

/ Л. Т. Кашинцева // Труды 4-го Всес. съезда офтальмолог. — 1985. — С. 37-38.

2. *Малая Л. Т.* Эндотелиальная дисфункция при патологии сердечно-сосудистой системы / Л. Т. Малая, А. Н. Корж, Л. Б. Балковская. — Х., 2000. — 432 с.

3. *Stroes E. S.* Hyperlipidemia and endothelial function / E. S. Stroes, T. J. Rabelink // *Vascular endothelium: physiology, pathology and therapeutic opportunities*; eds. G. V. R. Born, C. J. Schwartz. — Stuttgart, 1997. — P. 311-338.

4. *Черепок О. О.* Патологіологічна роль оксидативного стресу у формуванні ендотеліальної дисфункції при гіпертонічній хворобі / О. О. Черепок // *Вісник Вінницького держ. мед. ун-ту.* — 2003. — № 1. — С. 94-96.

5. *Липовецкая Е. М.* Развитие экспериментальной глаукомы при длительном внутривенном введении адrenalина / Е. М. Липовецкая // *Офтальмологический журнал.* — 1966. — № 3. — С. 221-224.

6. *Стальная И. Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // *Современные методы в биохимии.* — М.: Медицина, 1977. — С. 66-68.

7. *Гаврилов В. Б.* Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // *Лабораторное дело.* — 1983. — № 3. — С. 33-35.

8. *Ванхенен В. Д.* Техника санитарно-гигиенических исследований / В. Д.

Ванхенен, Г. А. Суханова. — К.: Вища школа, 1983. — С. 236-237.

9. *Содержание* эндотелина и оксида азота в плазме крови при экспериментальной глаукоме / Л. Т. Кашинцева, И. Н. Михайцева, И. Н. Безкоровайная, О. П. Копп // *Офтальмологический журнал.* — 2003. — № 4. — С. 87-90.

10. *Вікові* порушення функції ендотелію та їх фармакологічна корекція / В. В. Безруков, Н. В. Сикало, О. К. Кульчицький, О. В. Нижанковська // *Журнал АМН України.* — 2005. — Т. 11, № 1. — С. 128-135.

11. *Tien M.* Superoxide depend lipid peroxidation / M. Tien // *Fed. Proc.* — Vol. 40. — P. 179-182.

УДК 617.7-007.681-021.3-092:612.085.1

И. Н. Михайцева

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ ПЕРВИЧНОЙ ГЛАУКОМЕ

В эксперименте на модели глаукомы установлено, что дисрегуляция эндотелиальных факторов сосудистого тонуса (ЭТ-1, NO) вызывала формирование дисфункции эндотелия, которая усиливалась гиперхолестеринемией и дислипотеидемией, а также патологическим уровнем перекисного окисления липидов. Эндотелиальная дисфункция способствовала дисрегуляции гемо- и гидродинамики глаз и развитию ишемично-реперфузионного повреждения нервных тканей глаза, что позволяет считать этот фактор патогенетическим в развитии глаукомы.

Ключевые слова: глаукома, эндотелиальная дисфункция, механизмы, патогенез.

UDC 617.7-007.681-021.3-092:612.085.1

I. N. Mikheytsva

PATHOGENETIC IMPORTANCE OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PRIMARY GLAUCOMA

The experiment with glaucoma model showed that dysregulation of endothelial factors of vascular tone (ET-1 and NO) determined the development of endothelial dysfunction. This process was intensified by hypercholesteremia, dyslipoproteidemia and high level of lipid peroxidation. Endothelial dysfunction induced changes in the eye hemo- and hydrodynamics as a development of ischemia-reperfusion injury of the eye nerve tissues. It let us consider this process to be pathogenetic one in glaucoma pathology.

Key words: glaucoma, endothelial dysfunction, mechanisms, pathogenesis.

УДК 519.4+616.311:616-092.4+678.746.47

И. Н. Моисеев, д-р мед. наук, проф.,

Е. К. Ткаченко, канд. биол. наук,

О. И. Скиба, канд. биол. наук,

О. Н. Воскресенский, д-р мед. наук, проф.

НАРУШЕНИЯ КОМПЕНСАТОРНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ ГЕНОТОКСИКАНТА 5-ФТОРУРАЦИЛА И АЛИМЕНТАРНОЙ ПОЛИФЕНОЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

ГУ «Институт стоматологии АМН Украины», Одесса

Ранее нами была показана существенная роль недостаточности поступления полифенолов (ПФ) с пищей в усилении патогенных эффектов 5-фтор-

урацила (5-ФУ) на слизистую оболочку полости рта (СОПР) крыс [1]. Эти эффекты проявлялись в виде воспалительно-деструктивных изменений, сосу-

дистых нарушений, клеточной инфильтрации собственной пластинки. В многослойном эпителии наблюдались явления гидропической дистрофии и

деструкции клеток с образованием эрозий и язвочек.

Цель настоящей работы — выяснение нарушений компенсаторных механизмов патогенного действия генотоксиканта 5-ФУ на эпителиоциты СОПР крыс в условиях ограниченного поступления алиментарных ПФ.

Материалы и методы исследования

Эксперимент был проведен на 28 белых крысах линии Вистар, распределенных на 4 группы по 7 животных в каждой методом случайной выборки.

Интактные животные (1-я группа) содержались на стандартной диете вивария (ДВ). Крысы 2-й группы (ДВ + 5-ФУ) содержались на бесполифенольной диете (БПФД). Использовалась модификация рациона, приведенного в работе [2]. В 3-й группе (ДВ + 5-ФУ) крысы на фоне ДВ ежедневно перорально получали антимиетаболит пиримидина 5-ФУ («Дарница», Киев) в дозе 12,5 мг/кг массы тела. Крысы 4-й группы содержались на БПФД и получали *per os* 5-ФУ в той же дозе. Длительность эксперимента составила 70 дней.

Животных выводили из опыта путем тотального кровопускания из сердца, проводимого под тиопенталовым наркозом (внутрибрюшинно 40 мг/кг). Для изучения сразу же выделяли слизистую оболочку щеки, фиксировали ее по Карнуа, заключали в парафин и готовили срезы толщиной 6 мкм. Материал окрашивали гематоксилином и эозином. Карио- и интеркариометрию осуществляли с применением методов, изложенных в работе [3]. Подсчитывали общее количество митозов и вычисляли митотический индекс (МИ). Количество двухъядерных эпителиоцитов учитывали на ограниченной площади среза. Результаты интеркариометрии (среднее межъядерное расстояние) использовали в качестве критерия при оценке размеров цитоплазмы клеток. Оценку кровоснабжения тканей осуществляли стереометрически [4] — путем вычисления диаметра зоны перикапиллярной диффузии (ЗПД).

Результаты исследований обрабатывали статистически с применением t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Слизистая оболочка щеки крысы из интактной группы имела обычное строение. Карио- и интеркариометрические исследования эпителиоцитов многослойного эпителия показали, что базальный слой состоит из двух типов клеток, отличающихся структурой и размерами. Характеризовался 1-й тип наличием мелких удлиненных ядер, имеющих объем 50, 63 и 76 мкм³, 2-й тип клеток содержал более

крупные округлые ядра — 100, 126 и 152 мкм³. Наиболее многочисленным (70 %) был класс ядер с объемом 100 мкм³. Процентное соотношение эпителиоцитов 1-го и 2-го типа составляло соответственно 70 и 30 %.

При сопоставлении с крысами интактной группы в группе крыс, содержащихся на БПФД, наблюдались изменения ряда морфометрических параметров. Так, в ткани собственной пластинки диаметр зоны перикапиллярной диффузии ($D_{зпд}$) увеличился на 25 %. Возникшие нарушения микроциркуляции сопрягались с действием двух причин: уменьшением диаметра просвета капилляров и плотностью их упаковки в ткани собственной пластинки. В базальном слое многослойного эпителия произошло уменьшение среднего значения объема ядра на 18 % (табл. 1). В шиповатом слое объем ядра и среднее межъядерное расстояние стали меньше на 34 и 25 % соответственно (см. табл. 1). Показатели компенсаторных реакций характеризовались неоднозначностью: МИ уменьшился на 74 %, а количество двухъядерных эпителиоцитов увеличилось на 53 % (табл. 2).

В группе крыс, содержащихся на ДВ и получавших 5-ФУ (ДВ + 5-ФУ), морфометрические показатели различных структур СОПР в той или иной степени отличались от таковых интактной группы. На-

Таблица 1

Результаты карио- и интеркариометрии эпителиоцитов СОПР крыс, $M \pm m$

Группа крыс	Базалиоциты			Шиповатые клетки			Среднее межъядерное расстояние, мкм	Сравнение с контролем	
	Объем ядра lg, мкм ³	Сравнение с контролем		Объем ядра lg, мкм ³	Сравнение с контролем			%	P
		%	P		%	P			
Интактная (ДВ) (контроль)	1,830±0,026 (68)	100	—	2,270±0,028 (186)	100	—	18,04±0,71	100	—
Бесполифенольная диета (БПФД)	1,750±0,028 (56)	82	≤0,05	2,090±0,023 (123)	66	≤0,001	13,53±0,54	75	≤0,001
ДВ + 5-ФУ	1,860±0,031 (72)	106	≥0,05	2,120±0,024 (132)	71	≤0,001	14,10±0,63	78	≤0,001
БПФД + 5-ФУ	1,880±0,031 (76)	112	≥0,05	2,030±0,027 (107)	58	≤0,001	14,10±0,67	78	≤0,001

Соотношение количества митозов и двухъядерных клеток эпителия СОПР, %

Группа крыс	Митотический индекс	Сравнение с контролем		Двухъядерные клетки	Сравнение с контролем	
		%	P		%	P
Интактная (ДВ) (контроль)	1,50±0,22	100	—	15,0±1,1	100	—
Бесполифенольная диета (БПФД)	0,39±0,10	26	≤0,001	23,0±1,4	153	≤0,001
ДВ + 5-ФУ	0,75±0,14	50	≤0,05	19,0±1,2	127	≤0,05
БПФД + 5-ФУ	0,64±0,10	43	≤0,01	11,0±0,9	73	≤0,01

правленность сдвигов выявленных нарушений, в основном, соответствовала таковым группы крыс, содержащихся на БПФД. Исключение составило изменение пропорций в соотношении эпителиоцитов 1-го и 2-го типа в базальном слое (рис. 1).

В группе крыс, содержащихся на БПФД в сочетании с введением 5-ФУ, структурные сдвиги в тканях СОПР характеризовались следующим. В группе БПФД + 5-ФУ нарушения кровоснабжения тканей слизистой оболочки полости рта были сопряжены с сужением просвета капилляров (в 1,6 раза); $D_{знд}$ увеличивался на 45 % по сравнению с интактной группой и на 20 % относительно группы крыс, содержащихся на БПФД (табл. 3). В результате в многослойном эпителии возникли серьезные сдвиги на клеточном уровне, а базальный слой эпителиоцитов подвергся кардинальной перестройке с доминированием в его структуре клеток 2-го типа (57 % против 43 % базалиоцитов 1-го типа). Следует отметить и увеличение на 21 % (относительно контроля) количества клеток с наиболее крупными ядрами — 126 и 152 $\mu\text{м}^3$. Средние величины ядерного объема и межъядерного расстояния клеток шиповатого слоя стали меньше на 42 и 22 % соответственно. Заметно изменилась и величина коэффициента вариации (C_v) ядерного объема (11 % при 8 % в контроле), а это уже средний, более высокий уровень изменчивости признаков по [5]. Оба показателя компенсаторных реакций (МИ и количество двухъядерных клеток) имели отрицательную величину. И наконец, 20 % от общего количества митозов были атипичными, в их числе были клетки с нарушением принципа равномерности распределения хромосом: отставание хромосом в

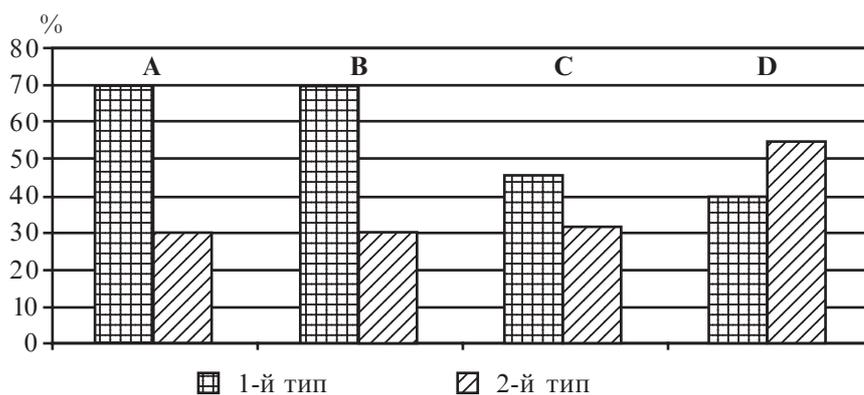


Рис. 1. Соотношение базалиоцитов 1-го и 2-го типа, %. Группы крыс: А — интактные; В — бесполифенольная диета; С — диета вария + 5-ФУ; D — бесполифенольная диета + 5-ФУ

Диаметры зон перикапиллярной диффузии собственной пластинки СОПР крыс

Группа крыс	Диаметр капилляров, $\mu\text{м}$	Плотность упаковки капилляров, V_{vk} , у. е.	Диаметр зоны перикапиллярной диффузии	
			$\mu\text{м}$	Сравнение с контролем, %
Интактная (ДВ) (контроль)	10,9	0,122	89	100
Бесполифенольная диета (БПФД)	9,9	0,089	111	125
ДВ + 5-ФУ	8,0	0,073	110	124
БПФД + 5-ФУ	6,7	0,052	129	145

метафазе, хроматидные мосты в анафазе и телофазе, асимметричные митозы и образованные микроядер (рис. 2).

Настоящие исследования подтвердили важнейшую роль полифенолов в эффектах 5-ФУ на ткани СОПР и позволили уточнить некоторые механизмы повреждения слизистой оболочки по сравнению с ма-

териалами, представленными в работе [1]. Было установлено, что в качестве ведущего патогенетического звена выступают расстройства кровоснабжения тканей СОПР, что не противоречит известному факту о влиянии 5-ФУ на микроциркуляцию и повышение вязкости крови в опухолевой ткани [6].

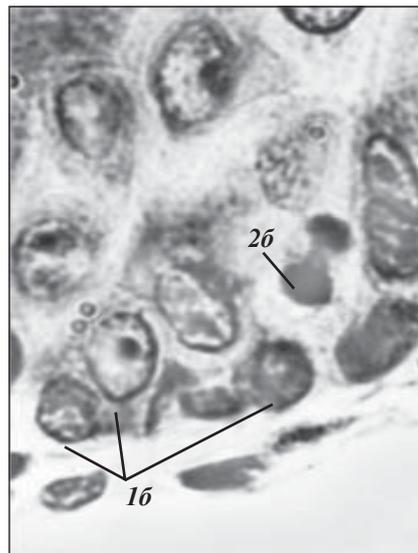
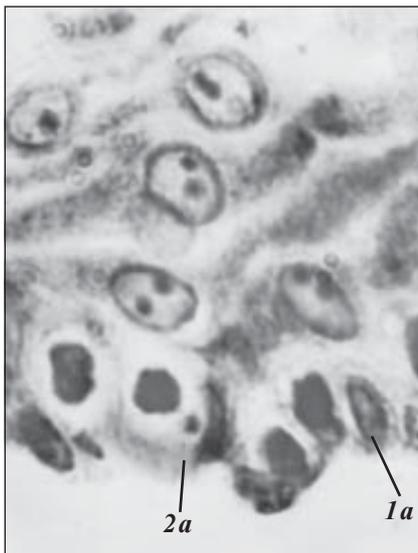


Рис. 2. Многослойный эпителий слизистой оболочки щеки крысы, содержащейся на бесполифенольной диете и получавшей 5-ФУ: 1а, 1б — базалиоциты 1-го и 2-го типа соответственно; атипичный митоз: 2а — образование микроядра; 2б — мост в телофазе. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 90×10

В основе нарушений микроциркуляции в слизистой оболочке прослеживалось следующее: 1) набухание цитоплазмы эпителиоцитов с нарушением проницаемости капиллярной стенки и 2) уменьшение плотности упаковки капилляров в ткани собственной пластинки. Обе причины пагубно влияют на трофические процессы.

Сдвиги в структуре сосудов микроциркуляторного русла в сочетании с действием 5-ФУ на геном клетки привели к изменениям некоторых структурных показателей эпителиоцитов: средних размеров клетки, среднего объема ядра и атипичной variability ядерного объема. И наконец, в базальном слое самой многочисленной группой оказались клетки с крупными ядрами — базалиоциты 2-го типа. Перечисленные признаки — результат нарушения процесса дифференциации, сопряженной с выполнением специализированных функций многослойного эпителия СОПР [5; 7; 8].

Согласно данным литературы, базалиоциты 2-го типа выделяются из всех остальных

клеточных групп многослойного эпителия СОПР наличием двух специфических признаков. Во-первых, 75 % клеток этой группы являются полиплоидными — такой же показатель для остальных клеточных групп не превышает 25–40 %. И во-вторых, названные клетки обладают весьма редким свойством — прямой корреляцией между объемом ядра и уровнем его плоидности [9]. А это означает, что обнаруженное нами количество базалиоцитов 2-го типа, с наиболее крупными ядрами, — следствие их полиплоидизации. Последующее развитие образовавшихся полиплоидных базалиоцитов может завершиться митотическим делением либо перемещением их в шиповатый слой и функционированием в последнем в статусе одноядерных полиплоидных клеток. Полиплоидные же клетки, как установлено, превосходят диплоидные по размерам, метаболическим свойствам и функциональным возможностям [9; 10]. Все изложенное выше позволяет заключить, что в условиях сочетанного действия БПФД и 5-ФУ образование одноядер-

ных полиплоидных клеток является альтернативным вариантом компенсаторной реакции многослойного эпителия СОПР. При самостоятельном действии БПФД и 5-ФУ компенсация недостаточной пролиферации клеток осуществляется за счет увеличения количества двухъядерных эпителиоцитов, которые также имеют полиплоидный геном и обязательно подвергаются гипертрофии [9; 11]. Что касается механизмов образования одноядерных и двухъядерных полиплоидных клеток, то они известны — это обычный, но не заверченный митоз. В первом случае деление клетки блокируется в метафазе (метафазный блок), а во втором — на стадии цитотомии, которая происходит после образования ядер [12–14].

В заключение считаем необходимым обратить внимание на то обстоятельство, что сочетанное действие БПФД и 5-ФУ не только тормозило пролиферативный потенциал клеток, но и стало причиной образования патологических митозов. С элементами патологии были 20 % всех клеток, вступивших в митоз. Согласно существующим представлениям, увеличение количества патологических митозов — не только показатель дизадаптации клетки, но и важное патогенетическое звено ряда патологических процессов [15], возникающих при действии экстремальных факторов — радионуклидов [16], экотоксикантов [17] и др. Наиболее негативные последствия патологии митоза — образование клеток с несбалансированным кариотипом и злокачественное перерождение тканей [18].

Выводы

1. При сочетанном действии БПФД и 5-ФУ образование одноядерных полиплоидных клеток явилось важнейшим меха-

низмом компенсации недостаточности митозов эпителиоцитов СОПР.

2. Увеличение количества патологических митозов (до 20 %) указывает на развитие процесса дизадаптации клетки и представляет потенциальную угрозу образования эпителиоцитов с несбалансированным кариотипом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Влияние фторурацила на морфофункциональное состояние слизистой оболочки полости рта при разном уровне поступления растительных полифенолов / О. Н. Воскресенский, И. Н. Моисеев, Е. К. Ткаченко [и др.] // Вісник стоматології. — 2007. — № 6. — С. 12-16.

2. Прохончуков А. А. Экспериментальные модели важнейших стоматологических заболеваний : рук. по терапевт. стоматологии / А. А. Прохончуков, Н. А. Жижина ; под ред. А. И. Евдокимова. — М. : Медицина, 1967. — С. 86-122.

3. Влияние хронического эмоционально-болевого стресса и прооксиданта делагила на состояние эпителия ротовой полости у крыс с недостаточностью полифенолов / О. Н. Воскресенский, Ю. В. Калабин, И. Н. Моисеев, Е. К. Ткаченко // Вісник стоматології. — 2005. — № 2. — С. 7-11.

4. Морфологические нарушения слизистой полости рта крыс с алиментарной недостаточностью растительных полифенолов при комбинированном действии стресса и прооксидан-

та делагила / И. Н. Моисеев, О. Н. Воскресенский, Ю. В. Калабин [и др.] // Досягнення біології та медицини. — 2006. — № 2. — С. 52-56.

5. Лакин Г. Ф. Биометрия : учеб. пособие для биол. спец. вузов / Г. Ф. Лакин. — М. : Высш. шк., 1990. — 352 с.

6. Факторы, определяющие терапевтическую эффективность 5-фторурацила / Л. В. Манзюк, Ф. В. Доненко, С. М. Ситдикова, Л. В. Мороз // Вопросы онкологии. — 1996. — № 2. — С. 31-36.

7. Цитологическая реактивность онкологического больного / под ред. К. П. Ганиной. — К. : Наукова думка, 1995. — 150 с.

8. Бородай Н. В. Содержание ДНК в эпителиоцитах слизистой полости рта у больных пародонтозом / Н. В. Бородай, К. П. Ганина, Т. Д. Центило // Цитология и генетика. — 1991. — № 4. — С. 13-16.

9. Жинкин Л. Н. Митоз, амитоз и эндомитоз в клетках многослойного плоского эпителия белых крыс / Л. Н. Жинкин, В. Я. Бродский, Г. С. Лебедева // Цитология. — 1961. — № 5. — С. 514-521.

10. Бродский В. Я. Клеточная полиплодия. Пролиферация и дифференцировка / В. Я. Бродский, И. В. Урываева. — М. : Наука, 1981. — 259 с.

11. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций : руководство / под ред. Д. С. Саркисова. — М. : Медицина, 1987. — 448 с.

12. Саркисов Д. С. Общая патология человека : учебник / Д. С. Сарки-

сов, М. А. Пальцев, Н. К. Хитров. — М. : Медицина, 1997. — 608 с.

13. Клеточные аспекты патогенеза гипертрофической кардиомиопатии: роль полиплоидии кардиомиоцитов и активации в миокарде ядерного антигена пролиферирующей клетки / Е. В. Шляхто, Л. А. Бокерия, М. Г. Рыбакова [и др.] // Цитология. — 2007. — № 10. — С. 817-821.

14. Анисимов А. П. Клеточное размножение и соматическая полиплоидия в тканях брюхоногих моллюсков. Обзор 1. Введение. Ткани внутренней среды / А. П. Анисимов // Цитология. — 1998. — № 4. — С. 323-331.

15. Тимошин С. С. Биологическая роль реактивного торможения митозов при стрессе / С. С. Тимошин // Архив патологии. — 1983. — № 4. — С. 83-87.

16. Костенко С. А. Видоспецифичность дестабилизации кариотипа в условиях радионуклидного загрязнения (ЧАЭС) полевков / С. А. Костенко, Е. Г. Бунтова, Т. Т. Глазко // Цитология и генетика. — 2001. — № 2. — С. 11-18.

17. Довгалюк А. И. Оценка фитотоксической активности соединений тяжелых металлов и алюминия с помощью корневой апикальной меристемы лука / А. И. Довгалюк, Т. Б. Калиняк, Я. Б. Блюм // Цитология и генетика. — 2001. — № 1. — С. 3-9.

18. Казанцева И. А. Патология митоза в опухолях человека / И. А. Казанцева. — Новосибирск, 1981. — 242 с.

УДК 519.4+616.311:616-092.4+678.746.47

И. Н. Моисеев, Е. К. Ткаченко, О. И. Скиба, О. Н. Воскресенский

НАРУШЕНИЯ КОМПЕНСАТОРНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ ГЕНОТОКСИКАНТА 5-ФТОРУРАЦИЛА И АЛИМЕНТАРНОЙ ПОЛИФЕНОЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

На крысах исследовано влияние 5-фторурацила (5-ФУ) на морфологические показатели слизистой оболочки полости рта грызунов в условиях алиментарной недостаточности полифенолов. Показано, что бесполифенольная диета способствует усилению патологических эффектов 5-ФУ на слизистую оболочку. Они проявлялись в виде нарушения процесса дифференцировки многослойного эпителия и усиления деструктивных изменений в сочетании с торможением пролиферации клеток. Как результат дизадаптации клеток выявлено образование патологических форм митоза, в том числе митозы с нарушением принципа равномерности распределения хромосом.

Ключевые слова: слизистая оболочка полости рта, эпителиоциты, алиментарная недостаточность полифенолов, атипичные митозы, компенсаторно-восстановительные реакции.

UDC 519.4+616.311:616-092.4+678.746.47

I. N. Moiseyev, Ye. K. Tkachenko, O. I. Skiba, O. N. Voskresensky

DISORDER OF COMPENSATORY-RESTORATIVE PROCESSES OF RAT'S ORAL MUCOSA IN GENOTOXIC 5-FLUOROURACIL CONDITIONS AND ALIMENTARY POLYPHENOLIC DEFICIT

Influence of 5-fluorouracil on morphological indexes of rat's oral mucosa in alimentary polyphenolic deficit was researched. Polyphenolics-free diet promotes increasing of pathological effects of 5-fluorouracil on mucosa. They manifested as disorder of processes of differentiation laminated epithelium and increasing of destructive changes combined with inhibition of cells proliferation. As a result of cell's dysadaptation formation of pathological mitosis forms, including mitoses with breach of principle of chromosome's even distribution was detected.

Key words: oral mucosa, epithelial cells, alimentary polyphenolic deficit, atypical mitoses, compensatory-restorative reactions.