

С. А. Шерстюк

Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, г. Харьков

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АДЕНОГИПОФИЗА МЕРТВороЖДЕННЫХ ОТ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ МАТЕРЕЙ

Морфологические изменения аденогипофиза мертворожденных от ВИЧ-инфицированных матерей свидетельствуют о том, что он испытывал высокое функциональное напряжение на протяжении длительного периода внутриутробного развития, что привело к угнетению его функционального состояния в виде снижения интенсивности свечения препаратов аденогипофиза обработанных МКА к АКТГ, по сравнению с контролем. Угнетение функциональной активности данной популяции клеток аденогипофиза свидетельствует о срыве компенсаторных возможностей органа, которое в дальнейшем может явиться причиной развития тяжелых эндокринопатий. Угнетение функционального состояния аденогипофиза мертворожденных от ВИЧ-инфицированных матерей является следствием длительного использования компенсаторных возможностей органа, что в дальнейшем может явиться причиной развития декомпенсации в виде тяжелых эндокринопатий.

Ключевые слова: аденогипофиз, ВИЧ-инфекция, мертворожденный.

Работа является фрагментом НИР «Патоморфологические особенности формирования плода и новорожденного под влиянием патологии матери», № государственной регистрации 0110U001805.

Формирование центрального органа эндокринной системы плода – аденогипофиза, происходит в первую очередь, наряду с сердцем и головным мозгом [5]. Известно, что нарушение структуры и функции различных отделов гипофиза сопровождается полигландулярными расстройствами в постнатальном периоде онтогенеза. Данные указывающие на нарушение структурной дифференцировки аденогипофиза, на этапах развития, обусловленные развитием беременности на фоне соматических заболеваний матери, акушерской патологии, влияния профессиональных вредностей, в доступной литературе имеются [2, 5, 9]. Однако морфологических данных аденогипофиза мертворожденных от ВИЧ-инфицированных матерей, в доступной литературе найти не удалось. На наш взгляд изучение данной проблемы является весьма актуальным, так как количество случаев инфицирования ВИЧ женщин репродуктивного возраста и беременных неуклонно растет [4, 6].

Целью работы было выявление иммуногистохимических особенностей аденогипофиза мертворожденных от ВИЧ-инфицированных матерей.

Материал и методы исследования. Материалом исследования послужили мертворожденные от ВИЧ-инфицированных матерей. Материал был собран в период с 1998 по 2010 гг. Одесским патологоанатомическим бюро. Исследуемую группу (группа М) составили 20 мертворожденных от матерей с серологически подтвержденной ВИЧ-инфекцией. Для получения достоверных данных материал подбирался тщательно, поэтому ни в одном из этих наблюдений не были зарегистрированы оппортунистические заболевания. Смерть мертворожденных наступила вследствие острого нарушения пуповинно-плацентарного кровообращения (отслойка плаценты, обвитие пуповины вокруг различных частей тела плода) и родовой травмы. В группу контроля (группа К) вошли мертворожденные, от здоровых матерей (12 случаев), умерших по причине острого нарушения пуповинно-плацентарного кровообращения и родовой травмы. Срок гестации всех мертворожденных составил от 36 недель до 40 недель.

Аденогипофиз измерялся и взвешивался. Вырезались кусочки которых после спиртовой проводки заливались в целлоидин-парафин и изготавливались срезы толщиной 5-6 мкм. Эти срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизон и по методу Маллори. Иммуногистохимическое исследование производилось с использованием непрямого метода Кунса в модификации М. Brosnan (1979) [1]. АКТГ (адренкортикотропный гормон) и ТТГ (тиреотропный гормон) выявляли с помощью МКА (моноклональные антитела) к АКТГ и ТТГ фирмы Chemicon international (a Serological company). Иммуногистохимическое исследование проводилось в люминисцентном микроскопе «Axioskop 40» с использованием программного обеспечения Biostat. exe. Оптическую плотность иммуофлюоресценции определяли по методу Губиной-Вакулик Г.И. и соавторов (Губина-Вакулик Г.И., Сорокина I.B., Марковский В.Д., Куприянова Л.С., Сидоренко Р.В. «Спосіб кількісного визначення вмісту антигену в біологічних тканинах». Патент на корисну модель № 46489 G01N 33/00, 24.12.2009. Бюл. №4). Комплекс гистологических, морфометрических, исследований проводился на микроскопе Olympus BX-41 с

использованием программ Olympus DP-Soft (Version 3:1) и Microsoft Excel [3]. Плотность клеточных элементов пересчитывалась при увеличении 400, в 10 ограниченных полях зрения. Все цифровые данные обрабатывались методами математической статистики с использованием вариационного и альтернативного анализа [3]. При использовании методов альтернативной и вариационной статистики вычисляли среднюю арифметическую степень дисперсии, среднеквадратическое отклонение, среднюю ошибку разницы, вероятность различия. Вероятность различия между двумя средними при малых выборках определяли по таблице Стьюдента с соблюдением условия (n_1+n_2-2) [7]. При определении степени вероятности допускали точность $p < 0,05$, что, как известно, соответствует $P > 95,0\%$.

Результаты исследований и их обсуждение. Аденогипофиз мертворожденных от ВИЧ-инфицированных матерей был покрыт соединительнотканной капсулой, от которой вглубь железы отходили перегородки, разделяющие железу на дольки. Микроскопически в аденогипофизе были различимы эпителиальные трабекулы, формирующие густую сеть, в промежутках между которыми определялась рыхлая волокнистая соединительная ткань и синусоидные капилляры (рис. 1). По периферии трабекул определялись хромофильные клетки, а в центральных отделах располагались хромофобные эндокриноциты.

Хромофильные эндокриноциты были представлены, в зависимости от окраски их секреторных гранул, базофильными эндокриноцитами, секреторные гранулы которых окрашивались основными красителями и ацидофильными эндокриноцитами, их секреторные гранулы окрашивались кислыми красителями. Тиреотропоциты, являющиеся представителями базофильных эндокриноцитов, имели полигональную форму, овальное ядро и хорошо выраженный аппарат Гольджи. Иммуногистохимическое исследование данной популяции клеток аденогипофиза группы М выявило преимущественно яркое свечение тиреотропоцитов в препаратах, обработанных МКА к ТТГ (рис. 2). Оптическая плотность иммунофлюоресценции тиреотропоцитов в аденогипофизе мертворожденных от ВИЧ-инфицированных матерей оказалась выше контрольного показателя (таблица 1). Адренкортикотропоциты имели неправильную форму, дольчатое ядро, занимающее центральное положение в клетке, а в цитоплазме этих клеток определялся хорошо выраженный аппарат Гольджи. Интенсивность свечения адренкортикотропоцитов, обработанных МКА, была неравномерной – от слабой до яркой (рис. 3). При этом показатель оптической плотности оказался ниже контрольного (таблица 1).

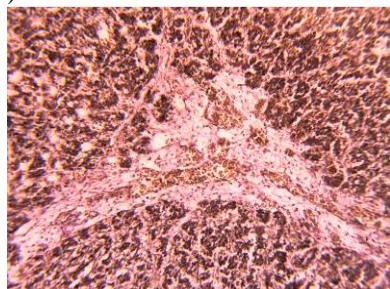


Рисунок 1. Аденогипофиз мертворожденного от ВИЧ-инфицированной матери. Сеть полнокровных синусоидных капилляров с рыхлым периваскулярным склерозом. Окраска по методу ванГизон. $\times 100$

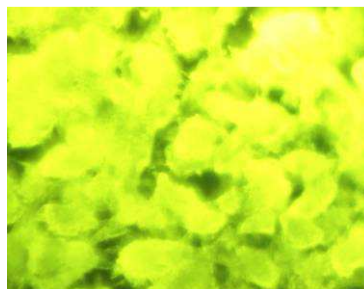


Рисунок 2. Преимущественно яркое свечение тиреотропоцитов, экспрессирующих рецепторы к ТТГ в аденогипофизе мертворожденного от ВИЧ-инфицированной матери. Прямой метод Кунса с МКА к АКТГ, $\times 600$

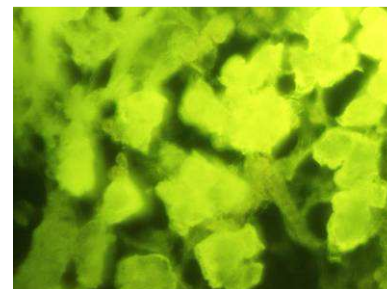


Рисунок 3. Неравномерной интенсивности свечение адренкортикотропоцитов в аденогипофизе мертворожденного от ВИЧ-инфицированной матери. Прямой метод Кунса с МКА к АКТГ, $\times 600$

Известно что, патологическое течение беременности может усиливать либо подавлять функциональную активность аденогипофиза. Характер изменений функционального состояния аденогипофиза эмбрионов и плодов тесно связан со временем начала и длительностью действия патологического фактора [2, 8]. Кратковременное действие повреждающего агента (острая инфекция) способствует активизации функционального состояния аденогипофиза, а длительное действие (длительно текущий поздний токсикоз, сердечно-сосудистая патология, профвредности и др.) - может привести к угнетению (иногда резкому) функционального состояния аденогипофиза, что проявляется снижением активности ферментов и клеточных белков [2, 8, 9, 10].

Проведенное нами иммуногистохимическое исследование эндокриноцитов, аденогипофиза мертворожденных от ВИЧ-инфицированных матерей, показало, что популяция тиреотропоцитов имела преимущественно яркое свечение в препаратах, обработанных МКА к ТТГ, а показатель

оптической плотности аденокортикотропозитов, обработанных МКА, оказался ниже контрольного, что, безусловно, свидетельствует о высоком функциональном напряжении аденогипофиза данной исследуемой группы [2].

Таблица 1

Оптическая плотность иммунофлюоресценции гормонов в клетках аденогипофиза (условные единицы)

Группы сравнения	АКТГ	ТТГ
К	0,174±0,006	0,153±0,003
М	0,155±0,005*	0,168±0,006*

* P<0,05 по сравнению с К.

Таким образом, учитывая морфологические изменения аденогипофиза мертворожденных от ВИЧ-инфицированных матерей, которые свидетельствуют о состоянии высокого напряжения функциональной активности органа, граничащего со срывом, можно предположить, что орган испытывал высокое функциональное напряжение на протяжении длительного периода внутриутробного развития, что и привело к угнетению его функционального состояния, на что указывает снижение интенсивности свечения препаратов аденогипофиза обработанных МКА к АКТГ, по сравнению с контролем.

Выводы

1. Иммуногистохимическое исследование эндокриноцитов, аденогипофиза мертворожденных от ВИЧ-инфицированных матерей выявило высокое функциональное напряжение органа, проявившееся уменьшением оптической плотности аденокортикотропозитов, обработанных МКА к АКТГ.
2. Угнетение функционального состояния аденогипофиза мертворожденных от ВИЧ-инфицированных матерей является следствием длительного использования компенсаторных возможностей органа, что в дальнейшем может явиться причиной развития декомпенсации в виде тяжелых эндокринопатий.

Перспективы дальнейших исследований. Перспективным является иммуногистохимическое исследование аденогипофиза детей, умерших в возрасте до 6 месяцев от ВИЧ-инфицированных матерей.

Список литературы

1. Атраментова Л. А. Статистические методы в биологии / Л. А. Атраментова, О. М. Лутевская // Горловка, - 2008. - 247 с.
2. Деревцов В. В. Состояние здоровья и адаптационно-резервные возможности в неонатальном периоде новорожденных детей матерей с анемиями / В. В. Деревцов // Фундаментальные исследования. - 2010. - № 8 - С. 10-21.
3. Лапач С. К. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. / С. К. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич // - К.:МОРИОН, - 2001. - С. 144-155.
4. Марциновская В. А. Эпидемиологическая характеристика ВИЧ-инфекции у детей, рожденных ВИЧ-инфицированными женщинами, в Украине / В. А. Марциновская // Український медичний часопис. - 2006. - №1. - С. 109-113.
5. Милованов А. П. Внутриутробное развитие человека / А. П. Милованова, С. В. Савельева // - М.: «МДВ», - 2006. - 384 с.
6. Ніколаєнко Д. В. Характеристика епідемічної ситуації з ВІЛ/СНІД в адміністративних областях України на базі ГІС / Д. В. Ніколаєнко, М. О. Трюхан // Вісник геодезії та картографії. - 2007. - №4. - С. 28 - 31.
7. Сергиенко В. И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В. И. Сергиенко, И. Б. Бондарева // - М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, - 2000. - 256 с.
8. Шабалов Н. П. Асфиксия новорожденных / Н. П. Шабалов, В. А. Любименко, А. Б. Шабалов [и др.] // - М.: МЕДпресс-информ. - 2003. - 368 с.
9. Щеплягина Л. А. Состояние здоровья новорожденных от матерей с увеличением щитовидной железы / Л. А. Щеплягина, О. С. Нестеренко, Н. А. Курмачева // Рос. педиатр, журнал. - 2009. - № 4. - С. 56-58.
10. Smith R. Alterations in the hypothalamic pituitary adrenal axis during pregnancy and the placental clock that determines the length of parturition / R. Smith // - J.Reprod.Immunol.-1998.-Vol.39.-N1-2.-P.215-220.

Реферати

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ АДЕНОГІПОФІЗА МЕРТВОНАРОДЖЕНИХ ВІД ВІЛ-ІНФІКОВАНИХ МАТЕРІВ

Шерстюк С. О.

Морфологічні зміни аденогипофиза мертворожденных від ВІЛ-інфікованих матерів свідчать про те, що він відчував високе функціональне напруження протягом тривалого періоду внутрішньоутробного розвитку, що призвело до пригнічення його функціонального стану у вигляді зниження інтенсивності світіння препаратів аденогипофиза оброблених МКА до АКТГ, в порівнянні з контролем. Пригнічення функціональної активності

IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF ADENOHYPOPHYSIS STILLBIRTHS FROM HIV-INFECTED MOTHERS

Sherstiuk S. A.

Morphological changes of adenohipophysis stillbirths from HIV-infected mothers indicate that he felt highly functional stress for a long period of fetal development, leading to inhibition of its functional state in the form of reduced intensity of luminescence drugs adenohipophysis ICA processed to ACTH, compared with the control. Suppression of the

популяції клітин аденогіпофіза свідчить про зрив компенсаторних можливостей органу, яке в подальшому може стати причиною розвитку важких ендокринопатій. Пригнічення функціонального стану аденогіпофіза мертвонароджених від ВІЛ-інфікованих матерів є наслідком тривалого використання компенсаторних можливостей органу, що надалі може стати причиною розвитку декомпенсації у вигляді тяжких ендокринопатій.

Ключові слова: аденогіпофіз, ВІЛ-інфекція, мертвонароджений.

Стаття надійшла 15.10.2014 р.

functional activity of the cell population adenohypophysis shows the breakdown of compensatory capacity of which may subsequently cause of severe endocrinopathy. Inhibition of the functional state of the adenohypophysis stillbirths from HIV-infected mothers is the result of prolonged use of compensatory capacities of the body that can further cause of decompensation in a serious endokrynopathy.

Key words: anterior pituitary, HIV infection, stillborn.

Рецензент Старченко І.І.

УДК 616.5-001.17-091.8-076]-092.9

С. Б. Крамар, К. С. Волков, А. О. Котик
ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ
України", м. Тернопіль

ГІСТОЛОГІЧНІ ТА ГІСТОХІМІЧНІ ЗМІНИ УШКОДЖЕНОЇ ДІЛЯНКИ ШКІРИ В ДИНАМІЦІ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ

В експерименті на морських свинках проведені гістологічні та гістохімічні дослідження ушкодженої ділянки шкіри в різні терміни після тяжкої термічної травми. Встановлено, що ступінь деструктивних змін епідермісу та дерми залежить від терміну після опіку. Значні судинні розлади та пошкодження структурних компонентів сполучної тканини, зміни її гістохімічних показників пригнічують регенераторні процеси як в центральній, так і в крайовій ділянці рани.

Ключові слова: гістологічні та гістохімічні зміни, шкіра, термічна травма.

Робота є фрагментом НДР "Ремоделювання кровоносних русел внутрішніх органів та тканин при різних патологічних станах в експерименті", номер державної реєстрації 0111U008026.

Аварії та пожежі на виробництві, транспорті, техногенні катастрофи, терористичні акти, збройні конфлікти, побутовий травматизм – все це невід’ємні складові сучасного життя. У зв’язку з цим кількість травм взагалі, а, зокрема, і термічних у світі зростає [2, 7]. Частота опіків у розвинутих країнах сягає 1:1000 населення в рік, а летальність коливається від 1,5 до 5,9 % при цьому 85–90 % постраждалих – це люди працездатного віку [5]. Безпосереднього ушкодження при опіках зазнає зовнішній покрив людини. У шкірі добре розвинені процеси регенерації, в основі яких лежать механізми міграції та мітотичного поділу клітин дерми та епідермальних клітин. Проблемою відновлення пошкоджених тканин займаються з давніх часів, оскільки тільки маючи точне уявлення про функції і механізми взаємодії клітин, що беруть участь в раневому процесі, можна розробити раціональні, високоефективні методи лікування ран та попередити виникнення ускладнень їх перебігу [3, 6, 8]. Але до цього часу патогенез опікової рани залишається не до кінця вивченим.

Метою роботи було встановлення гістологічного та гістохімічного стану епідермісу та дерми шкіри морських свинок в динаміці після експериментальної термічної травми.

Матеріал та методи дослідження. Експериментальні дослідження виконано на 25 статевозрілих морських свинках. При проведенні досліджень дотримувалися міжнародних правил та принципів "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та з іншою науковою метою" (Страсбург, 1986) і "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (Київ, 2001).

Опік III ступеня на епільовану поверхню шкіри спини тварини наносили водяною парою при температурі 96–97 °C протягом 60 секунд під загальним ефірним наркозом. Розміри ділянки ураження становили 18–20 % поверхні тіла. Для дослідження особливостей морфологічних та гістохімічних змін шкіри після опікової травми тварин декапітували за допомогою гільйотини під загальним ефірним наркозом на 1, 7, 14, та 21 доби досліді, що відповідає стадіям шоку, ранньої та пізньої токсемії та септикотоксемії опікової хвороби.

Забір матеріалу для мікроскопічних досліджень проводили згідно загальноприйнятої методики [1, 4]. Шматочки шкіри фіксували в 10 % розчині формаліну, при цьому тривалість експозиції не перевищувала 1–2 доби. Застосований фіксуючий розчин запобігає процесу аутолізу та стабілізує клітини та тканини для їх подальшої обробки та використання в процедурах забарвлення. Далі проводили дегідратацію шматочків в спиртах зростаючої концентрації в автоматі для гістологічної обробки тканин АТ-4, заливали в парафінові блоки. Отримані на санному мікромомі МС-2 зрізи