, групи порівняння $50,4 \pm 4,7$ років. Досліджували артерії двох структурно-функціональних рівнів: магістральні - сонні артерії й екстрацеребральні - артерії основи мозку. Судини забарвлювали гематоксилином та еозином і проводили імуногістохімічне дослідження з використанням маркера р53 (Clone Y5). Матеріал фіксували в 10% розчині нейтрального забуференого формаліну і проводили за загальноприйнятою методикою. Для проведення імуногістохімічних реакцій зрізи товщиною 5 мкм монтували на адгезивні скельця Super Frost Plus (фірми Menzel), депарафінували, гідратували і обробляли 3% розчином перекису водню для блокування ендогенної пероксидази. В якості других антитіл використовували набір Ultra

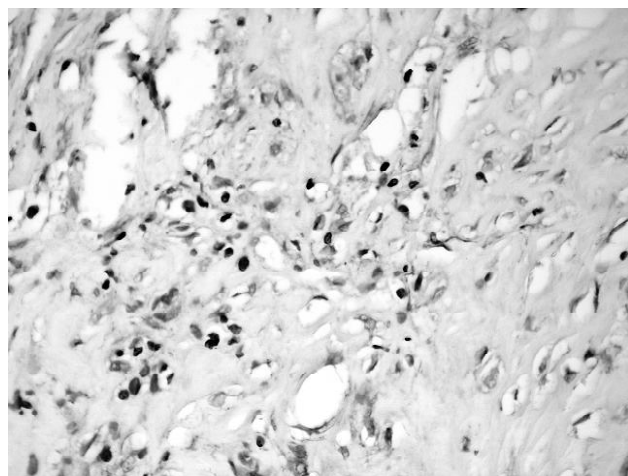


Рис. 1. Експресія маркера р53 у мононуклеарних клітинах стінки артерії навколо атеросклеротичної бляшки пацієнта з ішемічним інсультом. $\times 400$.

Vision Detection System (фірми Thermo Scientific). Гістологічне дослідження і фотозйомку мікропрепаратів проводили на мікроскопі AxioScop 40 (Zeiss). Результати імуногістохімічної реакції оцінювали напівкількісним методом. Визначали ступінь інтенсивності забарвлення ядер клітин: 0 - відсутність забарвлення, 1 (+) - слабе забарвлення, 2 (++) - помірне забарвлення, 3 (+++) - виражене забарвлення ядер.

Визначали площу, яку займають імунопозитивні структури. Відносну площу експресії (S, %) розраховували за формулою [Острикова, 2011]:

$$S = \frac{S_{\text{імунопозитивних ядер}}}{S_{\text{ядер}}} \times 100$$

Результати. Обговорення

Використання імуногістохімічного методу, хоча він і є чутливим, не дає можливості виявити природу апоптичної клітини, тому можна говорити лише про наявність клітин з позитивною експресією маркера апоптоза р53. Експресія р53 у стінці артерій у групі пацієнтів з ішемічним інсультом становила в середньому 25,7%; з геморагічним інсультом - 17,9% ($p < 0,05$); в той же час у групі порівняння експресія виявлялась не в усіх випадках і становила 5,6% ($p < 0,05$).

Більш виражена експресія маркера апоптоза р53 спостерігалась навколо атеросклеротичних бляшок (рис. 1), де при забарвленні гематоксилином та еозином виявлялись скупчення мононуклеарних клітин. У стінці артерій померлих від геморагічного інсульту рівень експресії р53 був вірогідно меншим у порівнянні з групою з ішемічним інсультом; імунопозитивні клітини зазвичай розміщувались дифузно (рис. 2). Апоптоз спостерігався переважно у клітинах, що не містять в цитоплазмі ліпідних вакуолей. Модифіковані ЛПНЩ, стимулюючи клітинну загибель у вигляді апоптоза, відіграють важливу роль у процесах дестабілізації атеросклеротичної бляшки [Нагорнев, Восканьянц, 2004].

Наявність у стінці артерій при атеросклерозі макро-

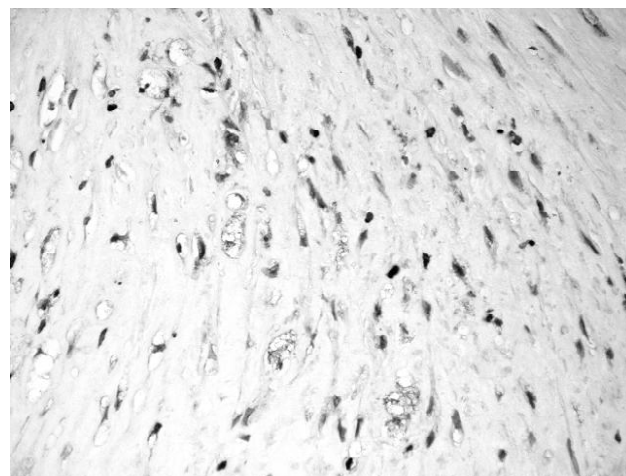


Рис. 2. Експресія маркера р53 в клітинах стінки артерії пацієнта з геморагічним інсультом. $\times 400$.

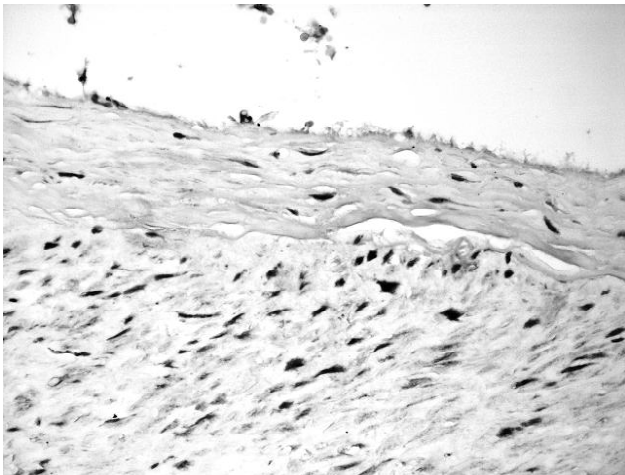


Рис. 3. Слабо виражена експресія маркера р53 у клітинах ендотелію стінки артерії пацієнта з ішемічним інсультом. х400.

фагів і Т-лімфоцитів супроводжується експресією прозапальних цитокінів, при цьому активовані макрофаги продукують велику кількість фактору некрозу пухлин - TNF-а, який приймає активну участь в активації каспази і ініціації апоптичної клітинної смерті [Gui et al, 2012].

При атерогенезі також спостерігається апоптоз ендотеліоцитів, мононуклеарних клітин і гладком'язевих клітин на всіх стадіях формування атеросклеротичних уражень,

Разом з тим, ми рідко зустрічали позитивно забарвлені клітини ендотелію (рис. 3). Це можна пояснити тим, що ендотеліоцити, як клітини бар'єрної тканини при загибелі злущуються та змиваються кровотоком.

Основною причиною апоптозу клітин при атерогенезі є модифіковані ЛПНЩ і клітинні реакції, що супроводжують розвиток імунного запалення, а враховуючи те, що в основі імунного запалення і клітинних реакцій лежать модифіковані ЛПНЩ, їх можна вважати основним фактором, що запускає апоптоз клітин [Нагорнев, Восканьянц, 2004].

Висновки та перспективи подальших розробок

1. При атеросклеротичному ураженні артерій головного мозку при МС значну роль у морфогенезі змін судинної стінки відіграє апоптоз як реакція на дію модифікованих ЛПНЩ, що мають цитотоксичний ефект.

2. Ці дані можуть бути використані при розробці нових підходів до лікування атеросклерозу як структурної основи ураження артерій головного мозку при МС шляхом розробки нових підходів до лікування з урахуванням регуляції кінетики клітин стінки артерій.

Перспективою досліджень у цьому напрямку є подальше вивчення механізмів ураження судинної стінки артерій головного мозку при метаболічному синдромі.

Список літератури

- Клеточные механизмы атеросклероза: врожденный иммунитет и воспаление /Ю.В.Бобрышев, В.Н.Карагодин, Ж.И.Ковалевская [и др.] //Фундаментальные науки и практика.- 2010.- №1(4).- С.140-148.
- Колотилов Н.Н. Инсульт: инженерия знаний /Н.Н.Колотилов //Лучевая диагностика, лучевая терапия.- 2011.- №3.- С.71-85.
- Мычка В.Б. Метаболический синдром /В.Б.Мычка, И.Е.Чазова //Системные гипертензии.- 2009.- №1.- С.50-53.
- Нагорнев В.А. Апоптоз и его роль в атерогенезе /В.А.Нагорнев, А.Н.Восканьянц //Мед. академич. журнал.- 2003.- Т.3, №4.- С.3-19.
- Острикова О.И. Разработка метода количественной оценки экспрессии маркеров апоптоза и пролиферации при новообразованиях желудка по данным иммуногистохимического анализа /Всеросс. 70-я итоговая науч. студ. конф. им. Н.И.Пирогова (Томск, 16-18 мая 2011 г.): сб. статей /под ред. В.В.Новицкого, Л.М.Огородовой.- Томск: Сибирский гос. мед. ун-т, 2011.- С.54-55.
- Roles of Macrophages in Atherosclerosis: From Inflammatory Biology to Biomarker Discovery /T.Gui, A.Shimokado,Y.Sun [et al.] //Mediators of Inflammation.- 2012.- Vol. 2012.- 14 p.
- Seimon T. Mechanisms and consequences of macrophage apoptosis in atherosclerosis /T.Seimon, I. Tabas //J. Lipid Res.- 2009.- Suppl.50.- S.382-387.
- Stoneman V.E.A. Role of apoptosis in atherosclerosis and its therapeutic implications /V.E.A.Stoneman, M.R.Bennett //Clin. Science.- 2004.- Vol.107.- P.343-354.

Чуйко Н.Я.

РОЛЬ АПОПТОЗА КЛЕТОК СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ В МОРФОГЕНЕЗЕ ИЗМЕНЕНИЙ АРТЕРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

Резюме. В статье представлены результаты исследования апоптоза клеток стенок артерий головного мозга при метаболическом синдроме, осложненном ишемическим и геморрагическим инсультом. Установлено, что при атеросклеротическом поражении артерий головного мозга при метаболическом синдроме значительную роль в морфогенезе изменений сосудистой стенки играет апоптоз, как реакция на действие модифицированных ЛПНП, которые имеют цитотоксический эффект.

Ключевые слова: апоптоз, сосудистая стенка, метаболический синдром.

Chuiiko N.Y.

ROLE OF APOPTOSIS IN MORPHOGENESIS OF FEATURES OF BLOOD VESSEL WALL OF PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME

Summary. In the article the results of investigation of apoptosis of cells of blood vessel wall of the patients with metabolic syndrome, complicated by ischemic and hemorrhagic stroke, are shown. Established that atherosclerotic lesions of arteries of the brain in MS significant role in morphogenesis changes of the blood vessel wall plays apoptosis, in response to the action of modified LDL with cytotoxic effect.

Key words: apoptosis, blood vessel wall, metabolic syndrome.

Стаття надійшла до редакції 25.04.2013 р.

Чуйко Наталія Ярославівна - асистент кафедри патоморфології та судової медицини Івано-Франківського національного медичного університету; (067) 7819199.