

ные режимы двигательной активности. В исследовании брали участие 84 особи, рожденные от экспериментальных самок, которые во время беременности имели разную двигательную активность: обычную, недостаточную и недостаточную, но с ежедневными недлительными умеренными тренировками. Установлено, что у потомства малоподвижных самок существенно увеличивался уровень кальция (в 1,2 раза,  $p < 0,05$ ), а уровень фосфора, наоборот, – снижался (в 1,2 раза,  $p < 0,05$ ), что в свою очередь обусловило падение соотношения Ca/P у 1,6 раза ( $p < 0,05$ ). Указанное может свидетельствовать о качественных изменениях в кристаллах гидроксиапатита с последующим формированием склонности к резорбтивным процессам. Применение у крыс умеренной физической нагрузки приводило к восстановлению показателей минерального обмена у их потомства, что является признаком регулирующего воздействия на гомеостаз животных.

#### **Summary**

THE CALCIUM AND PHOSPHORUS LEVELS IN THE BLOOD OF EXPERIMENTAL ANIMALS IN CONNECTION WITH THEIR MOTHERS' MOTOR ACTIVITY DURING PREGNANCY

Slinko Yu. A.

Key words: calcium, phosphorus, hypokinesia, test rats, pregnancy, posterity, functioning of organs and systems.

At present time there are investigations that confirm a primary reaction of bone tissue on hypokinesia that is typical for most people of the civilized world. But there is a lack of researches clarifying the influence of mothers' hypokinesia on the functioning of organs and systems in their posterities. Little attention is also paid to the prophylaxis of its consequences. Therefore the aim of the work is to assess calcium and phosphorus levels in the blood of experimental animals whose mothers during pregnancy experienced different physical activity. The investigation involved 84 descendant rats born from experimental females who had different motor activity during pregnancy: the usual, inadequate and insufficient, but with daily non-durable moderate training. It was found that hypokinetic rats' offsprings had reliably increased calcium (in 1.2 times,  $p < 0.05$ ), while the level of phosphorus decreased (in 1.2 times,  $p < 0.05$ ), that in turn led to falling value of Ca/P 1.6 times ( $p < 0.05$ ). Moderate physical exercises in rat females led to recovery in indices of the mineral metabolism in their posterities that is characteristic of the regulative influence on animals' homeostasis. Our findings testify to qualitative changes in hydroxyl-apatite crystals with post-forming tendency to resorption.

УДК 616.411 – 091.8 – 001.14 – 092.9

Сорокіна І.В., Бочарова Т.В., Бондаренко Л.О.

## **ВПЛИВ ТРИВАЛОГО ЦІЛОДОБОВОГО ОСВІТЛЕННЯ НА МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН СЕЛЕЗІНКИ КРОЛІВ**

Харківський національний медичний університет

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», Харків

Тривале світлове навантаження, яке в теперішній час розглядається як один з стресових фактів для організму, викликає порушення нейроендокринної системи та може бути причиною імунної дисфункції. Вивчені морфо-функціональні особливості селезінки при тривалому цілодобовому освітленні в експерименті на кролях, які утримувалися при різних світлових режимах. Контрольні тварини знаходились в умовах природної зміни дня та ночі. Піддослідні кролі у день знаходилися при природному світлі, уночі – під електричним. Встановлено, що після 3 місяців цілодобового освітлення визначається збільшення маси селезінки, обумовлене гіперплазією білої пульпи та підвищеннем клітинності Т та В-зон. Після 6 місяців експерименту маса селезінки була зменшеною, гістологічно виявляється гіпоплазія білої пульпи, зменшення розмірів та кількості лімфоїдних фолікулів, підвищене утворення сполученої тканини та дегенеративні зміни лімфоцитів. Зміни в селезінці, обумовлені тривалим цілодобовим освітленням, свідчать про передчасне старіння селезінки та, ймовірно, імунної системи в цілому.

Ключові слова: імунна система, стрес, тривале цілодобове освітлення, селезінка, морфологія.

Імунна система відрізняється дуже динамічним розвитком у різні періоди онтогенезу. Вона досить рано досягає зрілості, є надзвичайно чуттєвою до дій шкідливих факторів і водночас досить швидко починає вікову інволюцію. До шкідливих факторів традиційно відносять стреси, неправильне харчування, куріння, алкоголь та ін. Але дуже рідко серед факторів, що приводять до передчасного старіння, відзначають порушення світлового режиму. Слід відзначити, що з кожним роком зростає кількість людей, які в темний час доби знаходяться в умовах штучного осві-

лення. І дуже прикро, що серед таких людей переважають діти, підлітки та молоді люди.

В попередніх дослідженнях, що проведені в ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» протягом 2001 – 2014 рр., було встановлено, що внаслідок тривалого цілодобового освітлення (1 – 5 місяців) у піддослідних тварин розвивається гіпопінеалізм, внаслідок чого спостерігаються ознаки передчасного старіння ендокринної, статової та серцево-судинної систем [1, 2]. Однак реакція органів імунної системи в динаміці розвитку гло-

пінеалізму ще й донині залишається не вивченою.

З даних літератури відомо, що з віком концентрація мелатоніну у всіх ссавців (зокрема, людини) прогресивно зменшується [3, 4], що прямо корелює з показниками тривалості життя. Доведено також, що під час сну, коли відзначається пік концентрації мелатоніну, посилюється функціональна активність імунної системи. Крім того, паралельно протікають процеси старіння епіфіза мозку та тимуса. Тому досить ймовірно, що вікова інволюція імунної системи пов'язана насамперед зі зниженням функціональної активності пінеальної залози [5, 6]. Тому це дослідження спрямовано на вивчення впливу гіпопінеалізму, обумовленого світловим стресом, на функціонування імунної системи в цілому.

#### Мета дослідження

Визначення впливу тривалого цілодобового освітлення на морфо-функціональний стан селезінки.

#### Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено на 35 молодих статевозрілих кролях, яких утримували в умовах віварію на стандартному рационі, але у різних режимах освітлення. Контрольну групу тварин (7 кролів) утримували в умовах природної зміни дня та ночі, піддослідних (28 кролів) – в умовах цілодобового освітлення (вдень – природне освітлення, вночі – електричне). Інтенсивність штучного освітлення складала 30-40 люкс, тривалість експерименту – 6 місяців.

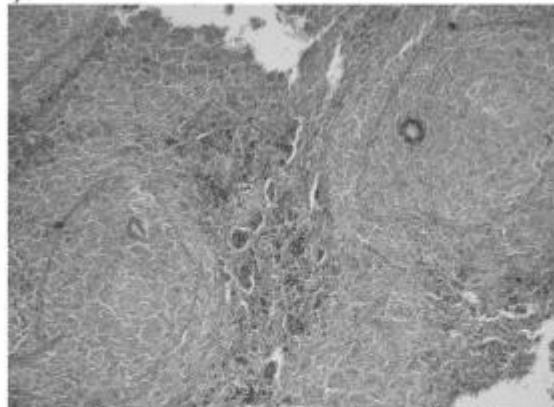
Після вищукання селезінки визначали масу органу та процентне відношення її до маси тіла кроля. Шматочки селезінки фіксували в 10 % формаліні, проводили крізь спирти в наростиючій концентрації й заливали в парафін. Після чого готували зрізи товщиною 5 мкм, які зафарбовували гематоксилін-еозином, пікрофуксіном за методом Ван-Гізона, за методом Малорі. Мікроскопічні дослідження виконані на мікроскопі Olympus BX-41.

Отримані цифрові дані оброблялися методами варіаційної статистики, вірогідність відмінностей між середніми у малих вибірках визначали за допомогою критерію Стюдента. Математичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою пакету прикладних програм фірми Microsoft «EXCEL».

#### Результати дослідження та їх обговорення

Встановлено, що середня маса інтактних кролів склала  $3676 \pm 146,9$  г, маса селезінки –  $3,2 \pm 0,1$  г, що становило 0,08 % від маси кроля. При гістологічному дослідженні селезінки інтактних кролів виявлена тонка капсула, представлена волокнистою сполучною тканиною, в товщі паренхіми відходили слабо фуксінофільні трабекули. Ділення на червону й білу пульпу чітке. У білій пульпі виявляються ніжні ретикулярні во-

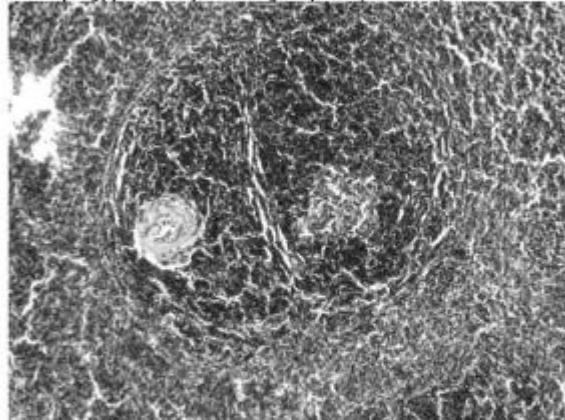
локна, забарвлені по Малорі в синій колір (мал. 1).



Малюнок 1 Структура селезінки інтактного статевозрілого кроля, фарбування за Малорі, зб. x 100

Фолікули середніх розмірів, переважно овально-округлої форми, кількість фолікул складала  $4,2 \pm 0,15$  екз. у полі зору. Визначається виражена периarterіальна Т-зона з великою щільністю клітин. Центральні артерії частіше були розташовані ексцентрично, стінки тонкі, чітко визначається просвіт. Щільність клітин у В-зоні помітно нижча, ніж в Т-зоні. Світлі центри розмноження практично не зустрічалися. Червона пульпа представлена великою кількістю венозних синусів, заповнена кров'ю, що містить еритроцити, лімфоцити і нейтрофільні лейкоцити. Між венозними синусами виявляються тонкі тяжі волокнистої сполучної тканини.

У групі піддослідних тварин після 2 місяців світлового навантаження середня маса кроля й маса селезінки достовірно не відрізнялась від контрольної групи й склала, відповідно,  $3583,8 \pm 216,3$  г та  $2,9 \pm 0,2$  г, що становило 0,08 % від маси тіла. Мікроскопічно капсула та трабекули тонкі, слабо фуксінофільні. Незначна кількість волокнистої сполучної тканини визначається у стінці судин і периваскулярно (мал. 2).

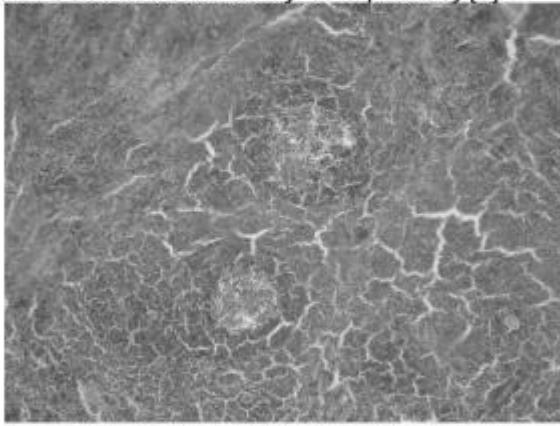


Малюнок 2 Структура селезінки статевозрілого кроля після 2-місячного цілодобового освітлення, фарбування за ван Гізона, зб. x 200

Поділ на червону й білу пульпу чіткий, у білій

пульпі визначається велика кількість ніжних ретикулярних волокон. Фолікули здебільшого великі, переважно округлої форми з вузькою і густоклітинною Т-зоною і широкою маргінальною В-зоною. Кількість фолікул складає  $3,75 \pm 0,26$  екз. у полі зору, що достовірно не відрізняється від аналогічних показників у інтактних кролів. В Т-зоні визначається велика щільність лімфоцитів, тоді як у В-зоні щільність клітин значно нижча. Центральна артерія розташована переважно ексцентрично, стінка місцями набрякла, але просвіт визначається. Гістологічно структура червоної пульпи не відрізняється від такої в групі контролю.

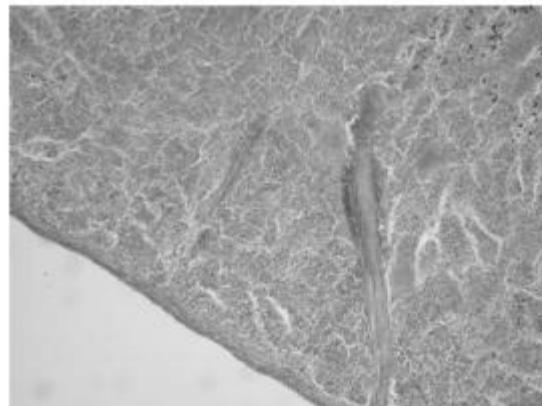
У кролів, починаючи з 4 місяця експерименту, відзначалося достовірне ( $P < 0,001$ ) збільшення маси селезінки ( $4,2 \pm 0,2$  г). Маса селезінки складає 0,1 % від маси тіла ( $3948,6 \pm 301,1$  г), що також більше, ніж у кролів контрольної групи. Гістологічно відзначаються ознаки гіперплазії білої пульпи, лімфоїдні фолікули досить крупні, переважно округлої форми. Кількість фолікул у полі зору складає  $3,57 \pm 0,39$  екз. Навколо ексцентрично розташованих центральних артерій визначається густо клітинна Т-зона, маргінальна В-зона з помітно меншою кількістю клітин. Характерним виявилася велика кількість фолікул з реактивними світлими центрами (мал. 3), що може бути слідством стимулюючої дії світлового навантаження на початку експерименту [7].



Малюнок 3. Структура селезінки статевозрілого кроля після 3-місячного цілодобового освітлення, фарбування гематоксиліном-еозіном, зб. x 100

У красній пульпі визначалася велика кількість зруйнованих еритроцитів та гемосидеріну, розташованого позаклітинно. Мік венозними синусами виявлені тонкі прошарки сполученої тканини.

У кролів після 6 місяців експерименту середня маса тіла складає  $4306,2 \pm 164,6$  г. Відзначається зменшення маси селезінки та процентного відношення до маси тіла (відповідно  $2,4 \pm 0,3$  г та 0,06 %), що достовірно ( $P < 0,05$ ) нижче, ніж у інтактних кролів. Гістологічно капсула селезінки значно потовщена, представлена грубою волокнистою сполученою тканиною, різко фуксинофільна. Трабекули також різко потовщені, відходять в товщу паренхіми (мал. 4).



Малюнок 4 Структура селезінки статевозрілого кроля після 6-місячного цілодобового освітлення, фарбування за ван Гісон, зб. x 100

Ділення на білу і червону пульпу зберігається. Відносний обсяг білої пульпи візуально зменшений. Ретикулярні волокна грубі, місцями значно потовщені. Лімфоїдні фолікули дрібні, неправильної форми. Кількість їх у полі зору складає  $2,67 \pm 0,19$  екз., що достовірно ( $P < 0,01$ ) менше, ніж у попередніх групах. Візуально визначається зниження щільноти клітинних елементів, як в Т- так і в В-зонах. Велика кількість деструктивно змінених клітин і клітин у стані апоптозу. Гіпоцелюлярність лімфоїдної тканини може бути пов'язана з порушенням трафіку, пригніченням процесів проліферації або з надлишковою загибеллю імуноцитів [8]. Центральні артерії з різко потовщеними, набряклими й різко фуксинофільними стінками, які місцями гомогенізовані за рахунок плазматичного просочування. Просвіти окремих судин ледве візуалізуються. Підвищено утворення сполученої тканини, виявлене у селезінці піддослідних тварин, може бути слідством передчасної вікової інволюції органу [9]. Крім лімфоцитів і макрофагів визначається велика кількість нейтрофільних лейкоцитів. В-зона визначається не чітко і не у всіх фолікулах. Світлі центри розмноження відсутні в більшій частині препаратів. Червона пульпа представлена венозними синусами, переповненими кров'ю. З клітин переважають еритроцити, здебільшого загиблі. Звертає на себе увагу різке збільшення кількості залізоутримуючого пігменту, що має позаклітинну локалізацію. Між синусами в товщі червоної пульпи виявлені товсті, різко фуксинофільні сполученотканинні прошарки.

#### Висновки

1. Починаючи з 4 місяця експерименту визначається достовірне збільшення маси селезінки, пов'язане з вираженою гіперплазією білої пульпи внаслідок збільшення клітинності в Т- і В-зонах. Визначається значна кількість великих світлих центрів розмноження, що можливо є наслідком стимулюючої дії світлового навантаження на початку експерименту.

2. Після 6 місяців експерименту виявляється

достовірне зменшення органометрических показників і процента відношення маси селезенки до маси кроля унаслідок різкої гіпоплазії білої пульпи та атрофії періартеріальних муфт на тлі різкого потовщення і набряку стінок центральних артерій, облітерації просвіту окремих судин і вираженого періваскулярного склерозу.

3. Необхідне подальше вивчення впливу тривалого цілодобового освітлення з використанням імуно-гістохімічних методів, що дозволить зробити висновки щодо функціонального стану імунної системи у цілому.

### Література

- Бондаренко Л.О. Динаміка добових ритмів гормональної активності щитовидної залози при гіпопіеалізмі, індукованому тривалим цілодобовим освітленням / Л.О. Бондаренко, Н.М. Сотник // Проблеми ендокринної патології. – 2010. – № 4. – С. 71 – 77.
- Коркушко О.В. Функціональна недостаточність епіфиза і артеріальна гіпертензія: експериментально-клініческе исследование / О.В. Коркушко, Л.А. Бондаренко, В.Б. Шатило // Журнал АМН України. – 2008. – Т.14, № 2. – С. 373 – 381.
- Karasek M. Melatonin, human aging and age-related diseases / M. Karasek // Gerontology – 2004. – V. 39, № 11-12. – P. 1723 – 1729.
- Гончарова Н.Д. Пінеальна жлеза и возрастная патология (механизмы и коррекция) / Н.Д. Гончарова, В.Х. Хавинсон, В.Г. Морозов. – СПб.: Наука, 2007. – 168 с.
- Carrillo-Vico A. A review of the multiple actions of melatonin on the immune system / A. Carrillo-Vico, J.M. Guerrero, P.J. Lardone [et al.] // Endocrinology. – 2005. – V. 27, № 2. – P. 189 – 200.
- Кветній И.М. Функциональное единство тимуса и pineальной железы в исследовании механизмов старения / И.М. Кветній, В.Х. Хавинсон, В.О. Полякова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011. – № 5. – С. 565 – 568.
- Аталикова А.С. Морфофункциональная характеристика селезенки грызунов, подверженных влиянию Тамиртауского промышленного комплекса / А.С. Аталикова, В.И. Медведев, Н.Т. Ержанов // Вестник Карагандинского университета. – 2008. – № 4. – С. 52 – 60.
- Nesterova A.A. Morfologicheskaja i immunogistochemicheskaja charakteristika selezenki pri hronicheskom stresse v gannem postnatalnom ontogenese: avtoreférat diss. na soiskanie uchenoy stepeni kandidata biol. nauk spec 03.00.25 «Gistologija, citologija, kletochnaja biologija» / A.A. Nesterova. – Volgograd, 2007. – 127 s.
- Moldavskaja A.A. Morfologicheskie kriterii stroenija selezenki v postnatalnom ontogenese / A.A. Moldavskaja, A.V. Dolin // Uspehi sovremennoego estestvoznanija. – 2009. – № 2. – S. 15 – 18.

### Реферат

ВЛИЯНИЕ ДЛЯТЕЛЬНОГО КРУГЛОСУТОЧНОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЕЛЕЗЕНКИ КРОЛИКОВ

Сорокина И.В., Бочарова Т.В., Бондаренко Л.А.

Ключевые слова: иммунная система, стресс, длительное круглосуточное освещение, селезенка, морфология.

Длительная световая нагрузка, которая в настоящее время рассматривается как один из стрессовых факторов для организма, вызывает нарушения функционирования нейроэндокринной системы и может быть причиной иммунной дисфункции. Изучены морфофункциональные особенности селезенки при длительном круглосуточном освещении в эксперименте на кроликах, которые содержались при разных световых режимах. Контрольные животные находились в условиях природной смены дня и ночи. Подопытные кролики днем находились при естественном освещении, ночью – при электрическом. Установлено, что после 3 месяцев круглосуточного освещения отмечается увеличение массы селезенки, обусловленное гиперплазией белой пульпы и увеличением клеточности Т и В-зон. После 6 месяцев эксперимента масса селезенки была уменьшена, гистологически отмечается гипоплазия белой пульпы, уменьшение размеров и количества лимфоидных фолликулов, повышенное образование соединительной ткани и дегенеративные изменения лимфоцитов. Изменения в селезенке, обусловленные длительным круглосуточным освещением, свидетельствуют о преждевременном старении как селезенки, так, вероятно, всей иммунной системы в целом.

### Summary

THE INFLUENCE OF PROLONGED ALL-DAY ILLUMINATION ON MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL STATE OF RABBITS' SPLEEN

Sorokina I.V., Bocharova T.V., Bondarenko L.A.

Key words: spleen, rabbits, lightning conditions, morphological and functional state.

Prolonged all-day illumination is considered nowadays as one of the stress-factors for a living organism and causes malfunctions of the neuroendocrinal system and may entail immune dysfunction. This paper described morphological and functional changes in the spleen under prolonged all-day illumination modeled on rabbits, which were kept in different light modes. Control animals were kept in natural day and night lighting conditions. Test rabbits were kept under natural lighting in the day period and under electric lighting in the night. It was observed that the weight of the spleen increased under the 24-hour lighting after three months that was caused by the hyperplasia of the white pulp, and an increased number of cells in T- and B-zones.

After 6 months of the experiment the weight of the spleen reduced. Histological study revealed hypoplasia in the white pulp, reduction in the size and number of lymphoid follicles, intensified formation of the connective tissue, degenerative changes in lymphocytes. These changes in the spleen caused by the prolonged all-day illumination indicate both a premature aging of the spleen and probably of all the immune system.

УДК 616.24-006:616-018(-07)

Філенко Б.М., Гасюк Ю.А., Проскурня С.А., Ройко Н.В.

## **ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ ВИСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ЦИТОКЕРАТИНУ ТА Е-КАДГЕРИНУ ПРИ ПЛОСКОКЛІТИННОМУ РАКУ ЛЕГЕНЬ З ОРОГОВІННЯМ**

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Вивчення молекулярних показників диференціювання неопластичної клітини має важливе інформативне значення для обґрунтування морфогенезу та прогнозування перебігу онкозахворювань. Метою дослідження було вивчення експресії високомолекулярного цитокератину та Е-кадгерину в пухлинних комплексах плоскоклітинного раку легень з ороговінням. При проведенні імуноістохімічного дослідження в якості первинних використовували моноклональні антитіла Е-кадгерин та високомолекулярного цитокератину – СК HMW. Виявлено, що в пухлинних комплексах з різними гістохімічними типами «ракових перпин» спостерігається неоднакова експресія цитокератину та Е-кадгерину в зонах інвазії, проліферації та диференціювання, що пов’язано з порушеннями процесу ороговіння та клітинної адгезії. У ракових комплексах з ліпід-вмісними перпинами спостерігається явище дискератозу. ШИК-позитивні ракові перпини формуються в результаті розвитку паракератозу. Ракові комплекси з тіонін-позитивними «раковими перпинами» характеризуються розвитком аіперкератозу. Результати дослідень свідчать про необхідність оцінки онкомаркерів міжклітинної адгезії та кератиноутворення ракових комплексів для повноцінного морфологічного аналізу плоскоклітинного раку легень з ороговінням.

Ключові слова: плоскоклітинний рак легень з ороговінням, цитокератин, Е-кадгерин.

Робота є фрагментом НДР «Клініко-функціональні та морфологічні особливості перебігу захворювань респіраторної системи (туберкульоз, саркоїдоуз, дисемінованих процесів та ХНЗЛ) на різних етапах лікування, реабілітації та профілактики», № держреєстрації 0110U008151.

### **Вступ**

В більшості розвинених країн рак легень є найбільш розповсюдженою формою пухлин у чоловіків і залишається однією з найважливіших медичних та соціально-екологічних проблем [15].

Одним з морфологічних показників, що найчастіше визначається в пухлинах, є ступінь диференціювання. Важливим показником диференціювання неопластичних клітин є їх ультраструктурна організація. Способ, що дозволяє уточнити цей аспект полягає у вивченні спектру синтезованих раковою клітиною білків, зокрема цитокератинів, які є складовою цитоскелету [1, 5].

Плоскоклітинна диференціація клітин характеризується наявністю трьох ультраструктурних ознак: зерен кератогіаліну, тонофіламентів та десмосомальних контактів. За ультраструктурними ознаками при плоскоклітинних карциномах розрізняють високодиференційовані неопластичні клітини, які мають всі три ознаки; малодиференційовані – мають дві ознаки та низькодиференційовані – наявна лише одна ознака або вони відсутні [4].

Плоскоклітинний рак легень з ороговінням відносяться до високодиференційованих пухлин, тобто має три ознаки ультраструктурної диференціації та гістологічно характеризується формуванням «ракових перпин» з різним ступенем ороговіння, тобто синтезу кератогіаліну [9].

В основі порушення процесів ороговіння ле-

жить зміна регуляції клітинного циклу та морфологічних реакцій клітин, послаблення індукції в них апоптозу та блокування диференціювання, що виникає внаслідок генетичної мінливості та клональної селекції в ході пухлинної прогресії [3, 10].

Важливу роль при формуванні тканини відіграє міжклітинна адгезія, що забезпечується специфічними трансмембраними молекулами – кадгеринами. Розрізняють декілька типів кадгеринів, найважливішим з яких у карциномах є епітеліальний Е-кадгерин [8]. Невисока експресія Е-кадгерину в епітеліальних новоутвореннях асоційована з низькою диференціацією пухлини, локальною інвазією, метастазуванням в региональні лімфовузли та низькою тривалістю життя [16].

Отже, дослідження описаних молекулярних властивостей неопластичної клітини за допомогою імуноістохімічного методу дослідження має важливе інформативне значення для обґрунтування морфогенезу та прогнозування перебігу онкозахворювань [5, 13].

### **Мета**

Дослідити особливості експресії високомолекулярного цитокератину та Е-кадгерину в пухлинних комплексах з різними гістохімічними типами «ракових перпин» при плоскоклітинному раку легень з ороговінням.