

Федотченко А.В., Щербаков М.С., Молчанов О.О., Ситова А.В.

Резюме. Встановлено, що товщина вісцеральної частини синовіального шару капсули суглобу у постнатальному періоді неоднакова і залежить від віку, рухової активності і біомеханічного навантаження на суглобовий хрящ та змінюється після дії антигенів.

Ключові слова: синовіальний шар, внутрішньоплідне введення антигенів.

УДК 611.72.018.36 + 611.72.018.36.08

ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ ИЗМЕНЕНИЯ ТОЛЩИНЫ ВИСЦЕРАЛЬНОЙ ЧАСТИ СИНОВИАЛЬНОГО СЛОЯ КАПСУЛЫ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА В НОРМЕ И ПОСЛЕ ВНУТРИПЛОДНОГО ВВЕДЕНИЯ АНТИГЕНОВ

Федотченко А.В., Щербаков М.С., Молчанов А.А., Сытова А.В.

Резюме. Установлено, что толщина висцеральной части синовиального слоя капсулы сустава в постнатальном периоде неодинаковая и зависит от возраста, двигательной активности, биомеханической нагрузки на суставной хрящ и меняется после влияния антигенов.

Ключевые слова: синовиальный слой, внутрисуставное введение антигенов.

UDC 611.72.018.36 + 611.72.018.36.08

FEATURES OF THE DYNAMICS OF CHANGES IN THICKNESS OF THE VISCERAL SYNOVIUM HIP JOINT CAPSULE IN NORMAL AND AFTER THE INTRODUCTION OF INTRAFOETAL ANTIGEN INJECTION

Fedotchenko A.V., Shcherbakov M.S., Molchanov A.A., Sytova A.V.

Summary. It was settled that thickness of synovial layer's visceral part of joints capsulae during postnatal period is unidentical and depends from age, moving activity, biomechanical loading on joints cartilage and is changing after intrafoetal antigen influence.

Key words: synovial layer, intrafoetal antigen injection.

Стаття надійшла 4.04.2011 р.

УДК 576.367:591.433: 57.044

С.Н. Федченко, Л.О Галузина

РОЛЬ МАРКЕРОВ КЛЕТОЧНОГО ОБНОВЛЕНИЯ (Ki-67) И АПОПТОЗА В ВОЗНИКНОВЕНИИ И ПРОГРЕССИРОВАНИИ НАРУШЕНИЙ КЛЕТОЧНОГО ГОМЕОСТАЗА ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ЖЕЛУДКА, АССОЦИИРОВАННЫХ С ВОЗДЕЙСТВИЕМ НА ОРГАНИЗМ ПАРОВ ТОЛУОЛА

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» (г. Луганск)

Данная работа является фрагментом научной темы «Структурный гомеостаз тканей травного тракту, видільної системи та інтегруючих систем організму (ендокринної, нервової та імунної), його регуляція та корекція змін, що виникають, в умовах дії екологічно небезпечних чинників», номер гос.регистрации 0109U004543.

Вступление. В настоящее время важнейшее значение в прогрессировании нарушений клеточного гомеостаза эпителиоцитов желудка принадлежит Ki-67и апоптозу [1, 2, 6]. Однако характер и степень изменений их показателей на пути прогрессирования гастропатий недостаточно изучены. От характера нарушений параметров клеточного обновления (соотношения апоптоза и пролиферативной активности эпителиоцитов) зависит формирование различных заболеваний желудочно-кишечного тракта [5, 6].

Цель исследования. Всё вышеизложенное обосновывает необходимость не только подробного рассмотрения роли маркеров клеточного обновления (Ki-67) и апоптоза в возникновении нарушений клеточного гомеостаза эпителиоцитов желудка, но и определить прогностически значимую величину соотношения пролиферации к апоптозу эпителиоцитов желудка в плане возникновения и прогрессирования гастропатий желудка, ассоциированных с воздействием на организм паров толуола.

Объект и методы исследования. Исследование проведено на 68 крысах линии Вистар с исходной массой 150-180г. Животные в специальных затравочных камерах подвергались воздействию паров толуола на заданном уровне в течение 4 ч в день по 5 дней в неделю на протяжении 60 дней. Концентрацию ксенобиотика поддерживали на уровне предельно допустимой концентрации (ПДК) установленной для воздуха рабочей зоны предприятий 10 ПДК: 50 и 500мг/м3.

Все животные были разделены на 4 группы (по 6 в каждой). Исследуемые группы распределялись в зависимости от сроков наблюдения после завершения воздействия парами толуола и контроля эксперимента. Животных умерщвляли эфирным наркозом на 1-е (1 серия), 7-е сутки (2 серия), 30-е (3 серия) и 60-е сутки (4 серия) после 60 дневной затравки толуолом. К каждой из опытных групп было взято по 6 контрольных животных, содержавшихся в аналогичных условиях вивария. После вскрытия желудка промывали и под лупой определяли количество и размеры эрозий и язв. По завершении эксперимента для гистологического исследования брали фрагмент стенки фундального отдела желудка. Материал фиксировали в 10%-ном нейтральном забуференном формалине (pH 7,2 – 7,4) в течение 12 - 24 часов, заливали в парафин по общепринятой методике. Парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и осуществляли морфометрическое исследование.

Анализ пролиферативной активности клеток основывался на иммунофлуоресцентном определении ядерного антигена делящихся клеток [7]. Полученные депарафинированные препараты фиксировали ледяным метанолом в течение 15 минут. В качестве первичных антител использовали антитела к Ki67 антигену (Sigma), которые наносили на препараты и инкубировали 30 минут при 4°C. Морфологическую оценку проводили с помощью люминисцентного микроскопа MC300 (Micros Austria) при 400-кратном увеличении, общее количество клеток оценивали с помощью фазово-контрастной микроскопии, для съемок использовали видеокамеру CAM400 (Micros Austria) с использованием программного обеспечения Bio Vision version 2.0. Определяли ИП (ядерная метка Ki-67) в 5 случайно выбранных полях зрения (>500 клеток) как долю

(в процентах) положительно окрашенных ядер эпителиоцитов СОЖ.

Результаты исследований и их обсуждение. Оценка морфологических изменений при апоптозе. Для выявления клеток с конденсированным или фрагментированным ядром был использован флуоресцентный ядерный краситель Hoechst 33342. Метод позволяет выявлять ранние изменения проницаемости плазматической мембраны и хроматина, предшествующие межнуклеосомной фрагментации ДНК. Проведенные исследования показали, что при интоксикации толуолом характерны изменения пролиферативной активности и жизнеспособности эпителиоцитов СОЖ.

При исследовании на 1 и 7 сутки процессы клеточного обновления демонстрируют достоверное снижение пролиферативной способности на 32% и 25% соответственно и увеличение процента гибели клеток в форме апоптоза по сравнению со значениями в контрольной группе (рис.). Данные приведенные на рис. свидетельствуют о том, что ИА увеличен на 38% до 7.12 ± 3.18 (1 сутки); на 76% до 9.08 ± 2.84 (7 сутки) по сравнению с таковым в нормальной слизистой оболочке. Снижение пролиферативной активности и нарастание числа апоптозов характерны только для животных у которых отмечались эрозии СОЖ. Иммуноцитохимическое исследование позволило выявить интенсивность и тканевую специфику распределения экспрессии Ki-67. Выраженная экспрессия наблюдалась в покровном эпителии, в меньшей степени в клетках собственной пластинки.

*

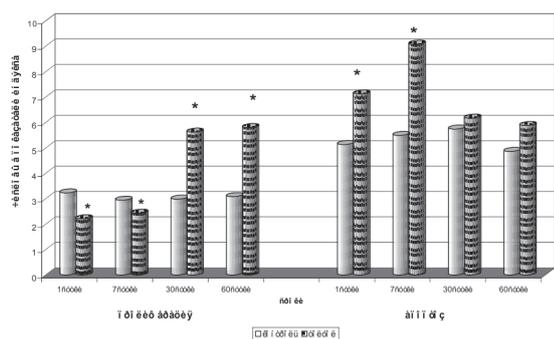


Рис. Значение индексов пролиферации (ИП) и апоптоза (ИА) в СОЖ крыс. Примечание: * показатель достоверности относительно интактной группы ($p < 0,05$).

Не менее важным является фактор пространственного распределения апоптоза в эпителии. Апоптоз, помимо поверхностного эпителия, встречается в генеративной зоне, что учитывая локализацию камбиальных клеток, может рассматриваться как фактор риска. Выявленные нарушения клеточного обновления способствуют тому, что клетки ускоренно перемещаются из генеративной зоны и, не претерпев полноценной дифференциации, оказываются в тех местах, где обычно располагаются зрелые специализированные эпителиоциты. Результатом этого может стать ослабление функциональной способности клеток.

Список литературы

1. Аруин Л.И. Апоптоз при патологических процессах в органах пищеварения // *Клин. мед.* – 2000. – Т. 78, № 1. – С. 5–10.
2. Аруин Л.И. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника / Л.И. Аруин, Л.Л. Капуллер, В.А. Исаков – М.: Триада-Х, 1998. – 496 с.
3. Гринюк І.І. Зміни структурного стану хроматину в тимоцитах на ранньому етапі апоптозу за індукції пероксидом водню і радіацією / І.І. Гринюк, Г.М. Корнійчук, О.П. Матишевська // *Український біохімічний журнал.* – 2004. – Т. 76, № 5. – С. 90–95.
4. Залесский В.Н. Методы визуализации апоптоза / В.Н. Залесский, А.А. Фильченков, О.Б. Дынник // *Журнал АМН України.* – 2004. – Т. 10, № 2. – С. 326–337.
5. Райхлин Н.Т. Апоптоз – основные механизмы развития и роль в онкологической практике: руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / Под ред. С.В. Петрова, Н.Т. Райхлина. – Казань, 2000. – С. 250–266.
6. Хомерики С.Г. Процессы регенерации в слизистой оболочке желудка и канцерогенез // *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* – 2001. – Т. 11, № 2. – С. 17–23.

Анализ проведенных наблюдений с учетом временных параметров показал значительное превышение индекса апоптоза и снижение пролиферативной способности эпителиоцитов СОЖ у животных 1 и 2-й серии; изменения коррелировали со степенью вовлечения в патологический процесс клеток желудка. На основании морфометрического анализа можно предположить, что нарушение клеточного обновления ведет к атрофии СОЖ. При резком, остро возникшем дисбалансе факторов, усиливающих апоптоз и снижающих пролиферацию, возникшем на ранних сроках исследования, создаются условия для формирования эрозивно-язвенного поражения желудка. Апоптозу, как известно, в первую очередь подвергаются клетки с необратимыми повреждениями ДНК [3,4,8]. В ходе статистической обработки результатов полученных данных были установлены коррелятивные связи различной направленности между атрофией в СОЖ и индексом пролиферации и апоптозом.

Установлена тесная обратная корреляционная связь между снижением толщины СОЖ и увеличенными показателями апоптоза ($r_1 = -0.94$) и положительная связь со снижением пролиферативного индекса ($r_2 = 0.95$), что дает возможность думать об участии этих компонентов в формировании эрозивно-язвенных поражений желудка, ассоциированных с воздействием на организм паров толуола. В основе явлений атрофии СОЖ, обнаруженной при ингаляции толуолом, могут лежать процессы нарушения клеточного обновления, связанные с дисбалансом пролиферации эпителиоцитов и их гибелью. Это подтверждают полученные нами данные о тесной коррелятивной связи между индексами пролиферации и апоптоза и наличием эрозий и язв (индекс Паульса).

Так, у экспериментальных животных на 30 сутки имеет место повышение почти в 2 раза индекса Ki-67+ эпителиоцитов СОЖ, что составляет $5.62 \pm 0.63\%$. Высокий уровень экспрессии Ki-67+ достоверно и существенно (на 88%) наблюдался и на 60 сутки.

При исследовании на 60-е сутки эксперимента отмечено слабое преобладание процессов пролиферации клеток над процессами апоптоза, что отражает сохранение способности эпителиоцитов к регенераторным процессам, что, в свою очередь, может свидетельствовать о компенсаторном повышении пролиферативной активности в ответ на альтерацию. Реакция эпителия характеризуется сочетанием дистрофических изменений с явлениями внутриклеточной регенерации.

Вывод. Таким образом, одним из факторов формирования атрофических процессов, а также развития гастропатий в результате интоксикации парами толуола является снижение пролиферативной способности эпителиоцитов на фоне возрастания индекса апоптоза эпителиоцитов желудка.

Перспективы дальнейших исследований. Предлагаем рассмотреть ультраструктурные изменения эпителиоцитов (экзо- и эндокриноцитов) в различные сроки после 60-суточной ингаляции парами толуола. Изучить морфологические особенности поврежденных эпителия слизистой оболочки желудка крыс при хронической ингаляции толуолом.

- Hoshi T. Cell damage and proliferation in human gastric mucosa infected by Helicobacter pylori-a comparison before and after H pylori eradication in non-atrophic gastritis / T. Hoshi, H. Sasano // Hum Pathol. - 1999. - Vol. 12. - p. 1412-1417.
- Steininger H. Apoptosis in chronic gastritis and its correlation with anti-gastric autoantibodies / H. Steininger, G. Faller, E. Dewald, T. Brabletz // Virchow Arch. - 1998. - Vol. 433. - P. 13-18.

УДК 576.367:591.433: 57.044

РОЛЬ МАРКЕРОВ КЛЕТЧНОГО ОБНОВЛЕНИЯ (Ki-67) И АПОПТОЗА В ВОЗНИКНОВЕНИИ И ПРОГРЕССИРОВАНИИ НАРУШЕНИЙ КЛЕТЧНОГО ГОМЕОСТАЗА ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ЖЕЛУДКА, АССОЦИИРОВАННЫХ С ВОЗДЕЙСТВИЕМ НА ОРГАНИЗМ ПАРОВ ТОЛУОЛА

Федченко С.Н., Галузина Л.О.

Резюме. В ходе проведенного исследования на основе изучения ядерного антигена пролиферирующих клеток (Ki-67) и апоптоза определено влияние ингаляции парами толуола на основные показатели клеточной пролиферации эпителиоцитов слизистой оболочки желудка крыс. В основе явлений атрофии СОЖ, обнаруженной при ингаляции толуолом, лежат процессы нарушения клеточного обновления, связанные с дисбалансом пролиферации эпителиоцитов и их гибелью. Установлены коррелятивные связи различной направленности между атрофией в СОЖ и индексом пролиферации (+0,95) и апоптозом (-0,94).

Ключевые слова: пролиферативная активность эпителиоцитов слизистой оболочки желудка (СОЖ), интоксикация толуолом, апоптоз.

УДК 576.367:591.433: 57.044

РОЛЬ МАРКЕРІВ КЛІТИННОГО ОНОВЛЕННЯ (Ki-67) ТА АПОПТОЗУ У ВИНІКНЕННІ ТА ПРОГРЕСУВАННІ ПОРУШЕНЬ КЛІТИННОГО ГОМЕОСТАЗУ ЕПІТЕЛІОЦІТІВ ШЛУНКА, АСОЦІЙОВАНИХ З ВПЛИВОМ НА ОРГАНІЗМ ПАРІВ ТОЛУОЛУ

Федченко С.М., Галузіна Л.О.

Резюме. Під час проведеного дослідження на основі вивчення ядерного антигену проліферативних клітин (Ki-67) та апоптозу було визначено вплив інгаляції парів толуолу на основні показники клітинної проліферації епітеліоцитів слизової оболонки шлунка щурів (СОШ). В основі явища атрофії СОШ, виявленої при інгаляції толуолом, лежать процеси порушення клітинного оновлення, пов'язані з дисбалансом проліферації епітеліоцитів та їх загибеллю. Встановлено корелятивні зв'язки різної спрямованості між атрофією в СОШ та індексом проліферації ($r=+0,95$) і апоптозом ($r=-0,94$).

Ключові слова: проліферативна активність епітеліоцитів слизової оболонки шлунка (СОШ), інтоксикація толуолом, апоптоз.

UDC 576.367:591.433: 57.044

THE ROLE OF MARKERS OF CELL RENEWAL (KI-67) AND APOPTOSIS IN THE GENESIS AND PROGRESSION OF HOMEOSTASIS DISORDERS OF GASTRIC EPITHELIAL CELL, ASSOCIATED WITH EXPOSURE OF TOLUENE VAPOR ON THE ORGANISM

Fedchenko S.N., Galuzina L.O.

Summary. It was determined the effect of inhalation of toluene vapors of the basic parameters of proliferation of epitheliocytes of the mucous membrane of the stomach (MMS) of rats during the research, based on the study of nuclear antigen (Ki-67) of proliferating cells and apoptosis. The atrophy of MMS detected by inhalation toluene underlies the processes of cell renewal, associated with an imbalance of the proliferation of epithelial cells and their death. It was established the correlative links different directions between the atrophy of MMS and the proliferation index ($r=+0,95$) and the apoptosis ($r=-0,94$) one.

Key words: proliferative activity of epitheliocytes of the mucous membrane of the stomach (MMS), intoxication caused by toluene, apoptosis.

Стаття надійшла 15.03.2011 р.

УДК 616.381-002:616.383.428-089.819.1]-071:001.8

С.С.Філіп, Ю.П.Скрипинець, О.М.Вайнагій

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В БРИЖОВИХ ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛАХ СОБАК З ГОСТРИМ ПЕРИТОНІТОМ ПІД ВПЛИВОМ РЕГІОНАРНОЇ ЕНДОЛІМФАТИЧНОЇ КОМБІНОВАНОЇ ТЕРАПІЇ

Ужгородський національний університет (м. Ужгород)

Робота виконана в межах теми «Експериментально-клінічне обґрунтування використання високо- та низькоенергетичного лазерного випромінювання в хірургії, травматології та ортопедії» № ДБ-738П. № держ. реєстрації 0109U000893.

Вступ. При запальних процесах в організмі лімфатичні вузли виконують важливу захисну функцію, так як транспортують мікробних токсинів та метаболітів із ендотоксичного вогнища через лімфатичні судини здійснюється в регіонарні та колекторні лімфатичні вузли, які являють собою біологічний фільтр, який здатний механічно затримувати мікро-та макроагрегати лімфи, бактерії, уламки формених елементів, крупнокорпускулярні токсичні сполуки, продукують біологічно активні речовини. Лімфатична система забезпечує транспорт із парієтальних тканин та внутрішніх органів грубодисперсних сполук, уламків клітин, бактерій та їх токсинів, що зумовлює ефективність застосування

ендолімфатичної терапії в комплексному лікуванні перитонітів [1]. Згідно літературних даних, зміни в системі лімфоцитів периферичної крові відповідають змінам в регіонарних лімфатичних вузлах [2,5].

Мета роботи - вивчити системну реакцію брижових лімфатичних вузлів під впливом ендодулярного лазерного опромінення їх низькоенергетичним гелій-неоновим лазером червоного спектру.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом експериментальних досліджень були 30 безпородних короткошерстих статевозрілих самців собак з масою тіла 12-20 кг без явних ознак захворювань та з нормальними показниками лабораторних тестів (загальний аналіз крові та загальний аналіз сечі). Усім тваринам моделювали гострий розлитий каловий перитоніт за методикою [3], шляхом перфорації товстої кишки перфоруючим пристроєм із наступним зашиванням лапаротомної рани передньої черевної стінки