

Евтеева М. С., Павельева Н. И., Быков Э. Г.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ ЭПИТЕЛИЯ ТОЩЕЙ КИШКИ НА ФОНЕ ИЗМЕНЕНИЯ БИОСИНТЕЗА НУКЛЕОПРОТЕИДОВ

*Кафедра гистологии (заведующая – проф. З. А. Воронцова) и Центральная научно-исследовательская лаборатория (заведующий – к. м. н. Д. Ю. Бугримов) Воронежской государственной медицинской академии им. Н. Н. Бурденко, Воронеж,
e-mail: vrn-vntoage@rambler.ru*

Оцениваются показатели физиологической регенерации эпителия тощей кишки крыс при воздействии на организм химических соединений, лимитирующих биосинтез нуклеопротеидов [8]. В качестве такой ситуации рассматривается фолиевая недостаточность, развивающаяся на фоне введения аминоптерина, необратимо ингибирующего тетрагидрофолатредуктазу, что приводит к блокаде синтеза пуриновых и пиримидиновых оснований [2]. Такого рода эффекты рассмотрены на модели крипты тощей кишки, в пределах которой оценивались морфологические изменения эпителия, уровень митотического индекса, показатели плоидности и длительность фаз синтеза ДНК.

Материал и методы исследования. Исследования выполнены на материале 295 белых беспородных крыс. Раствор аминоптерина (производство American Cyanid Company) в концентрации 0,01 мг/100 г массы тела вводили ежедневно и через двое суток. В концентрации 0,005 мг/100 г массы тела – ежедневно, на протяжении 50 суток. Животных забивали декапитацией. Фрагменты тощей кишки фиксировали в смеси Карнуа. ДНК идентифицировали после холодного гидролиза в 5-нормальной HCl [10], окрашиванием Шифф-реактивом по Томази. Микроденситометрические зондовые исследования выполнены на однолучевом микроденситометре [1] при длине волны 560 нм. Ошибка измерений составляла менее 1 %. Временные показатели биосинтеза ДНК оценивали в соответствии с рекомендациями А. И. Шерудилло [7] – по оси абсцисс обозначали длительность периодов интерфазы ядер кишечного эпителия, где фаза G₁ составляет 6 часов, S – 7–8 часов, G – 75 минут [5, 6]. Гистоморфологическая оценка эффектов введения аминоптерина выполнена на срезах, окрашенных гематоксилином Караци – эозином. Митозы в ядрах эпителия крипт подсчитывали при увеличении 90×20 в 100 криптах. Результаты обрабатывали методиками вариационной статистики.

Результаты исследования и их обсуждение. Слизистая оболочка тощей кишки животных контрольной группы имеет типовую организацию ворсинок и зоны крипт. Величина митотического индекса криптальных эпителиоцитов составляет $3,65 \pm 0,75$. Судя по гистограммам плоидности ядер, преобладают клетки с высоким содержанием ДНК – что определяется на гистограмме по сдвигу вправо, в сторону увеличения содержания клеток с ядрами плоидностью от 3 до 4n. Диплоидные ядра составляют лишь 4–5 % от общего их количества. Форма кривой синтеза ДНК свидетельствует о высоком уровне биосинтетических процессов в S-фазе.

На фоне развивающейся фолиевой недостаточности, обусловленной введением больших доз аминоптерина (0,01 мг/100 г массы тела) ежедневно либо через

двое суток, формируются выраженные изменения рельефа слизистой оболочки, выражающиеся в различии высоты ворсинок, нарушении дифференцировки эпителия. В криптах формируются кисты, а их полость заполнена клеточным детритом. Происходит интенсивное слущивание эпителия с ворсинок с образованием эпителиальных трубок, отторгающихся в полость кишечника. Утрата ворсинчатой организации слизистой оболочки может быть столь значительной, что определяются ее участки, выстланные уплощенным эпителием. На этом фоне существенно снижается величина митотического индекса до значений $0,25 \pm 0,01$ (ежедневное введение аминоптерина) и $1,4 \pm 0,8$ (через двое суток).

На этом фоне определяются выраженные сдвиги в характеристиках гистограммы плоидности, где определяется сдвиг до значений $5n$ и происходит утрата диплоидных ядер. Такому состоянию соответствует укорочение синтетической фазы биосинтеза ДНК. Частичная редукция таких изменений определяется после 7 и 9 инъекции аминоптерина, когда на гистограмме устанавливаются показатели, близкие к физиологическим.

Уменьшение дозировки аминоптерина до $0,005$ мг/100 г массы тела не сопровождается выраженными изменениями рельефа слизистой оболочки тощей кишки, сохраняется ее ворсинчатая организация. Лишь к концу эксперимента (60-е сутки) определяется тенденция к снижению высоты ворсинок. Строма в значительной мере редуцирована, что при морфологическом исследовании создает впечатление истончения слизистой оболочки, отсутствует уплощение эпителия. Ядра эпителиоцитов крипт часто набухшие, с просветленной кариоплазмой, часть ядер пикнотизирована. Величина митотического индекса эпителия крипт снижена в два раза (от $1,0 \pm 0,05$ до $1,4 \pm 0,17$) с небольшими индивидуально обусловленными вариациями.

Постоянно определялся сдвиг разрядов гистограммы до величины $5n$ и более с уменьшением содержания диплоидных ядер. Наиболее существенные ее изменения происходят на 30–55-е сутки, когда крайним левым пределом гистограммы становятся ядра с значением плоидности $3n$. К 60-м суткам эксперимента определяется сдвиг вправо до $6n$, диплоидные ядра отсутствуют. Содержание эпителиоцитов крипт с плоидностью ядер от $3n$ до $5n$ составляет 10 до 23 % от общего количества при укорочении S-фазы. По достижении 60-х суток введения аминоптерина синтез ДНК прекращается.

Полученные результаты в основном укладываются в теоретические представления о механизмах фолиевой недостаточности как причины несостоятельности пролиферативных процессов. Это связано с тем, что аминоптерин является химическим фактором, блокирующим восстановление фолиевой кислоты в ее коферментную форму, катализируемую дегидрофолатредуктазой, угнетает синтез оснований аденина и гуанина. Фолиевая кислота, не принимая непосредственного участия в биосинтезе пиримидинового кольца в ее коферментной форме, является всего лишь донором метильных групп дезокситимидинметафосфата. Дезорганизация такого процесса рассматривается как ключевой фактор диссоциации фаз пролиферативного процесса в эпителии, о чем свидетельствует падение уровня митотической активности, расширение гистограммы плоидности и укорочение синтетической фазы биосинтеза ДНК.

Необходимо иметь в виду, что фолиевая недостаточность имеет более широкий спектр эффектов. В частности, восстановленная форма фолиевой кислоты принимает участие в реакциях отщепления и переноса многоуглеродных фрагментов, что имеет непосредственное отношение к обмену серина, глицина, гистидина и биосинтезу метионина.

С учетом сделанных замечаний по поводу особенностей обмена фолиевой кислоты следует оценивать результаты введения высоких и низких доз аминокперина. В самом деле, при введении препарата в дозе 0,01 мг/100 г массы тела одновременно с угнетением митотической активности происходят изменения гистоархитектоники слизистой оболочки тонкой кишки, блокада процессов дифференцировки элементов каемчатого призматического эпителия и глубокие изменения формообразования [3, 4]. Последние выражались не только в укорочении ворсинок и появлении локусов слизистой, выстланных уплощенным эпителием, но и кистозной трансформацией крипт, а также изменениями в содержании серо-содержащих белков в щеточной кайме, различного вида клеток в интерстиции.

Рассматривая эффекты дефицита фолиевой кислоты в зависимости от уровня доз ее антиметаболита, нельзя не прийти к выводу, что только низкие концентрации аминокперина отражают изменения показателей пролиферативной активности, близкие к теоретически ожидаемым. Снижение дозы препарата с 0,01 мг/100 г массы тела до 0,005 мг/100 г массы тела не сопровождается существенными нарушениями формообразовательных процессов в слизистой — сохраняется ее ворсинчатая организация, отсутствуют изменения крипт, отсутствуют выраженные нарушения гистохимических показателей. В этой ситуации приоритетными становятся процессы, связанные с пролиферативной активностью — снижается величина митотического индекса, увеличивается плоидность ядер более $4n$, укорачивается или блокируется синтетический период биосинтеза ДНК. Есть лишь одно обстоятельство, существо и причины которого трудно поддаются объяснению, — формирование признаков атрофии слизистой оболочки тощей кишки, как, впрочем, и тотальное истончение ее стенки. Полученные материалы не позволяют однозначно оценить такие эффекты фолиевой недостаточности.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Быков Э. Г.* Аппаратура для цитофотометрического исследования сердечной мышцы в видимой части спектра // Изобретения и предложения в кардиологии. Куйбышев, 1975. С. 15–18.
2. *Доброходова Ю. Э., Джобавя Э. М., Хейдер Л. Х.* Значение фолиевой кислоты в акушерстве и перинатологии // Проблемы репродукции. 2006. Т. 12. № 1. С. 98–101.
3. *Евтеева М. С.* Гистофизиология и гистохимия тощей кишки крыс в норме и при фолиевой недостаточности, вызванной введением аминокперина: Дис. ... канд. мед. наук. Воронеж, 1971.
4. *Евтеева М. С., Свиридова Л. Н., Быков Э. Г.* Нуклеопротеиды эпителиоцитов тощей кишки крыс при введении циклофосфана // Вопросы экспериментальной и клинической морфологии. Труды Воронежск. гос. мед. ин-та. Воронеж, 1976. Т. 96. С. 3–8.

5. Романов Ю. А., Антохин А. Ю. Пространственно-временная организация пролиферативной системы крипт тонкой кишки интактных мышей // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2003. Т. 136. № 12. С. 678–682.
6. Токин И. Б., Толстая М. В., Филимонова Г. Ф. Кинетика клеточных популяций кишечного эпителия // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 10. Прикладная математика, информатика. Процессы управления. 2006. Вып. 1. С. 84–93.
7. Шерудилло А. И. Математический анализ гистограмм и его применение для изучения динамики синтеза ДНК в интерфазных ядрах // Цитология. 1966. Т. 8. № 1. С. 120–127.
8. Decaney C. M., Gulati A. S., Carrison A. P. Regeneration of intestinal stem progenitor cells following doxorubicin treatment of mice // Am. J. Physiol. Gastrointest. 2009. Vol. 297. № 3. P. 461–470.
9. Koburg E., Mauren W. Autoradiographische untersuchung mit (H^3) Tymidin ubes die Daner des Deoxyribonokleinsure. Synthese und Ihren zeitlichen und anderen Zeltgren des Mause // Biochem. et Biophys. acta. 1962. Vol. 61. № 2. S. 229.
10. Loida E. Histochemical wykrywanie nucleoprotein dezockazyhozowych opososen Feulgera po lastesawocis “simmel” hydrolizy // Polskity go act Lekar. 1956. Т. 11. № 9. P. 406–408.

Евгеньева Т. П.

АНАЛИЗ СТРУКТУРНЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РЫБ, ОБИТАЮЩИХ В НИЖНЕМ ТЕЧЕНИИ ВОЛГИ

Лаборатория морфологических адаптаций позвоночных (заведующий — д. б. н. О. Ф. Чернова) Института проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН, Москва, e-mail: tatyana54@mail.ru

Вопросы гистогенеза и регенерации тканей в течение многих лет успешно разрабатывались и разрабатываются на кафедре гистологии Военно-медицинской академии Санкт-Петербурга. Работами А. А. Заварзина, Н. Г. Хлопина, А. А. Клишова, Р. К. Данилова установлены основные закономерности развития тканевых систем, исследованы потенции тканей при различных экспериментальных воздействиях. Особое внимание было уделено изучению гистогенетических потенций мышечной ткани позвоночных [5, 6], а также изучению посттравматической регенерации скелетных мышц млекопитающих [1].

Тем не менее исследования реакции мышечной ткани животных различных таксономических групп на неблагоприятные воздействия окружающей среды до сих пор достаточно редки. Однако известно, что в настоящее время антропогенный прессинг на различные экосистемы, и в первую очередь на водные, постоянно усиливается, что приводит к качественным изменениям среды обитания водных организмов. Особенно остро проблема загрязнения воды стоит в Волго-Каспийском бассейне [7, 8]. Под действием кумулятивного токсикологического пресса в организме гидробионтов, и в первую очередь рыб, происходят глубокие морфофункциональные нарушения в органах и тканях.