

другій групі після терапії ці показники сягнули ($11,00 \pm 0,51$) балів.

Відзначено зниження частоти і виразності (75 % — основна група; 42,9 % — контрольна) астеничних проявів, трижовжних думок «навколо» алгій, змінювалося больове поводження (скорочувалися вербальні і невербальні реакції).

Висновки

Таким чином, при використанні запропонованого засобу лікування виникає виражений анальгезуючий ефект внаслідок переривання сенсорно-вегетативної ділянки хибного кола, ноцицептивної аферентації, синаптичної передачі больових імпульсів. Синусоїдальні модульовані струми додатково стимулюють антиноцицептивну систему, а їхня модуляція в режимі електросну спричинює центральне гальмування ретикулярної формації стовбура мозку, що регулює потоки імпульсів за вертикаллю. На більш низьких рівнях функціонування ВНС (ПСС, СС) також блокується патологічна аферентація в ЦНС, стимулюються шкірно-вісцеральні рефлексії, що нормалізують функцію внутрішніх органів, ліквіду-

ються рефлекторні спазми мускулатури. Комбінація оксиду натрію, феназепаму і ципрамілу на фоні ампліпульс-терапії дає виражений транквілізуючий, міорелаксуючий, вегетотропний, тимолептичний ефекти, ліквідує частоту і виразність (за типом нерозгорнутих або стертих) симпатико-адреналових кризів.

Отримані результати свідчать про доцільність застосування в комплексній терапії вегетативної патології при хронічних запальних захворюваннях жіночої статевої сфери селективного інгібітора зворотного захоплення серотоніну ципрамілу, при цьому з огляду на роль серотоніну як основного нейротрансмітера систем ноцицепції і контролю болю, вегетативної нервової системи і механізму розвитку депресивних станів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Маркелов Г. И. Заболевания вегетативной системы. — К.: Медгиз, 1948. — 485 с.
2. Лекарь П. Г., Мищенко В. А. // Соматоневрологические синдромы. — М., 1986 — С. 47-54.
3. Коханович О. М. // Вестник физиотер. и курортологии. — 2001. — № 2. — С. 18.

4. Вайсфельд Д. Н. Вегетативные ганглионевриты при хронических воспалительных заболеваниях женской половой сферы. — К.: Здоровье, 1967. — 93 с.

5. Акимов Г. А., Одинак М. М. Дифференциальная диагностика нервных болезней: Рук. для врачей. — СПб.: Гиппократ, 2001. — 677 с.

6. Николаева Л. Б., Долгушина Л. М., Бабани И. А. // Вопр. курортол., физиотер. и ЛФК. 1987. — № 6. — С. 66-72.

7. Мартынов Ю. С., Водопьянов Н. П., Васильченко Н. П. Нервная система при заболеваниях органов малого таза женщин. — М.: Изд-во УДН, 1989. — 96 с.

8. Гафт П. Г., Ревенко А. В. // Соматоневрологические синдромы. — М., 1986. — С. 62-70.

9. Новиков А. В., Солоха О. А. // Неврол. журн. — 2000. — № 1. — С. 56-62.

10. Вегетативные расстройства: клиника, лечение, диагностика / А. М. Вейн, Т. Г. Вознесенская, О. В. Воробьева и др. — М.: МедИнформ, 1998. — 752 с.

11. Курако Ю. Л., Стоянов А. Н. // Мед. реабил., курортол., физиотер. — 1995. — № 1. — С. 44-47.

12. Курако Ю. Л., Стоянов А. Н. Солярий синдром (нові аспекти діагностики, клініки та лікування) // Одес. мед. журнал. — 1997. — № 1. — С. 13-15.

13. Курако Ю. Л., Стоянов А. Н. Солярий синдром. — Одесса, ОГМУ, 1995. — 48 с.

УДК 616.379-008.64:616.36-002.826]:616-002.4

О. С. Хухліна, І. С. Давиденко

ДЕЯКІ МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЯЦІЇ ВІДМИРАННЯ ГЕПАТОЦИТІВ ПРИ НЕАЛКОГОЛЬНОМУ СТЕАТОЗІ ПЕЧІНКИ І СТЕАТОГЕПАТИТІ НА ФОНІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2-го ТИПУ (ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

Буковинська державна медична академія, Чернівці

У межах традиційних уявлень, прийнятих у патології та патофізіології, загальновідомою є роль апоптозу у фізіологічних процесах клітинного

гомеостазу. Однак сучасні дослідження в галузі гепатології вказують на апоптоз як патоморфологічну основу багатьох захворювань печінки. Зокрема,

описана провідна роль апоптозу у морфогенезі алкогольної хвороби печінки, хронічних вірусних гепатитів В, С, аутоімунних гепатитів [1–3]. Сьо-



годні немає однозначної думки [4] про інтенсивність і механізми регулювання програмованої клітинної смерті гепатоцитів при неалкогольному стеатозі печінки (НАСП) і стеатогепатиті (НАСГ) у хворих на цукровий діабет (ЦД) 2-го типу.

Мета дослідження — встановити інтенсивність процесів апоптозу гепатоцитів та ймовірні механізми його регулювання при неалкогольному стеатозі печінки та стеатогепатиті у хворих на цукровий діабет 2-го типу.

Матеріали та методи дослідження

Обстежено 100 хворих на ЦД 2-го типу, середньої тяжкості, субкомпенсованого, серед яких 70 хворих на НАСП і 30 хворих на НАСГ, віком від 35 до 60 років. Діагноз НАСП і НАСГ встановлювали на основі анамнестичних, клінічних, біохімічних, імунологічних даних, визначення маркерів вірусів гепатиту В, С, D, результатів ультразвукового та морфологічного дослідження (прижиттєва пункційна біопсія печінки). Хворі на хронічний стеатогепатит вірусної та алкогольної етіології у дослідження не включалися. Досліджено також 25 випадків смерті хворих на ЦД 2-го типу, що померли від судинних ускладнень ЦД. У 14 померлих клінічно та морфологічно у печінці діагностовано НАСП, у 11 — НАСГ. У зв'язку з необхідністю збереження для імуногістохімічних (ІГХ) досліджень цілісності антигенів у структурах печінки виконували ранні розтини померлих — до 1 год після встановлення факту біологічної смерті. Свіжий матеріал фіксували протягом 22 год в нейтральному забуференому 10%-му водному розчині формаліну, після чого здійснювали зневоднювання у висхідній батареї етанолу і заливку в парафін. Парафінові зрізи зав-

товшки 5 мкм монтували на неімуногенні предметні скельця SuperFrost®Plus (Germany).

Після депарафінізації зрізів та проведення біотинового та пероксидазного блоку здійснювали ІГХ визначення антигенів Vcl-2, Вах та PCNA за допомогою первинних моноклональних антитіл до цих протеїнів та стрептавідин-біотинової системи візуалізації LSAB2 (DakoCytomation, Denmark). Дозабарвлення ядер здійснювали за допомогою гематоксиліну Майєра. Підраховували відсоток PCNA-позитивних ядер гепатоцитів. Кількісні дослідження інтенсивності забарвлення ядер або цитоплазми проводили шляхом отримання цифрових копій [5] (формат "Tagged Image File Format") оптичного зображення печінкової тканини (об'єктив мікроскопа $\times 40$) та його аналізу за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми «ВидеоТест — Розмер 5.0» (ООО Видеотест, Россия).

Аналіз здійснювали на підставі зондових замірів (площа круглого зонда — 4 мкм²) інтенсивності забарвлення з обчисленням показника «середня оптична щільність» (СОЩ, в умовних одиницях (у. о.)). З метою оцінки інтенсивності процесів апоптозу підраховували на площі 22 100 мкм² кількість структур, ідентифікованих як апоптозні тільця (АТ), та ядер з маргінацією хроматину (ЯМХ) печінкової тканини. Під час статистичної обробки даних після процедури прийняття гіпотези про нормальність усіх вибірок за допомогою критерію Хана — Шапіро — Уїлкі обчислювали середню арифметичну та її похибку, вірогідність різниці між групами дослідження визначали за допомогою двостороннього непарного критерію Стьюдента. Різницю вважали вірогідною при рівні значущості $P \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Стеатоз печінки на фоні ЦД характеризувався нерівномірною жировою дистрофією гепатоцитів мікро- та макровезикулярного характеру, відсутністю при цьому запальних змін (рис. 1). Часто траплялися ядра з очевидною маргінацією хроматину за відсутності ядерця ($3,120 \pm 0,164$), що розцінюється як ранні морфологічні зміни, характерні для апоптозу [6]. З меншою частотою ($1,410 \pm 0,112$) виявлялися АТ, які здебільшого групувалися по двоє-четверо, характеризувалися різними розмірами (значно меншими за ядро) і вираженою гіперхромією (див. рис. 1).

Імуногістохімічно в цитоплазмі гепатоцитів з жировою дистрофією поза територію ліпідних крапель, а також у гепатоцитах без дистрофічних змін відмічалася Вах-позитивне забарвлення (див. рис. 1), яке мало дрібногранулярний характер на фоні легкого дифузного забарвлення. Інтенсивність забарвлення (СОЩ) коливалася залежно від площі гістологічного зрізу і у середньому становила ($0,480 \pm 0,012$) у. о. Імуногістохімічне (ІГХ) дослідження протеїну Vcl-2 показало здебільшого відсутність експресії цього антигену, і лише в поодиноких гепатоцитах можна було візуалізувати слідове забарвлення (СОЩ — ($0,090 \pm 0,002$) у. о.). Правильність постановки ІГХ реакції підтверджувалася високою експресією протеїну Vcl-2 в окремих лімфоцитах портальних трактів — ($0,590 \pm 0,003$) у. о., — що відповідає нормі [7]. Саме у даному співвідношенні інтенсивності експресії проапоптотичного антигену Вах та протиапоптотичного антигену Vcl-2 можна вбачати пояснення появи виявленої в даному дослідженні значної кількості морфологічних змін у гепатоцитах, характерних для апоптозу.



При ІГХ визначенні протеїну PCNA позитивне забарвлення визначалося в середньому у $(2,20 \pm 0,03)$ % ядер гепатоцитів, причому воно ніколи не спостерігалось в ядрах з маргінацією хроматину або в апоптотичних тільцях. Оскільки в нормі реакція на PCNA в ядрах гепатоцитів відсутня, то наявність експресії даного антигену пояснюється так: PCNA є аббревіатурою від англ. "Proliferating Cell Nuclear Antigen" — «ядерний антиген клітинної проліферації» [8]. Це протеїн, масою 36 kD, який є кофактором для ДНК-полімерази-дельта в S-фазу та під час синтезу ДНК при її репарації в разі пошкодження. Оскільки період напівжиття PCNA дорівнює 20 год, він може визначатися в клітинах також у G0-фазі. Таким чином, PCNA не можна асоціювати лише з мітотичним циклом та проліферацією. Поява його експресії може бути пов'язана також із процесами відновлення пошкодженої ДНК. У людини посилена проліферація гепатоцитів супроводжується збільшенням частки двоядерних гепатоцитів [7]. Наші дослідження вказують на те, що при НАСП спостері-

гається не збільшення, а навіть зменшення кількості двоядерних гепатоцитів. Таким чином, при НАСП на фоні ЦД посилення експресії PCNA пов'язано скоріше зі спробами певних гепатоцитів відновити пошкоджену ДНК. Якщо ж репарація ДНК не вдається, то клітини вступають на шлях програмованої смерті.

При ЦД некрози гепатоцитів реєструвалися дуже рідко, причому їх можна охарактеризувати як стеатонекрози. При НАСГ на фоні ЦД, окрім переважно дрібнокраплинної жирової дистрофії гепатоцитів, відмічалися розсипні різних розмірів ділянки коліквацийного некрозу гепатоцитів із наявністю лімфоцитів та поліморфоядерних лейкоцитів (рис. 2). Поза зоною некрозу гепатоцити із характерною ЯМХ і АТ траплялися рідко — відповідно $0,080 \pm 0,007$ (відмінність від НАСП з рівнем вірогідності $P < 0,001$) і $0,040 \pm 0,008$ (відмінність від НАСП з рівнем вірогідності $P < 0,001$). Ні в ділянках коліквацийного некрозу, ні поза ними ІГХ не виявляли позитивної реакції на протеїни Вах, Bcl-2 та PCNA. Це означає, що при НАСГ на фоні ЦД кіль-

кість цих протеїнів у гепатоцитах знаходиться нижче порога чутливості методики. Таким чином, для НАСП та НАСГ на фоні ЦД характерною є масова загибель гепатоцитів, однак механізми їх смерті відрізняються, внаслідок чого виникають відмінні морфологічні зміни в печінковій тканині.

Висновки

1. При неалкогольному стеатозі печінки на фоні цукрового діабету 2-го типу відмирання гепатоцитів відбувається в основному за рахунок підсилення апоптозу, який пов'язаний з пошкодженням ядерної ДНК, здебільшого неефективною його репарацією і, як наслідок, посиленою продукцією проапоптотичного протеїну Вах на фоні дефіциту антиапоптотичного протеїну Bcl-2 у гепатоцитах.

2. При неалкогольному стеатогепатиті на фоні цукрового діабету 2-го типу смерть печінкових клітин відбувається головним чином за рахунок некрозу. Це супроводжується низькою експресією протеїну Вах у цитоплазмі гепатоцитів.

Перспектива подальших досліджень полягає у вивченні

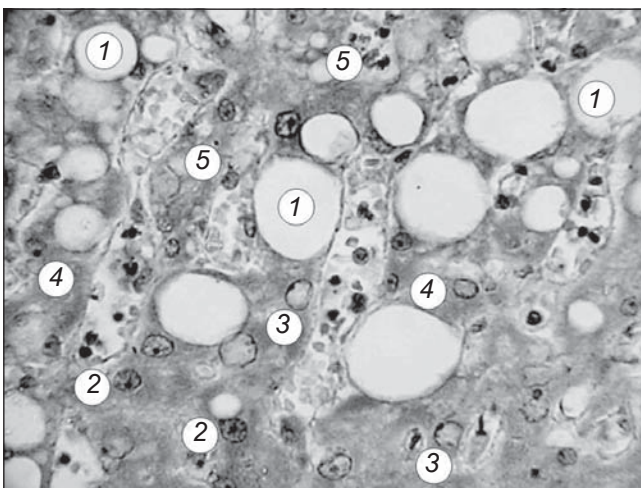


Рис. 1. Стеатоз печінки на фоні цукрового діабету: 1 — ліпідні краплі в гепатоцитах; 2 — нормальне ядро гепатоцита; 3 — ядро гепатоцита з маргінацією хроматину; 4 — позитивна реакція на протеїн Вах в цитоплазмі гепатоцитів; 5 — «апоптотичні тільця». Імуногістохімічне визначення протеїну Вах, дозбарвлення клітинних ядер гематоксином Майєра. $\times 800$

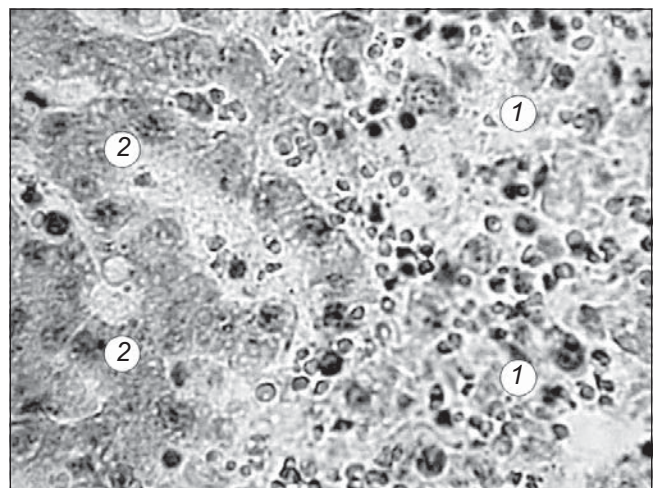


Рис. 2. Стеатогепатит на фоні цукрового діабету: 1 — ділянка коліквацийного некрозу гепатоцитів з наявністю лімфоцитів; 2 — ділянка з мікроезичулярним стеатозом гепатоцитів. Гематоксилін-еозин. $\times 800$

інших регуляторів загибелі клітин при стеатозі печінки та стеатогепатиті на фоні цукрового діабету 2-го типу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вірстюк Н. Г. Експресія Fas Apo-1 (CD95) на лімфоцитах периферичної крові у хворих на алкогольну хворобу печінки // Галиц. лікар. вісник. — 2001. — № 2. — С. 21-23.

2. Hepatocyte apoptosis, expression of death receptors, and activation of NF-kappaB in the liver of nonalcoholic and alcoholic steatohepatitis patients / P. S. Ribeiro, H. Cortez-Pinto, S. Sola et al. // Am. J. Gastroen-

terol. — 2004. — Vol. 99, N 9. — P. 1708-1717.

3. Стародуб Є. М., Галицький В. А. Апоптоз при гастроентерологічних захворюваннях // Сучасна гастроентерологія. — 2002. — № 1. — С. 4-8.

4. Hepatocyte apoptosis and Fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis / A. E. Feldstein, A. Canbay, P. Angulo, M. Tanaii // Gastroenterology. — 2003. — Vol. 125, N 2. — P. 437-443.

5. Давиденко І. С. Напівавторматичний кількісний комп'ютерний аналіз мікроскопічного зображення в гістопатології // Буковин. мед. вісник. — 2000. — Т. 4, № 2. — С. 165-169.

6. Schultz D. R., Harrington W. J. Apoptosis: Programmed cell death at a molecular level // J. Seminars in Arthritis and Rheumatism. — 2003. — Vol. 32, N 6. — P. 345-369.

7. Apoptosis pathway of liver cells in chronic hepatitis / N. L. Chen, L. Bai, L. Li et al. // World J. Gastroenterol. — 2004. — Vol. 10, N 21. — P. 3201-3204.

8. Процессы апоптоза и пролиферации при патологии желудочно-кишечного тракта и печени / В. Т. Ивашкин, Т. Л. Лапина, О. Ю. Бондаренко и др. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктологии. — 2002. — № 6. — С. 38-43.

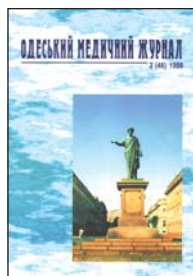
*Передплачуйте
і читайте*

ОДЕСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Передплата приймається у будь-якому передплатному пункті

У випусках журналу:

- ◆ Теорія і експеримент
- ◆ Клінічна практика
- ◆ Профілактика, реабілітація, валеологія
- ◆ Нові технології
- ◆ Огляди, рецензії, дискусії



Ціна передплати на півріччя (три номери):

- для підприємств та організацій — 60 грн;
- для індивідуальних передплатників — 30 грн.

Передплатні індекси:

- для підприємств та організацій — 48717;
- для індивідуальних передплатників — 48405.

