

досліджуваних органів, як внутрішньочасточкова і перипортальна поліморфноядерна лейкоцитарна інфільтрація, розширення синусоїдних гемокapілярів, жирова дистрофія гепатоцитів, збільшення площі гепатоцитів. У підшлунковій залозі збільшення площі ацинусів, повна або часткова втрата інсулоцитів, інфільтрація поліморфноядерними лейкоцитами міжчасточкової та навколоострівцевої сполучної тканини. Лектиногістохімічні дослідження вказують на модифікацію глікому структурних компонентів печінки і підшлункової залози, що може бути причиною виникнення патогенетичних механізмів їх морфофункціональних змін. У перспективі планується провести порівняльне дослідження з використанням широкого спектра лектинів ідентичної вуглеводної специфічності.

Ключові слова: печінка, підшлункова залоза, лектиногістохімія, діабет, стрептозоточин.

morphological changes, as intralobular and periportal polymorphonuclear leucocyte infiltration, dilatation of sinusoidal hemocapillaries, adipose degeneration of hepatocytes, and increased area of hepatocytes. In the pancreas were observed increased area of acini, complete or partial absence of insulocytes, and infiltration of polymorphonuclear leucocytes into the interlobular and peri-insular connective tissue. Lectinochemical investigations have shown modification of glycome of the structural components of liver and pancreas that may be the cause of pathogenetic mechanisms and morphofunctional changes. Later on a comparative investigation with the use of a wide spectrum of lectins of identical carbohydrate specificity is planned to be performed.

Key words: liver, pancreas, lectinohistochemistry, diabetes, streptozotocin.

УДК 616.342-002.44-005.1-08-072.1

ИНТЕНСИВНОСТЬ АПОПТОЗА В КРАЕВОЙ ЗОНЕ ЯЗВЕННЫХ ДЕФЕКТОВ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ ДО И ПОСЛЕ ЭНДОСКОПИЧЕСКОГО ГЕМОСТАЗА

З.Ф. Баринюв, О.Н. Сулаєва
Донецкий национальний медичинський університет, г. Донецьк

Работа является фрагментом НИР кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ДонНМУ „Вивчити роль внутрішньоклітинних сигнальних систем під час реалізації запально-репаративних процесів в органах, що забезпечують гомеостаз організму” (2007 – 2009), № держреєстрації 0106U01840

Развитие острого кровотечения из язвенных дефектов двенадцатиперстной кишки (ДПК) происходит на фоне действия ряда патологических факторов, включая ишемию, микробную агрессию, цитотоксические эффекты свободных радикалов кислорода и цитокинов и пр. [4, 6]. Одним из проявлений реакции клеток на повреждение может быть гибель, реализуемая путем некроза или апоптоза. В любом случае клеточная смерть сопровождается дезинтеграции тканевых элементов стенки ДПК, однако характер, выраженность и соотношение между некрозом и апоптозом во многом определяют реакцию окружающих структурных элементов и зачастую – исход раневого процесса [2]. С этой позиции особого интереса заслуживает оценка выраженности апоптоза в краевой зоне язвенных дефектов, являющихся в одних случаях источником репарации, а в других – фронтом расширения язвы и причиной повторных кровотечений. На сегодняшний день известно, что в слизистой оболочке в области язвы имеет место усиление апоптоза, однако какова роль данного процесса в развитии и рецидивировании кровотечений из язвенных дефектов ДПК мало известно [6]. Открытым остается вопрос о хронологических параметрах выраженности апоптоза, его ассоциации с другими морфогенетическими процессами и резистентности клеток разных линий к проапоптогенам в динамике лечения [5]. Это затрудняет адекватную трактовку механизмов дизрегенераторных нарушений, морфологических детерминант развития рецидивов кровотечений, что ограничивает понимание механизмов их реализации и разработку адекватной системы коррекции.

Целью работы было исследование выраженности, тканевого распределения и динамики экспрессии p53 в краевой зоне язвенных дефектов ДПК до и после гемостаза.

Материал и методы исследования. В работе проведен морфологический анализ биоптатов краевой зоны язв ДПК 46 пациентов в возрасте $54 \pm 8,6$ лет с острыми кровотечениями. Длительность заболевания составила в среднем составила $6,3 \pm 2,1$ года.

Всем больным проведена диагностическая эзофаго-гастродуоденофиброскопия по общепринятой методике с использованием аппарата GIF Q 40 «Olympus». Во время выполнения эндоскопии с помощью стандартных биопсийных щипцов типа ФВ-23К брали биоптаты слизистой оболочки из краевой зоны язвы на момент госпитализации до гемостаза, через 6 и 12 часов, 1, 3 и 7 суток после инъекции раствора адреналина в края язвы. Контрольную группу составили пациенты без патологии ДПК. Биопсийный материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезвоживали в спирте, заливали в парафин. Срезы толщиной 4-6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, проводили иммуноцитохимическое исследование с использованием моноклональных антител к p53 [5]. При анализе эпителия слизистой оболочки оценивали его толщину, плотность клеток на единицу длины БМ, удельный вес бокаловидных клеток, процент клеток с явлениями вакуолизации и деструкции, плотность p53⁺ клеток. В собственной пластинке слизистой оболочки с помощью квадратно-узловой тест-системы оценивали удельные объемы (УО) и диаметры сосудов, клеток и межклеточного вещества [1]. При наличии лейкоцитарной инфильтрации подсчитывали УО лейкоцитов и клеточный состав инфильтратов. Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием пакета компьютерных программ [3].

Результаты исследования и их обсуждение. Краевая зона язв ДПК на момент острого кровотечения характеризовалась нарушениями рельефа. Наиболее часто регистрировалось снижение высоты ворсинок и глубины крипт. В участках разрушения ворсинок наблюдалась деструкция эпителиального пласта с обнажением собственной пластинки слизистой, подвергающейся фибриноидному набуханию. В сохраненном покровном эпителии ворсинок зарегистрировано увеличение высоты клеток за счет отека и вакуолизации, с частой дислокацией ядер. Количество бокаловидных клеток в ряде крипт, и на поверхности сохраненных ворсинок в 1,5-2 раза превышало контрольный показатель. В отдельных случаях в криптах имело место разрушение эпителиального пласта и его десквамация, вероятной причиной чего были микроциркуляторные нарушения и отек собственной пластинки. Иммуноцитохимическое исследование подтвердило выраженное нарушение тканевого и клеточного гомеостаза. Однако удельный объем клеток, подвергающихся апоптозу, в различных тканях слизистой ДПК имел разные показатели. В покровном эпителии УО p53⁺ клеток в поверхностной зоне (ворсинки, сглаженный рельеф) составил 37,3±15,4%, хотя в области крипт этот показатель был ниже – 21,1±6,5%. Эти изменения во многом были связаны с глубиной нарушения микроциркуляции в собственной пластинке. Так, в области ворсинок и крипт УО сосудов был соответственно на 48% (p<0,01) и 14,08% (p<0,05) выше контрольных значений. Вазодилатация сопровождалась развитием отека, который чаще носил диффузный характер. При этом частота p53-позитивных клеток в покровном эпителии коррелировала с УО сосудов и трансsudата (r₁=0,513; r₂=0,622), отражая связь инициации апоптоза с выраженностью микроциркуляторных нарушений. Интересно, что частота апоптоза в клетках соединительной ткани была намного ниже, варьируя в диапазоне 13,5-20,4%. Наиболее часто, меченные клетки имели фенотип лейкоцитов, включая лимфоциты, единичные нейтрофилы и макрофаги, но при этом статистически значимой связи с микроциркуляторными нарушениями не было выявлено. Нарушение микроциркуляции сопровождалось развитием в эндотелиоцитах позитивной реакции на p53, численность которых прямо коррелировала с выраженностью отека (r=0,438; p<0,01). У некоторых пациентов в биоптатах выявлялась массивная инфильтрация СО лимфоцитами с формированием диффузных скоплений и узелков. Типичным было расположение инфильтратов между криптами и на уровне диссоциированной мышечной пластинки. Лишь единичные лимфоциты в их составе имели признаки экспрессии p53, но вокруг инфильтратов количество p53-позитивных клеток было в 2-2,5 раза выше, чем в свободных от инфильтратов зонах.

Острая реакция на гемостаз (через 6-12 ч) сопровождалась усилением микроциркуляторных нарушений и отека слизистой оболочки. УО сосудов вырос на 9,91% (p<0,05) по сравнению с данными до гемостаза и 62,67% (p<0,01) превысил показатель в контроле. На этом фоне отмечено усиление деструкции и экспрессии p53 в эндотелии, клетках соединительной ткани и эпителии. Так в области ворсинок численность p53⁺ эндотелиоцитов выросла на 16,33±8,45% (p<0,05), а в области крипт изменения показателя

носили недостоверный широко вариабельный характер, меняясь в пределах $9,2 \pm 8\%$ по сравнению с предыдущим сроком исследования. У части ($n=11$) больных через 6-12 часов после гемостаза количество $p53^+$ клеток в эндотелии выросло на $47,6 \pm 6,31\%$ в ворсинках и на $59,8 \pm 10,2\%$ в криптах, что сопровождалось развитием выраженного отека соединительной ткани, вакуолизацией и десквамацией клеток покровного эпителия. Закономерно, что в этих условиях отмечалось усиление реакции на $p53$ в СТ (на $31,6\%$) и покровном эпителии. В последнем УО $p53^+$ клеток достигал $70 \pm 8,5\%$ на поверхности слизистой оболочки и до $53,2 \pm 4,6\%$ в криптах. Усиление явлений эндотелиальной дисфункции и прогрессирующее нарушение целостности гемато-интестинального барьера вело к развитию повторного кровотечения к концу 1 суток.

Через сутки после эндоскопического гемостаза в основной группе больных морфологические изменения в краевой зоне язв проявлялись развитием острой воспалительной реакции. Это сопровождалось снижением УО сосудов на $16,67\%$ ($p < 0,05$) по сравнению с предыдущим сроком исследования, но превышал контроль – на $33,33\%$ ($p < 0,01$). Инфильтрация лейкоцитами вела к увеличению плотности клеток. Среди лейкоцитов, помимо лимфоцитов, обнаруживались макрофаги, многочисленные нейтрофилы, отдельные эозинофилы, плазмциты, дегранулирующие тучные клетки. У ряда пациентов была зарегистрирована выраженная инфильтрация СО нейтрофилами, которая часто затрагивала и мышечную пластинку. При этом выраженность апоптоза варьировала в широких пределах, отражаясь на характере распределения признака, что позволило установить ряд закономерностей. Главная из них заключалась в том, что усиление апоптоза в течение 1-3 суток вело к развитию повторного кровотечения. Сопоставление морфометрических параметров показало, что динамика УО $p53^+$ клеток через 1 сутки после эндоскопического инъекционного гемостаза определяла исход патологического процесса. Так, при заживлении язвенного дефекта в покровном эпителии через 1 сутки отмечена стабилизация, а через 3 суток – снижение количества $p53$ -позитивных клеток. Последнее было ассоциировано с уменьшением УО лейкоцитов при увеличении количества фибробластов и эндотелиоцитов, отражая репарацию собственной пластинки в краевой зоне язвенного дефекта. Обнаруживались ассоциации между новообразующимися сосудами и эпителием крипт и ворсинок с уменьшением диффузионного расстояния. Реорганизация собственной пластинки и крипт сопровождалась ростом ворсинок. Эпителий таких ворсин характеризовался большей толщиной, высокой плотностью ядер за счет усиления пролиферации клеток. Но, несмотря на это, $p53$ -позитивные клетки по-прежнему обнаруживались у основания и на поверхности ворсин – их УО достигал $23,7 \pm 6,7\%$.

У пациентов с повторными кровотечениями после инъекционного гемостаза через 1 сутки количество $p53^+$ клеток нарастало, принимая глобальные масштабы как в эпителии, так и в собственной пластинке. В ряде случаев отмечена гибель большей части клеток мышечной пластинки и желез подслизистой основы. Имела место нарастающая нейтрофильная инфильтрация и микроциркуляторные нарушения. Массированная гибель клеток слизистой оболочки маргинальной зоны вела к деструкции поверхности, развитию кровоизлияний, что определяло расширение язвенного дефекта.

Заключение

Таким образом, развитие острого язвенного кровотечения происходит на фоне усиления апоптоза клеток в различных тканях стенки ДПК. Наиболее выраженная интенсивность апоптоза зарегистрирована в покровном эпителии и зонах инфильтрации слизистой оболочки лимфоцитами. Проведение инъекционного эндоскопического гемостаза сопровождалось увеличением апоптоза в эпителии и эндотелии сосудов, что связано с усугублением ишемии/реперфузии. Усиление апоптоза через 1-3 суток при интенсивной инфильтрации слизистой оболочки ДПК вело к структурной дезинтеграции слизистой оболочки, что способствовало расширению язвенного дефекта и развитию повторного кровотечения.

Перспективы дальнейших исследований в данном направлении. Выяснение роли и механизмов нарушения кинетики клеток слизистой оболочки позволит выяснить механизмы развития язвенных кровотечений и индивидуализировать тактику лечения пациентов с осложненным течением язвенной болезни ДПК.

Література

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов. – М. Медицина, 1991. – 381 с.
2. Аруин Л. И., Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника / Л. И. Аруин, Л. Л. Капуллер, В. А. Исаков. – М. – 1998. – 496 с.
3. Лях Ю. Е. Основы компьютерной биостатистики / Ю. Е. Лях, Г. В. Гурьянов, В. Н. Хоменко, О. А. Панченко. – Д. – 2006. – 211 с.
4. Маев И. В. Морфологические и возрастные особенности гастродуоденального кровотока у больных язвенной болезнью и пути его коррекции / В. В. Горбань, Л. М. Салова // Рос. журн. гепат. и гастроэнтерол. – 2007. – №4. – С. 7-12.
5. Филиппов Ю. А. Перспективы развития иммуногистохимических исследований в гастроэнтерологии / Ю. А. Гайдар // Журнал АМН України. – 2002. – Т.8, №1. – С.69-81.
6. Basson M. D. Gut mucosal healing: is the science relevant? / M. D. Basson // Am. J. Pathol. – 2002. – Vol. 161. – P. 1101–1105.

Реферати

ІНТЕНСИВНІСТЬ АПОПТОЗА В КРАЙОВІЙ ЗОНІ ВИРАЗКОВИХ ДЕФЕКТІВ ДВНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ ДО Й ПІСЛЯ ЕНДОСКОПІЧНОГО ГЕМОСТАЗУ

Барінов Е.Ф., Сулаєва О.М.

У роботі проведено оцінку інтенсивності й динаміки апоптозу клітин у крайовій зоні виразок дванадцятипалої кишки до й після ендоскопічного ін'єкційного гемостазу в 46 пацієнтів з гострими кровотечами. Розвиток гострої виразкової кровотечі відбувається на тлі посилення апоптоза клітин, найбільш вираженого в покривному епітелії й зонах інфільтрації слизової оболонки лімфоцитами. Ендоскопічний гемостаз супроводжується збільшенням апоптоза в епітелії й ендотелії судин за рахунок ішемії-реперфузії. Репарація виразки супроводжується зниженням кількості р53-позитивних клітин. Посилення апоптоза через 1-3 добу на тлі інтенсивної нейтрофільної інфільтрації веде до зростання дефіциту клітин, сприяє розширенню виразки й розвитку повторної кровотечі.

Ключові слова: апоптоз, виразка, гемостаз.

APOPTOSIS INTENSITY IN DUODENAL ULCERS MARGINE BEFORE AND AFTER ENDOSCOPE HEMOSTASIS

Barinov E.F., Sulayeva O.N.

Estimation of apoptosis intensity and dynamic was performed in duodenal ulcer marginal zone before and after endoscope hemostasis by adrenalin injection in 46 patients with acute bleeding. It was shown that acute ulcer bleeding is associated with high apoptosis level maximal in epithelial layer of villi and in lymphocytes infiltration regions. Adrenalin injection in duodenal mucosa led to increase of apoptosis in epithelium and vascular endothelium due to ischemia-reperfusion. Ulcers reparation was accompanied with decrease of p53 positive cells since 1 day after treatment. Apoptosis enhancement after 1-3 day with intensive neutrophilic infiltration of ulcer margin led to cells loss and rebleeding.

Key words: apoptosis, ulcer, hemostasis.

УДК 616.379–008.64+617.586.–001.4–003.9]:616.155.2

ИСХОД РАНЕВОГО ПРОЦЕССА ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА – РОЛЬ ТИРОЗИНОВОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ В КЛЕТКАХ

М.Ф. Барінова

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, г. Донецк

Работа является фрагментом НИР кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ДонНМУ „Вивчити роль внутрішньоклітинних сигнальних систем під час реалізації запально-репаративних процесів в органах, що забезпечують гомеостаз організму” (2007 – 2009), № держреєстрації 0106U01840

Заживление ран кожи при сахарном диабете (СД) зависит от ряда параметров, включая: эффективность борьбы с раневой инфекцией, состояние микроциркуляторного русла и нейротрофического контроля, тяжесть метаболических нарушений и специфику межтканевых отношений [7, 10]. Среди причин нарушения морфогенетических процессов в ране отмечают роль инсулиновой резистентности [6, 11]. Как известно, эффекты инсулина опосредованы активацией инсулиновых рецепторов, которые, как и рецепторы к факторам роста и цитокинам, связаны с тирозинкиназами (ТЗК) [5]. Тирозिनное фосфорилирование белков, зависящее от активности ТЗК и антагонистичных им тирозинфосфатаз (ТЗФ), играет важную роль в контроле не только метаболических процессов, но и функциональной активности тромбоцитов и лейкоцитов, а также пролиферации и миграции фибробластов, ангиогенезе и