

20. Huperzine A ameliorates cognitive deficits and oxidative stress in the hippocampus of rats exposed to acute hypobaric hypoxia / Q. Shi [et al.] // *Neurochemical Research*. – 2012. – Vol. 37. – P. 2042-2052.
21. Inhibition of glucocorticoid receptors ameliorates hypobaric hypoxia / I. Baitharu [et al.] // *Behavioural Brain Research*. – 2013. – Vol. 240. – P. 76–86.
22. Neuroprotective effect of melatonin in experimentally induced hypobaric hypoxia / C. Vornicescu [et al.] // *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. – 2013. – Vol. 54. – P. 1097-1106.

УДК 611.42-08:612.273.2

ГИПОКСИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ТОНКОМ КИШЕЧНИКЕ ТЕЛЯТ ПРИ КОЛИЭНТЕРАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

**Малашко В. В.¹, Ковалевич-Тайандье В. Л.¹, Казыро А. М.¹,
Воронис О. Н.¹, Сенько О. А.¹, Кулеш И. В.¹, Микулич Е. Л.²,
Малашко Д. В.², Омар Хуссейн Али³, Анцута Ю. И.¹**

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь;

² – УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»
г. Горки, Республика Беларусь;

³ – Университет Диялы, Ирак

Аннотация. Проведен морфологический и ультраструктурный анализ тонкого кишечника телят на фоне развития гипоксии, вызванной колиэнтеральной инфекцией. Морфологические изменения сопровождаются изменением диаметра сосудов различного калибра, нарушением межклеточных контактов и развитием тканевого ацидоза. При тканевой гипоксии развивается комплекс патобиохимических событий: замедление тканевого дыхания, разобщение окисления и фосфорилирования, увеличение восстановленности редокс-систем, накопление недоокисленных продуктов, свободных жирных кислот и ионов кальция. Самым важным для развития аноксического повреждения клетки является увеличение концентрации Ca^{2+} в цитозоле. Реакция энтероцитов тонкого кишечника на ишемические процессы сопровождается формированием глубоких перетяжек ядер, вплоть до их деления, а также расширения перинуклеарного пространства, реорганизацию канальцев и цистерн эндоплазматической сети и аппарата Гольджи.

Summary. Carried out a morphological and ultra-structural analysis of the small intestine of the calves against the background of the development of hypoxia caused by coithoracic infection. Morphological changes are accompanied by a change in the diameter of different size vessels, disruption of intercellular contacts and development of tissue acidosis. In tissue hypoxia, a complex of pathochemical events develops: the slowing of tissue respiration, the dissociation of oxidation and phosphorylation, increased recovery of redox systems, accumulation of unoxidized products, free fatty acids and calcium ions. Most important for the development of anoxic cell damage is an increase in the concentration of Ca^{2+} in the cytosol. The reaction of the enterocytes of the small intestine to ischemic processes is accompanied by the formation of deep strokes of

nuclei, up to their division, as well as expansion of perinuclear space, reorganization of the canals and tanks of the endoplasmic network and the Golgi apparatus.

Ключевые слова: ишемия, тонкий кишечник, телята, органеллы, ультраструктура, энтероцит, кровеносная система, морфометрия, стереология, иммунология.

Key words: ischemia, small intestine, calf, organelle, ultrastructure, enterocyte, blood system, morphometry, stereology, immunology.

Возникновение аэробного, митохондриального типа энергообеспечения клетки в эволюции послужило мощным дальнейшим стимулом развития и одновременно породило зависимость клетки от кислорода, которая увеличивалась по мере совершенствования организмов и специализации клеток [3]. Конкретные причины снижения устойчивости организмов к гипоксии изучены далеко не полностью, особенно на клеточном и молекулярном уровнях. Как отмечают ряд ученых К. R Chien [6]; G. Gaja et al. [8], компенсаторная стадия длится до 15 мин.

При прекращении кровотока или доставки кислорода снижение концентрации кислорода до «критического уровня» наступает очень быстро в течение 1 мин или менее [2]. Падение уровня макроэргических соединений в тканях происходит довольно быстро, несмотря на активацию гликолиза, в среднем снижение концентрации АТФ на 50 % происходит за 5-10 мин [10].

Самым важным для развития аноксического повреждения клетки является увеличение концентрации Ca^{2+} в цитозоле. При такого рода реакциях концентрация кальция в цитозоле возрастает от 10^{-8} - 10^{-5} моль, и в этой концентрации он оказывает ключевое или вспомогательное действие на переключение метаболизма благодаря прямому или кальмодулин-опосредованному влиянию на ключевые ферменты [5]. Необратимое аноксическое повреждение сердца наступает через 60 мин, печени, почек – через 60-120 мин, мозга – менее 15 мин. Для стадии необратимых изменений характерно структурно-функциональные изменения в клетках.

Морфологические признаки повреждения имеются почти во всех клетках органов, хотя степень их выраженности различна: наблюдаются множественный локальный лизис плазмалеммы, расширение цистерн аппарата Гольджи и эндоплазматической сети, маргинация хроматина, накопление липидоподобных включений в органеллах и цитозоле [12, 13].

Наиболее выраженные изменения митохондрий: локальный лизис наружной мембраны и мембран крист, уменьшение оптической плотности матрикса, увеличение числа и размеров аморфных включений. При далеко зашедшем повреждении отмечается везикуляция и фрагментация внутренних митохондриальных мембран [7]. Важное значение патогенеза

гипоксии – накопление цАМФ, опосредованное выбросом адреналина, норадреналина и других биогенных аминов, что показано в ряде исследований [9].

В условиях редуцированного желудочного кровообращения наряду с деструктивными изменениями слизистой оболочки тонкой кишки наблюдается избыточное накопление в ее тканях гистамина и серотонина [1]. Ульцерогенные эффекты этих аминов связывают с повышением внутриклеточной концентрации цАМФ, что неизменно сопутствует развитию язвенных поражений гастродуоденальной слизистой оболочки [14].

При гипоксии происходит накопление свободных жирных кислот, которые, во-первых, являются разобщителями окислительного фосфорилирования и способствуют накоплению ионов кальция в митохондриях, во-вторых, обладают детергентными свойствами и могут повреждать плазматические мембраны, в-третьих, выступают как основной субстрат ПОЛ [11].

Таким образом, при тканевой гипоксии развивается комплекс патобиохимических событий: замедление тканевого дыхания, разобщение окисления и фосфорилирования, увеличение восстановленности редокс-систем, накопление недоокисленных продуктов, свободных жирных кислот, ионов кальция.

При энтеральной патологии в слизистой оболочке тонкого кишечника нарушается течение аэробных процессов, а также наблюдается сдвиг соотношений аэробных и анаэробных процессов в сторону преобладания последних, что сопровождается нарушением синтеза макроэргических соединений и обмена нуклеиновых кислот.

При электронно-микроскопическом исследовании в энтероцитах тощей кишки наблюдается снижение синтетической активности клеток на это указывает: снижение энергетического обеспечения синтетической функции клеток, которое связано с резким набуханием и деструктивными изменениями в митохондриях, объемная доля которых на клетку возрастает на 27,8 % ($P < 0,05$).

Набухание и перерастяжение митохондриальных мембран приводит к пространственному разобщению энергообразующих комплексов, расположенных на мембранах, и к подавлению их функции.

Дефицит кислорода обуславливает активацию гликолиза, повышение уровня лактата, ионов H^+ и восстановленных эквивалентов, что увеличивает вероятность образования O_2^- , H_2O_2 , а также OH^- , особенно при нарастающем снижении pH среды. Активация ПОЛ в условиях гипоксии, как и во всех других случаях, ведет к нарушению структуры митохондриальных мембран, модификации их фосфолипидного состава и проницаемости, ингибированию митохондриальных ферментов, разобщению окисления и фосфорилирования.

Следует отметить процессы, отягощающие состояние клеток. Во-первых, в присутствии ионов Fe^{2+} перекисному окислению подвергаются мембраны лизосом, что сопровождается освобождением лизосомальных ферментов. Во-вторых, вследствие дезорганизации внутриклеточных структур происходит выход из мест своего функционирования железосодержащих белков и ферментов, которые способны катализировать перекисное окисление.

В сочетании с активацией гликолиза прекращение ЦТК приводит к накоплению основного его субстрата – ацетилКоА, который образуется из пирувата и может быть использован для синтеза жирных кислот. Противоположный процесс – окисление жирных кислот – протекает с использованием энергии АТФ, причем в условиях гипоксии дефицит АТФ приводит к его торможению.

В итоге при активации синтеза и торможения распада жирных кислот происходит накопление этих кислот в гипоксически измененных клетках [11]. Отмечаются изменения лизосом эритроцитов, увеличивается их активность, но образующиеся в 45-48 % клеток большие вакуоли в последующим не способны выполнять реконструктивную функцию, т.е. наблюдается «абортивная» реакция лизосом.

Реакция артериол и прекапилляров тощей кишки проявлялась изменениями диаметров этих сосудов. Отмечались уменьшение средних показателей диаметров, так и участки спастического сокращения их стенок. Уменьшение диаметра сосудов снизилось на 6-12 % ($P < 0,05$), а коэффициент поперечной деформации артериол, характеризующий степень их локальных спастических сокращений увеличился на 14,7-19,5 % ($P < 0,05$).

Перестройки капиллярного кровотока проявлялись уменьшением доли сосудов со сплошным гомогенным потоком крови, при увеличении доли сосудов со сплошным зернистым и прерывистым потоками и увеличением на 18,3 % ($P < 0,05$) числа плазматических капилляров. Во внутриорганным и гемомикроциркуляторном русле отмечено резкое расширение всех венозных сосудов.

В результате чрезмерного переполнения кровью во внутриорганных венах встречаются варикозные выбухания. В подслизистой основе тощей кишки, в которой располагается основной венозный коллектор стенки органа, варикозные выбухания наблюдались практически в венах всех порядков. Наряду со значительным расширением основных вен-спутниц появляются несколько (4-6) паравазальных сосудистых трактов, ориентированных вдоль основных венозных коллекторов.

Внутриорганные вены с меньшим диаметром в результате перерастяжения приобретают неравномерную извилистость. Существенно расширяются анастомозы между внутриорганными венами различных

порядков, поэтому границы вено-венозных и вено-венулярных петель становятся четко очерченными. Расширенные, извитые анастомозы, замыкающие петли, придают последним полигональную форму с извилистыми контурами. Отдельные венулы приобретают вид сосудистых клубочков.

Можно полагать, что сильное расширение не только венозных, но и отдельных артериальных сосудов направлено на то, чтобы путем резкого усиления притока крови к органу и повышения давления в сосудах ликвидировать причину нарушения венозного оттока. Этот же механизм обуславливает и раскрытие многочисленных внутриорганных и экстраорганных окольных путей оттока крови.

В ответ на резко выраженное сужение сосудистых кранов, регулирующих поступление крови в микроциркуляторные системы, и в ответ на нарастание тканевого ацидоза, обусловленного застойными явлениями, происходит компенсаторное увеличение притока крови по крупным артериям.

Аневризматические расширения артерий приводят к локальному увеличению их просветов в 2-3 раза. Сильное перерастяжение стенки сосуда сопровождается ее удлинением и появлением легкой извилистости. Об аневризматических расширениях артерий можно судить по изменению складчатости интимы. Характерную форму имеют аневризматические выбухания стенки артерий в местах отхождения дочерних сосудов. Если по ходу артерии аневризмы имеют форму раздутого баллончика, то в указанных местах для них характерна куполообразная форма.

Морфологический статус эндотелия капилляров в условиях ишемии дополняется активным развитием кавеол, которые обеспечивают эндоцитоз, а также принимают участие в регуляции сигнальных каскадов, способствуя пролиферации клеток. Согласно теории сигнасомы посредством связи сигнальных молекул с базовой белковой структурой – кавеолином-1, кавеолы регулируют взаимодействие избранных сигнальных каскадов.

Усиленное образование плазмалеммальных пузырьков представляет собой стимулированное формирование дополнительных трансэндотелиальных каналов, определяющих активизацию ишемических процессов. В то же время интенсивное микровезикулообразование позволяет подавить воспалительную реакцию, создавая условия для активной пролиферации эндотелиоцитов и повышая скорость репаративной клеточной регенерации в слизистой оболочке тонкого кишечника телят.

Реакция энтероцитов тонкого кишечника на ишемические процессы сопровождается формированием глубоких перетяжек ядер, вплоть до их деления, а также расширения перинуклеарного пространства, реорганизацию канальцев и цистерн эндоплазматической сети и аппарата

Гольджи. Гранулы хроматина конденсируются и принимают маргинальное положение.

В апикальной части энтероцитов наблюдается наличие различных размеров вакуолей и умеренное число окаймленных пузырьков с содержимым слабой электронной плотности. Микроворсинки щеточной каймы расширены, щелевидные пространства между боковыми поверхностями плазмолеммы контактирующих клеток расширены.

В слизистой оболочке тонкого кишечника обнаруживаются явления отека, которые в большей степени выражены в ее собственной пластинке. В мышечной оболочке также отмечаются явления отека. Плазморрагия тканей происходит преимущественно по ходу венозных сосудов и распространяется от них по соединительнотканым промежуткам между мышечными волокнами.

Эффективность регуляторных механизмов микрососудистого русла реализуется в гемодинамических показателях микроциркуляции в тонком кишечнике телят. Особая роль при этом принадлежит динамике его скоростных и реологических характеристик. Уменьшение диаметра сосудов в процессе развития ишемии в соответствии с законом Пуазейля определяет изменения градиентов скорости кровотока в основных микрососудистых звеньях.

Мы наблюдали особенно велико замедление кровотока было в обменных микрососудах. Снижение скорости кровотока при гипоксии зависело также от степени извитости микрососудов, что определяет преобразование ламинарных потоков крови в турбулентные потоки.

При проведении статистического анализа установлено, что диаметр капилляров в двенадцатиперстной кишке в норме составлял $7,28 \pm 0,34$ мкм, при гипоксии – $4,45 \pm 0,12$ мкм ($P < 0,05$), в тощей кишке – $6,29 \pm 0,19$ и $3,52 \pm 0,13$ мкм ($P < 0,05$) соответственно, в подвздошной кишке – $8,06 \pm 0,28$ и $5,54 \pm 0,31$ мкм ($P < 0,05$) соответственно.

Возникает комплекс иммунологических и морфологических изменений, обуславливающий течение колиэнтеральной инфекции. Эти процессы связаны с развитием иммунологической недостаточности, вызванной как иммуногенностью *E. coli* и ее токсинов, так и морфологическими изменениями тканей.

Это постоянно усиливает гиперфункцию иммунокомпетентной системы, способствует увеличению количества ЦИК, повреждению ими стенок сосудов, редукции сосудов. Нарастающая гипоксия затрудняет репаративные процессы, способствует нарушению межклеточных отношений, снижению чувствительности к медиаторам иммунитета и, как следствие, персистенции возбудителей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гавровская, Л. К. Содержание биогенных аминов в тканях желудка крыс в условиях редуцированного желудочного кровообращения / Л. К. Гавровская, В. М. Седов, А. К. Гусяков // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1983. – Т. 96, № 7. – С. 21-22.
2. Коваленко, Е. А. О теории динамики газов в организме / Е. А. Коваленко // Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом. – М.: Наука, 1973. – С. 192-212.
3. Шахламов, В. А. Реакция клеток на гипоксию / В. А. Шахламов, В. И. Сороковой // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1983. – Т. 85, № 7. – С. 12-25.
4. Bassi, M. Ultrastructural cytoplasmic changes of liver cells after reversible and irreversible ischemia / M. Bassi // Exp. Mol. Pathol. – 1964. – Vol. 3. – P. 332-350.
5. Brewer, G. J. Calmodulin, zinc and calcium in cellular and membrane regulation / G. J. Brewer // Amer. J. Hematology. – 1980. – Vol. 8. – P. 231-248.
6. Chien, K. R. Prevention by chlorpromazine of ischemic liver cell death / K. R. Chien, J. Abrams // Amer. J. Pathol. – 1977. – Vol. 88. – P. 539-558.
7. Collan, Y. Studies of the pathogenesis of ischemia cell injury / Y. Collan, B. F. Trump // Virchows Arch. (Cell Pathol.). – 1981. – Vol. 35. – P. 189-199.
8. Gaja, G. Phosphorylation and redox states in ischemic liver / G. Gaia, R. Piciletti // Exp. Mol. Pathol. – 1973. – Vol. 19. – P. 248-265.
9. Gross, R. A. Mechanisms of cyclic AMP regulation in cerebral anoxia and their relationship to glycogenolysis / R. A. Gross, S. A. Ferrendelli // J. Neurochem. – 1980. – Vol. 34. – P. 1309-1318.
10. Imai, S. Effect of ischemia on adenine nucleotides in cardiac and skeletal muscle / S. Imai, A. L. Riley, R. M. Berne // Circ. Res. – 1964. – Vol. 16. – P. 443-450.
11. Kats, A. M. Lipid-membrane interactions and the pathogenesis of ischemic damage in the myocardium / A. M. Kats, F. C. Messeneo // Circulat. Res. – 1981. – Vol. 48. – P. 1-8.
12. Kim, S. U. Brain hypoxia studies in mouse central nervous system culture / S. U. Kim // Lab. Invest. – 1975. – Vol. 33, N 6. – P. 658-664.
13. Marzella, L. Effect of in vivo liver ischemia on microsomes and lysosomes / L. Marzella, H. Glausman // Virchows Arch. (Cell Pathol.). – 1981. – Vol. 36. – P. 1-25.
14. Mozsik, G. Interrelationship between the cholinergic influence, gastric mucosa $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -dependent ATP, ADP ions of gastric juice and basal secretion in patents / G. Mozsik, J. Kutas, L. Nadi // Gastric ion transport, 1978. – P. 199-208.

УДК 612.815-08:577.95

АНАЛИЗ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ КОНТАКТОВ В СЛОЯХ КОЖИ СОБАК ПРИ МЕЛАНОМЕ

Малашко В. В.¹, Скоробогатко В.²

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь;

² – ЗАО «Jakovo veterinarijos center»

г. Вильнюс, Литва

***Аннотация.** Нарушение межклеточных коммуникаций посредством контактов рассматривают в качестве важного патогенетического механизма злокачественного опухолевого роста меланомы. Акцентируется внимание на роли межклеточных взаимодействий в процессах злокачественной трансформации и механизмах противоопухолевой резистентности. Известно, что структурной основой взаимодействий между клетками являются различные типы*