

Черных Александр Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой оперативной хирургии с топографической анатомией, ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Россия, 394000, г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10, тел.: 8-910-746-82-64, e-mail: ymaleev10@yandex.ru.

Малеев Юрий Валентинович, доктор медицинских наук, доцент кафедры оперативной хирургии с топографической анатомией, ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им.Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Россия, 394000, г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10, тел.: 8-919-231-07-35, e-mail: ymaleev10@yandex.ru.

Шевцов Артем Николаевич, ассистент кафедры оперативной хирургии с топографической анатомией, ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия им.Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Россия, 394000, г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10, тел.: 8-920-456-20-51, e-mail: snusmumr-87@mail.ru.

УДК 616.153.915:612.112.93

© Н.Н. Чучкова, Н.В. Кормилина, М.В. Сметанина, В.Б. Комиссаров, 2013

Н.Н. Чучкова^{1,2}, Н.В. Кормилина², М.В. Сметанина², В.Б. Комиссаров²

ВЛИЯНИЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРА «ЛИКОПИД» НА ТУЧНОКЛЕТОЧНУЮ ПОПУЛЯЦИЮ «АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО» СЕРДЦА

¹«Институт иммунологии и физиологии» УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия

²ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России

Проведена морфометрическая оценка активности популяции тучных клеток сердца у экспериментальных крыс с экзогенной гиперхолестеринемией и при иммуномодуляции препаратом ликопид с различной длительностью курсового введения. Показано, что гиперхолестеринемия сопровождается накоплением биологически активных веществ и снижением индексов дегрануляции и гранулолиза, один курс иммуномодулятора приводит к относительной нормализации показателей, пролонгированное введение – к усилению процессов гранулолиза и накоплению биологически активных веществ во внеклеточной среде.

Ключевые слова: тучные клетки, сердце, гиперхолестеринемия, иммуномодуляция.

N.N. Chuchkova, N.V. Kormilina, M.V. Smetanina, V.B. Komissarov

THE EFFECT OF IMMUNOMODULATOR «LICOPID» ON MAST CELLS POPULATION IN THE «ARTHEROSCLEROTIC» HEART

The morphometric evaluation of the activity was carried out in population of mast cells of the heart in experimental rats with exogenous hypercholesterolemia and immunomodulation by «Licopid» with different duration of the course of administration. It was shown that hypercholesterolemia was accompanied by accumulation of biologically active substances and reduced indices of degranulation and granulolysis, one course of immunomodulator may lead to normalization of the relative rates, prolonged administration – to strengthen the processes of granulolysis and accumulation of biologically active substances in the extracellular medium.

Key words: mast cells, heart, high cholesterol, immunomodulation.

Введение. Несмотря на достаточно широкий круг публикаций, возможность использования препарата ликопид при атеросклерозе практически не исследовалась [1].

Цель: выяснить влияние иммуномодулятора (с учетом длительности его введения) на функциональную активность тучных клеток (ТК) как морфологического эквивалента интенсивности иммунных реакций в процессе формирования атеросклеротического сердца.

Материалы и методы исследования. С целью создания экспериментального атеросклероза белые беспородные крысы *Rattus norvegicus* Berk обоего пола с начальным весом 250–300 г. (30 особей) в возрасте 3 месяцев содержались на гиперхолестериновом рационе (0,1 г/1кг) на протяжении всего эксперимента (группа с гиперхолестеринемией – ГХ, или группа сравнения). Исследование выполнялось в соответствии с правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных. Контрольные крысы содержались на общевиарном рационе питания в обычных условиях освещения и двигательной активности (интактный контроль). Через 3 месяца нахождения на холестеринной

диете под контролем показателей липидного обмена часть опытных животных (5 особей) получала внутривенно ликопид в дозе, эквивалентной терапевтической (10 мг/кг), в течение 10 дней (ГХ + 1 курс ликопида), согласно аннотации предписанного курсового лечения в клинике. Дополнительной группе крыс (5 особей) иммуномодулятор вводился в течение 20 дней (ГХ + 2 курса ликопида). Сердце подвергали стандартной гистологической обработке для световой микроскопии с заливкой в парафин, окраской гематоксилином-эозином для обзорной оценки гистоструктуры органа, для качественной и количественной характеристики ТК использовали красители азур-II-эозин и толуидиновый синий. Подсчет количества ТК производили под микроскопом при увеличении объектив $\times 10$, окуляр $\times 100$ на 100 клеток. Представление о функциональном состоянии ТК дает подразделение их по степени дегрануляции на четыре типа, с последующим расчетом индексов активности ТК: дегрануляции (ИД), гранулолизиса (ИГ), суммарного гранулолизиса (ИСГ), насыщения гепарином (ИНГ) [2].

Статистическая обработка материала велась в разработанной базе данных в программе Microsoft Office Excel, Statistica 6.0.

Результаты исследования и их обсуждение. Лаброциты сердечной мышцы представлены клетками разнообразной формы и интенсивности окрашивания. Так, типичные, крупные, округлые клетки располагаются вдоль сосудов, под эпикардом; клетки небольших размеров, вытянутые и веретеновидные варианты, обнаруживаются среди кардиомиоцитов. Дегранулировавших клеток с россыпью отдельно лежащих гранул в контроле мало, не более 7–10 %. Соотношение различных форм ТК у интактных крыс следующее: А – 22,6 %; В – 20,9 %; С – 28,7 %; D – 27,8 %. Подобная ситуация свидетельствует об уравновешенном состоянии популяции в отношении синтеза и секреции биологически активных продуктов, причем учитывая равные по величине индексы дегрануляции (0,29) и гранулолизиса (0,28), процессы апокриновой и мерокриновой секреции в тучных клетках сердца протекают с одинаковой интенсивностью. Индекс насыщения гепарином в контрольной популяции ТК составляет 0,77.

Гиперхолестериновая диета, получаемая крысами, приводит к длительной дислипидотеинемии, сопровождающейся изменениями основных параметров липидного обмена, регистрируемых в крови [5]. Было отмечено, что повышение уровня жирных кислот в крови ведет к накоплению в мастоцитах большого числа липидных капель, что не характерно для тучных клеток в норме или при другой патологии миокарда [4]. Соотношение при ГХ разных типов клеток составляет : А – 28,6 %; В – 38,9 %; С – 16,9 %; D – 15,6 %. В связи с этим резко падает индекс суммарного гранулолизиса, а насыщение клеток гепарином возрастает в 2,7 раза (с 0,77 в контроле до 2,08 – при ГХ). При активации тучных клеток в ответ на нервные или иммунные стимулы содержимое гранул поступает в межклеточное пространство путем апокринового и мерокринового типов секреции: дегрануляция (выход гранул) и гранулолизис (секреция содержимого гранул) [3]. Индекс суммарного гранулолизиса (отношение суммы фенотипов С + D к общему числу клеток) отражает интенсивность процессов мерокриновой секреции и его снижение свидетельствует о смене типа секреции при ГХ в пользу апокринового варианта. Подобную ситуацию можно трактовать как ситуацию напряжения, свидетельствующую об усиленном синтезе и накоплении биологически активных веществ в клетках.

Введение иммуномодулятора на фоне гиперхолестеринемии резко меняет соотношение форм клеток в популяции и теперь они представлены следующим рядом: 36,5 : 15,9 : 28,6 : 19,0, соответственно А : В : С : D. Различия существенны как по сравнению с контролем, так и группой сравнения, однако рассчитываемые на их основе индексы показывают восстановление ИД до нормы (0,29), стремятся к нормализации, но не достигают контрольных значений индексы гранулолизиса (ИСГ в описываемой экспериментальной группе 0,48; в контроле – 0,57, при ГХ – 0,32), снижается насыщение гепарином ТК (ИНГ = 1,1). Таким образом, однократный курс иммуномодуляции ликопидом, несмотря на имеющиеся количественные различия в субпопуляциях ТК, выравнивает, судя по индексам, ситуацию в отношении активности секреторных процессов в клетках, однако тип секреции сдвинут в сторону апокринового варианта над мерокриновым.

Введение двух курсов иммуномодулирующего вещества приводит к очередной смене фенотипа популяции ТК. В этой экспериментальной группе соотношение клеток с различной окраской толуидиновым синим составляет: А – 21,2 %, В – 28,4 %, С – 18,9 %, D – 31,5 %. Отмечается снижение количества крупных клеток, заполненных специфической зернистостью, при одновременном возрастании числа мастоцитов, содержащих единичные гранулы мелких размеров, иногда напоминающих клетки-тени. Индекс насыщения гепарином падает (0,98), индекс гранулолизиса растет как по отношению к контролю, так и в сравнении с группой налудения-1 (ГХ + ликопид-1). Таким образом, после второго курса иммуномодулятора популяция истощена, восстановления не происходит, более то-

го, ситуация с точки зрения выхода активных веществ (помимо гепарина, ТК содержат гистамин, серотонин, воспалительные медиаторы, протеазы) становится критической. Учитывая тесную связь ТК с кровеносными и лимфатическими сосудами, повышение дегрануляции и гранулолизиса в эксперименте делает возможным не только паракринное воздействие на микроокружение ТК, но и, вследствие активного выброса биологически активных веществ (БАВ), провоцирует отдаленные эффекты на другие ткани и органы. Так, участие сердца в анафилактических реакциях у человека за счет местного выброса вазоактивных веществ тучными клетками самого сердца показано рядом авторов [8]. При условии выраженного атеросклеротического процесса, наличии сформированной атеросклеротической бляшки массивный выход гранул, содержащих биологически активные вещества, опасен и может провоцировать разрыв атеромы содержащимися в них ферментными комплексами [9]. Так, в микроокружении тучных клеток обнаруживаются такие признаки дегрануляции, как триптазоположительные гранулы [6]. С другой стороны, процесс атерогенеза в начальных стадиях его формирования и активизация тучноклеточной популяции может быть явлением положительным, поскольку показано, что стимуляция дегрануляции тучных клеток крыс в присутствии липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) сопровождается усилением их модификации с последующим массивным поглощением их макрофагами. Поскольку использованный иммуномодулятор ликопид имеет моноцитарно-макрофагальный механизм действия, можно предположить снижение липопротеинемии, что наблюдалось при исследовании фракций крови [1]. Гепарин тучных клеток образует крупные нерастворимые комплексы с ЛПНП, которые также поглощаются макрофагами за счет рецепторно-опосредованного фагоцитоза с накоплением холестерина [7].

Заключение. Тучноклеточная популяция сердца активно включается в процесс атерогенеза накоплением в цитоплазме биологически активных веществ. Введение иммуномодулятора приводит к относительной нормализации пула ТК, что отражается в индексах ТК, характеризующих процессы дегрануляции и насыщения мастоцитов БАВ. Увеличение длительности введения ликопида приводит к истощению пула медиаторов в лаброцитах с повышением концентрации их за пределами клеток, в межклеточном пространстве и сосудистом русле, что может способствовать прогрессированию атеросклеротических изменений, а не предотвращению их.

Список литературы

1. Гайсина, Э. Ш. Клинико-экспериментальная оценка влияния иммуномодулятора ликопида на клетки иммунной системы и липидный обмен при атеросклерозе / Э. Ш. Гайсина, А. А. Санникова, Н. Н. Чучкова и др. // Иммунология Урала. – 2007. – № 1 (6). – С. 118–119.
2. Кондашевская, М. В. Тучные клетки и гепарин – ключевые звенья в адаптивных и патологических процессах / М. В. Кондашевская // Вестник РАМН. – 2010. – № 6. – С. 49–54.
3. Линднер, Д. П. Морфометрический анализ популяции тучных клеток / Д. П. Линднер, И. А. Поберий, М. Я. Розкин, В. С. Ефимов // Архив патологии. – 1980. – № 6. – С. 60–64.
4. Павлович, Е. Р. Ультраструктурные особенности строения тучных клеток в миокарде животных и человека. Проблемы и перспективы сравнительного анализа / Е. Р. Павлович // Фундаментальные науки и практика. – 2010. – Т. 1, № 2. – С. 18.
5. Санникова, А. А. Иммуномодулирующее действие глюкозаминилмурамилдипептида / А. А. Санникова, Н. Н. Чучкова, Э. Ш. Гайсина // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2008. – № 1 (19). – С. 64–67.
6. Kaartinen, M. Accumulation of activated mast cells in the shoulder region of human coronary atheroma, the predilection site of atheromatous rupture / M. Kaartinen, A. Penttila, P. T. Kovanen // Circulation. – Vol. 90, № 4. – P. 1669–1678.
7. Lindsteadt, K. A. Soluble heparin proteoglycans released from stimulate mast cells induce uptake of low density lipoproteins by macrophages via scavenger receptor-mediated phagocytosis / K. A. Lindsteadt, J. O. Kokkonen, P. T. Kovanen // J. Lipid Res. – 1992. – № 33. – P. 65–75.
8. Marone, G. Human heart mast cells in anaphylaxis and cardiovascular disease / G. Marone, V. Patella, G. de Crescenzo et al. // Int. Arch. Allergy Immunol. – 1995. – Vol. 107. – P. 72–75.
9. Theoharides, T. C. Mast cells squeeze the heart and stretch the gird : their role in atherosclerosis and obesity / T. C. Theoharides, N. Sismanopoulos, D. A. Delivanis et al. // Trends Pharmacological Sciences. – 2011. – Vol. 32, № 9. – P. 534–542.

Чучкова Наталья Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунопатофизиологии, «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской Академии наук, Россия, 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская 106; e-mail: mig05@inbox.ru; заведующая кафедрой биологии с экологией, ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России; 426034, Россия, г. Ижевск, ул. Коммунаров, д. 281 (морфологический корпус), тел.: (3412) 91-82-87, e-mail: biologya@igma.udm.ru.

Кормилина Наталья Владимировна, кандидат биологических наук, исполняющая обязанности старшего преподавателя кафедры биологии с экологией, ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России, Россия, 426034, г. Ижевск, ул. Коммунаров, д. 281 (морфологический корпус), тел.: (3412) 91-82-87, e-mail: biologya@igma.udm.ru.

Сметанина Марина Викторовна, аспирант кафедры биологии с экологией, ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России, Россия, 426034, г. Ижевск, ул. Коммунаров, д. 281 (морфологический корпус), тел.: (3412) 91-82-87, e-mail: biologya@igma.udm.ru.

Комиссаров Вячеслав Борисович, заочный аспирант кафедры биологии с экологией, ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России; 426034, Россия, г. Ижевск, ул. Коммунаров, д. 281 (морфологический корпус), тел.: (3412) 91-82-87, e-mail: biologya@igma.udm.ru.

УДК 617.541-073-091]-053.2

© В.Б. Шамик, Б.А. Давуд, К.Г. Франциянц, 2013

В.Б. Шамик¹, Б.А. Давуд¹, К.Г. Франциянц²

СКАНИРУЮЩАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ ГРУДИНЫ У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ВОРОНКООБРАЗНОЙ ГРУДНОЙ КЛЕТКИ

¹ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России

²ГУЗ «Детская областная больница», г. Ростов-на-Дону

Выполнена сканирующая электронная микроскопия грудины у 10 больных с воронкообразной грудной клеткой в возрасте 14–17 лет. У 6 детей диагностирована асимметричная деформация, а у 4 – симметричная. Контролем служили результаты сканирующей электронной микроскопии грудины 3 здоровых пациентов 14–16 лет. Костные пластинки, состоящие из комплекса коллагеновых структур и имеющие большое количество отверстий, формируются в трабекулы. Интерстициальным пространством губчатого вещества являются каналы и лакуны. Эритропоэз протекает в эритробластических островках. Кроветворные клетки в виде шнуров располагаются между сосудами, образуя дольки. Электронно-микроскопическая картина грудины в норме и при воронкообразной деформации грудной клетки однородная.

Ключевые слова: воронкообразная грудь, электронная микроскопия, грудина, дети.

V.B. Shamik, B.A. Davud, K.G. Frantsiyants

THE SCANNING ELECTRON MICROSCOPY OF STERNUM IN CHILDREN WITH DIFFERENT FORMS OF FUNNEL CHEST

The scanning electron microscopy of the sternum in 10 patients with funnel chest between the age of 14–17 years was done. In 6 children it was diagnosed the asymmetric deformation, and 4 – symmetric. Scanning electron microscopy results served as control sternum of three healthy subjects of 14–16 years of age. Bony plates consisted of complex collagen structures and having large number of holes were formed in the trabecules. Interstitial space of the spongy substance were canals and lacunes. Erythropoiesis occurred in erythroblastic islands. Hematopoietic cells in the form of cords were located between the vessels forming lobes. Electron-microscopic picture of the sternum in normal and funnel chest were homogeneous.

Key words: funnel chest, electron microscopy, sternum, children.

Введение. При воронкообразной грудной клетке (ВДГК) деформации подвержены в той или иной степени и ребра, и грудина. Однако в научной литературе, посвященной этиопатогенезу данного заболевания, имеются лишь единичные работы, в которых исследуется грудина [6, 9, 10, 11]. Мнения авторов о влиянии грудины на формирование воронкообразной деформации противоречивы: одни