

УДК 616 -092.9: 612.627.1: 546.791

Особенности цитоморфологических показателей эпителиальных клеток у экспериментальных животных при гипоксической нагрузке в барокамере

Асекова К.И.

Научный руководитель: д.м.н, профессор Тухватшин Р. Р.

Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева, Бишкек

Бишкек, Кыргызстан (720040 г. Бишкек, ул. Жибек-Жолу, д. 98), e-mail:

kymbat.asekova@mail.ru

Резюме: Актуальность проблемы патологического процесса - хронической гипоксии для организма заключается в том что, она вызывается эндо-, экзогенными полиэтиологическими факторами и всегда сопровождает различные хронические заболевания, такие как сердечно - сосудистые, респираторные и болезни крови, а также метаболические и дистрофические патологические процессы. В том числе влияние хронической гипоксии на кариологическую структуру которая связано, сниженным количеством АТФ, приводящее к нарушению Na/K-АТФазного канала и внутриклеточного осмотического дисбаланса ионов, которые повреждают кариолемму, а также ингибируются внутриклеточные регуляторные ферменты, влияющие на пролиферации, митоз и рост клеток.

Эксперименту подвергались 40 беспородных лабораторных крыс (самки), в котором опытная группа (20 крыс) подвергалась к действию хронической гипоксии в условиях барокамеры. Проведено сравнительное цитологическое исследование кариологических структур эпителиальных клеток слизистого слоя влагалища у лабораторных животных контрольной и опытной группы. Полученные результаты микроядерного теста указали повышение частоты показателей пролиферации, ранней и завершения деструкции ядра, а также образование эпителиальных клеток с атипичными кариологическими структурами у эпителиоцитов слизистой влагалища у животных опытной группы, указывающих цитогенетических аномалий.

Ключевые слова: кариологические структуры, эпителиальные клетки, микроядерный тест, гипоксическая нагрузка, барокамера.

Features of cytomorphological parameters of epithelial cells in experimental animals under hypoxic load in the pressure chamber

Asekova K. I.

Scientific adviser: doctor, prof. Tuhvatshin R.R.

I.K. Ahunbaeva Kyrgyz state medical academy, Bishkek

Bishkek, Kyrgyzstan (720040, Bishkek, Jibek- Jolu st. 98), e-mail: kymbat.asekova@mail.ru

Resume. The urgency of the problem of pathological of the pathological process of hypoxia lies in the fact that it is caused by endo-, exogenous polyethological factors and always accompanies a variety of chronic diseases such as cardiovascular, respiratory and illness of blood, as well as metabolic and dystrophic pathological processes. Including the effect of a chronic hypoxic karyological structure that is associated with a reduced amount of ATP leading to Na/K-ATPase channel disruption and intracellular osmotic imbalance of ions that damage the karyolemma, and inhibits intracellular regulatory enzymes that affect proliferation, mitosis and cell grows.

40 out-of-breed laboratory rats were subjected to the experiment, in which the experimental group was subjected to the action of chronic hypoxia under the condition of a pressure chamber. Was carried a comparative cytological study of the karyological structures of the epithelial cells of the mucus layer in laboratory animals of control and experimental groups. The results of micronucleus test indicate an increased frequency of proliferation indicators of early and complete destruction of the nucleus, as well as the formation of the epithelium with atypical karyological structures indicating cytogenetic abnormalities in cells of experimental rats.

Key words: karyological structures, epithelial cells, micronucleus test, hypoxic loading, pressure chamber.

Введение

Актуальность проблемы патологического процесса - хронической гипоксии для организма заключается в том что, она вызывается эндогенными, а также экзогенными полиэтиологичными факторами и всегда сопровождает различные хронические заболевания, такие как сердечно- сосудистые, респираторные и гематологические, а также большинство метаболические и дистрофические патологические процессы. Изучение длительного воздействия хронической гипоксии на высокорегенераторные клетки, в частности эпителиоциты слизистой влагалища представляет огромный интерес, с учетом того, что относится к основным защитным покровным тканям, которые первыми подвергаются патологическим факторам и может стать индикатором местного, а также общего состояния организма[1;2;3].

Применение микроядерного теста для исследования кариологических показателей эпителиальных клеток влагалища имеет существенное значение, т.к. длительное хроническое воздействие гипоксии на клетки, в особенности базального слоя приводит к нарушениям протекающих реакций, физиологических и биохимических процессов, а также нарушению клеточного деления и роста [4;5].

Известно что, длительная хроническая гипоксия снижает уровень окислительного фосфорилирования, приводящее к снижению АТФ и внутриклеточному ацидозу, из-за накопления лактата из за ослабления аэробного окисления. Сниженное количество АТФ приводит к нарушению Na-K/АТФазного канала и внутриклеточного осмотического дисбаланса ионов, которые повреждают мембрану органелл, а также в том числе кариолемму. Ингибирования различных ферментов при изменении внутриклеточного рН среды в базальных клетках приводит к различным нарушениям процесса пролиферации (в виде двуядерности, с круговой насечкой), деления и патологически влияет на течения метафазы (образование при этом микроядер) [1;6].

Целью данного исследования явилось изучить особенности цитоморфологических показателей эпителиоцитов влагалища у экспериментальных животных при гипоксической нагрузке в барокамере.

Материал и методы исследования.

Исследованию подвергались 40 белых беспородных половозрелых крыс (самки), весом 220-280 граммов, которые были разделены на следующие 2 группы: I. контрольная группа (20 крыс) и II. опытная группа (20 крыс).

Для создания условия хронической гипоксии, животных опытной группы поднимали в гипоксической барокамере на высоту 2500 метров в течение 6 часов. Исследование длилось в течении 60 дней, после чего исследовали влагалищные мазки у лабораторных животных – крыс (самок) .

Объектом исследования послужил эпителиальные клетки слизистой влагалища. Для проведения микроядерного теста брали соскобы из влагалища у экспериментальных крыс гинекологическим одноразовым шпателем, приготавливали мазки и окрашивали азур-эозином по Романовскому.

Далее изучались препараты под микроскопом в иммерсии при увеличении в 90x1,5x1,0. Для анализа микроядерного теста отбирали отдельно лежащие клетки с непрерывным гладким краем ядра. На каждом препарате анализировали более 800 клеток.

Статистическая обработка материала проводилась методом вариационной статистики с помощью компьютерного программного пакета Microsoft Excel. Вычислялось среднее значение (M), ошибка средней величины (m). Разницу средних величин оценивали по критерию t -критерию Стьюдента и вероятности P , которую признавали статистически значимой при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждения.

Учитывая цикличность эстрального цикла у лабораторных крыс- самок, исследовали мазки фазы проэструса (рис.1.), т.к.в этой фазе эпителиальные клетки созревшие, имеют четкие очертания, а также отсутствуют слизь, лейкоциты, которые обильные в фазах диэструса (рис.2.) и метаэструса (рис.3.), а также ороговевшие безъядерные клетки, наблюдающиеся в эструсе (рис.4.).

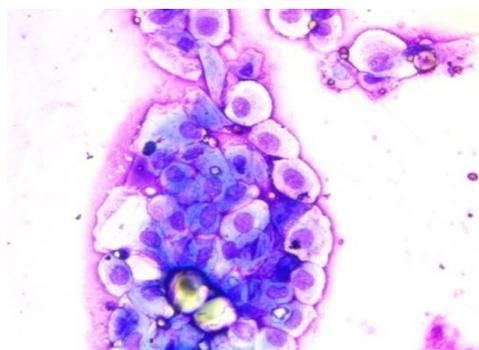


Рис. 1. Влагалищный мазок в фазе - проэструса наблюдаются эпителиальные клетки поверхностного слоя и единичные чешуйчатые клетки (x90).

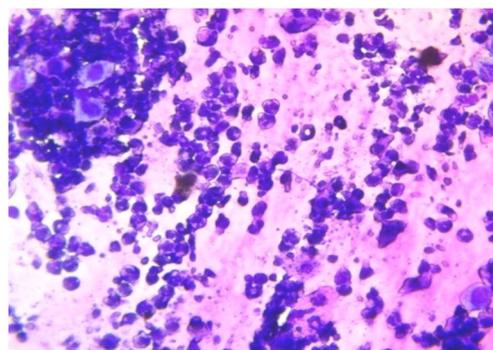


Рис.2. Влагалищный мазок у крыс контрольной группы в фазе - диэструса: отмечаются преобладание лейкоцитов, единичные клетки парабазального слоя и большое количество слизи (x90).

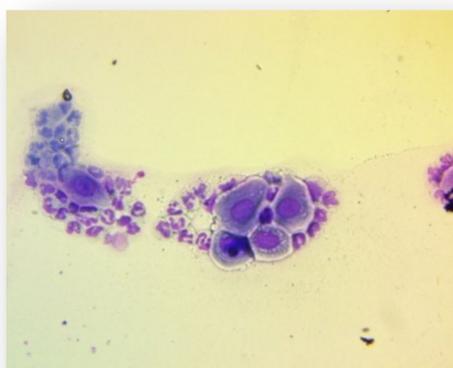
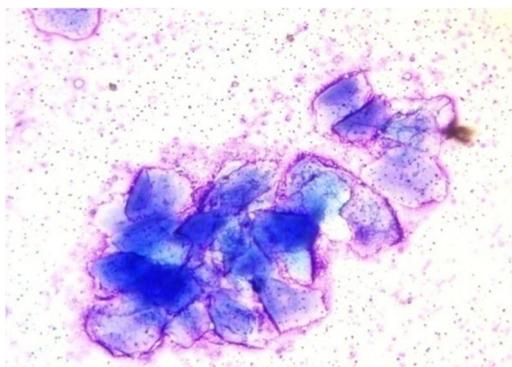


Рис. 1А. Влагалищный мазок в фазу эструса - у экспериментальных крыс контрольной группы имеются скопления чешуйчатых клеток (x90).

Рис. 1В. Влагалищный мазок в фазу метаэструса: у экспериментальных крыс в контрольной группе имеются парабазальные эпителиоциты и лейкоциты (x90).

В результате исследований микроядерного теста, нами определены ряд изменений цитогенетического состояния и морфологии кариологической структуры эпителиальных клеток у экспериментальных животных, подвергающихся длительной хронической гипоксии. Как приведено в таблице 1, все показатели опытной группы превышают показателей контрольной группы. У опытной группы ($4,8 \pm 0,8$) частота клеток с микроядрами превышает по сравнению с контрольной группой ($4,4 \pm 0,7$), а с протрузиями составляет $5,0 \pm 0,6$, тогда как у контрольной группы $3,9 \pm 0,8$. У контрольной группы показатели с МЯ и протрузиями имеет низкие значения ($2,9 \pm 0,4$), чем у опытной группы ($4,7 \pm 0,3$), где $P < 0,05$. Цитогенетический показатель с ядром атипичной формы у опытной группы составил $5,4 \pm 0,8$, а в контрольной группе - $3,4 \pm 0,5$.

Показатели пролиферации, характеризуются появлением атипичных клеток образованных в ходе патологического митоза эпителиоцитов: с двумя ядрами, возникающие в результате полиплоидирующего ацитокинетического митоза в опытной группе - $5,0 \pm 0,1$, а в контрольной группе - $5,0 \pm 0,1$ ($P > 0,05$), но с круговой насечкой в контрольной группе ниже, по сравнению с опытной группой ($1,6 \pm 0,3$, $P < 0,05$).

Таблица 1. Цитоморфологические показатели контрольной и опытной группы.

Показатели	Группы		Уровень достоверности, P_{1-2}
	Контрольная, $n=20$, $M \pm m$	Опытная, $n=20$, $M \pm m$	
Цитогенетические показатели клеток			
С МЯ	$4,4 \pm 0,7$	$4,8 \pm 0,8$	$>0,05$
С протрузиями	$3,9 \pm 0,8$	$5,0 \pm 0,6$	$>0,05$
С МЯ и протрузиями	$2,9 \pm 0,4$	$4,7 \pm 0,3$	$<0,05$
С ядром атипичной формы	$3,4 \pm 0,5$	$5,4 \pm 0,8$	$>0,05$
Показатели пролиферации клеток			
С двумя ядрами	$4,4 \pm 0,6$	$5,0 \pm 0,1$	$>0,05$

С круговой насечкой	1,6±0,3	4,0±0,01	<0,05
Показатели ранней деструкции ядра			
С перинуклеарной вакуолью	3,8±0,6	9,3±1,6	<0,05
С конденсацией хромосомы	2,8±0,5	4,5±0,5	>0,05
С вакуолизацией ядра	3,7±0,6	8,3±1,2	<0,05
Показатели завершения деструкции ядра			
С кариорексисом	4,0±0,6	4,4±0,7	>0,05
С кариопикнозом	2,8±0,6	3,8±0,8	>0,05
С кариолизисом	3,6±0,6	4,2±0,8	<0,05
С апоптозными телами	2,2±0,4	5,0±1,0	<0,05
Клетки с нормальной структурой	662,1±49,1	851,6±207,8	>0,05

Частота встречаемости ранней деструкции ядра в опытной группе с хронической гипоксией значительно превышает показатели контрольной группы, где с перинуклеарной вакуолью значения составляют 9,3±1,6, $P < 0,05$, что свидетельствует об увеличении количества клеток с некрозом и апоптозом. Также с вакуолизацией ядра у контрольной группы частота клеток составляет 3,7±0,6, тогда как у опытной группы колеблется в пределах 8,3±1,2 ($P < 0,05$). С конденсацией хромосомы указывающих о снижении интенсивности обновления влагалищного эпителия в контрольной группе ниже (2,8±0,5), чем в опытной группе (8,3±1,2).

У опытной группы показатели завершения деструкции ядра также выше, чем у контрольной группы (Таб.1). Частота клеток с кариорексисом, представляющего собой дегенеративное изменение ядра в клетке, сопровождающееся распадом его на отдельные интенсивно окрашенные части с гомогенной структурой, которые морфологически характеризуются многочисленными фрагментами ядра в цитоплазме в опытной группе составляли 4,4±0,7, а в контрольной группе 4,0±0,6 ($P > 0,05$). Известно, что увеличение уровня кариорексиса, свидетельствует об активности процессов апоптоза, который возникает при патологических изменениях клетки.

Таким образом, на основании анализа спектров нарушений можно выявить превышение значений во всех показателях микроядерного теста у опытной группы, подвергающихся к действию хронической гипоксии.

Выводы

На основании проведенного исследования, можно сделать следующие выводы: длительное действие хронической гипоксии на влагалищный эпителий у лабораторных животных оказывает влияние на стабильность генетического аппарата. Изменение генома эпителиоцитов влагалища приводит к нарушению их функции и ослаблению функциональной значимости эпителиальной ткани, в дальнейшем к возникновению ряд других патологических процессов.

Литература:

- 1) П.Ф. Литвицкий в двух томах, Патофизиология I том, 2003 – 478с.
- 2) проф.Ю.И.Афанасьев, проф. Н.А. Юрина Гистология, цитология и эмбриология. 5-изд.2002- 715с.
- 3) Е.Н. Горбань Влияние гипоксии на функциональное состояние организма крыс разного возраста, подвергнутых R-облучению.2016 – 401-425с.
- 4) Калаев В.Н. Частота встречаемости клеток с микроядрами в плоском эпителии, полученном из соскоба с шейки матки женщин детородного возраста при различных физиологических состояниях, в норме и при воспалении / Калаев В.Н., А.К. Бугорина, О.Л.Кудрявцева // Естествознание и гуманизм. 2006. Т. 3. №2 -22-23с.
- 5) Tolbert A.E., Shy C.M., Allen J.M. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods of development // Mut. Res. 1992. Vol.271 – 69-77p.
- 6) Калаев В.Н., Г.Б. Скамрова, И.В. Игнатова. Оценка стабильности генетического материала мужчин, больных параноидной шизофренией, на разных стадиях лечения с использованием микроядерного теста в буккальном эпителии. Журнал Экологическая генетика том XII №3 2015.