

**Summary**

ANTIDEPRESSANT ACTIVITY PRODUCED BY 2-OXOINDOLIN-3- GLYOXYLIC ACID DERIVATIVES IN MODELS OF CLONIDINE-INDUCED DEPRESSION

Sydorenko A.G., Lutsenko R.V.

Key words: derivatives, 2-oxoindolin-3-glyoxylic acid, clonidine-induced depression.

This research was aimed to study the influence of 2-oxoindolin-3-glyoxylic acid derivatives in models of clonidine-induced depression in mice. Under the observation there were 50 white pubescent male mice. The derivatives conventionally designated as 18 and E-38 were administered in a dose of 12 mg/gr of body weight in modeled clonidine-induced depression. In 1.24 h after the event we registered changes of psychic and behavioral reactions in the "open field" test which lasted 5 min. We focused on the following parameters as the latent period of the first relocation (sec.), the number of entries to the centre, the number of square crossed, the number of vertical positions, the parameter of vegetative balance including the number of grooming behavior acts and dejections. It has been established preventive introduction of 2-oxoindolin-3-glyoxylic under conventional signs as 18 and E-38 in a dose of 12 mg/gr of body weight decreases clonidine-induced depression, i.e. increases locomotor activity and exploratory behavior of the animals. The substance designated as E-38 is found out to be more effective.

УДК 611.21:616-07

**Совгиря С. М.**

**ВИВЧЕННЯ СТАНУ ПРОЛІФЕРАТИВНИХ ПРОЦЕСІВ В КЛІТИНАХ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ КЛИНОПОДІБНОЇ ПАЗУХИ У ЛЮДЕЙ ЗРІЛОГО ВІКУ ЗА ДОПОМОГОЮ ІМУНОГІСТОХІМІЧНОГО МАРКЕРА КІ-67**

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія» м. Полтава

*В даному імуногістохімічному дослідженні матеріалом вивчення була слизова оболонка клиноподібної пазухи людей зрілого віку. Метою цієї роботи є виявлення явищ проліферації в клітинах псевдобагатошарового війчастого циліндричного епітелію за допомогою імуногістохімічного маркера Кі-67. Встановлено, що медіальна, латеральна і передня стінки, які містять велику кількість високодиференційованих клітин, характеризуються достатньо активними процесами мітозу. В той час, як на задній стінці, в зонах росту, даний маркер спостерігається тільки в клітинах, розташованих на базальній мембрані (короткі і довгі вставні клітини). На нашу думку, це підтверджує дані літератури, що вставні клітини є клітинами-попередниками мікроворсинчастих, а потім і війчастих та келихоподібних клітин. Але останні клітини підтримують свою кількість і за рахунок власного мітозу.*

Ключові слова: псевдобагатошаровий війчастий циліндричний епітелій, гомеостаз, проліферація, маркер Кі-67.

Дана робота є фрагментом наукової теми «Морфологія судинно-нервових взаємовідношень органів голови та шиї людини в нормі та під дією зовнішніх чинників у віковому аспекті. Створення та модифікація існуючих хірургічних шовних матеріалів і експериментально-морфологічне обґрунтування їх використання в клініці», № держ.реєстрації 0107U001657.

**Вступ**

Системні уявлення про гомеостаз все ще викликають вагання у науковому світі. Багато років вони дискутуються, уточнюються. В організації живої природи ( в т.ч. і людському організмі) ми маємо справу з пірамідою гомеостатичних біосистем, які постійно взаємодіють між собою. В основі цієї піраміди знаходиться жива клітина. Питання підтримання кількісного балансу клітин в кожній окремій тканині вивченні недостатньо [1,3,6,7]. Це стосується і псевдобагатошарового війчастого циліндричного епітелію. Тому ми провели імуногістохімічне дослідження з використанням маркера Кі-67 слизової оболонки клиноподібної пазухи людей зрілого віку.

**Мета роботи**

Вивчення явищ проліферації в клітинах псевдобагатошарового війчастого циліндричного епі-

телію (коротких і довгих вставних, мікворсинчастих, келихоподібних та війчастих).

**Об'єкт і методи дослідження**

Об'єктом дослідження даної роботи була слизова оболонка клиноподібної пазухи людини, забір якої проводився на трупному матеріалі людей, померлих від причин не пов'язаних з ЛОР-патологією. Забір слизової оболонки клиноподібної пазухи відбувався в умовах приміщення судово-медичного моргу Бюро судово-медичної експертизи Управління Охорони Здоров'я Полтавської обласної державної адміністрації та патанатомічному відділенні ПОКЛ.

У своїй роботі ми використовували вікову періодизацію, яка була прийнята Міжнародним симпозиумом по віковій періодизації у Москві в 1965 році. Отримані дані занесені в таблицю.

Вікові групи	Вік	Кількість об'єктів:		
		чоловіки	жінки	Всього
Перший період зрілого віку	22-35 років у чоловіків, 21-35 років у жінок	5	1	6
Другий період зрілого віку	36-60 років у чоловіків, 36-55 років у жінок	19	5	24
Всього		24	6	30

Для отримання слизової оболонки ми використовували техніку розтину клиноподібної пазухи, запропоновану Абрикосовим А.И. (1948). Після цього за допомогою шприца на 1-2 хв. вводили у пазуху 2 мл 10% розчин формаліну для фіксації слизової оболонки і виконували забір тканини з передньої, задньої, медіальної та латеральної стінок правої і лівої клиноподібних пазух. В подальшому тканини вміщували в парафін за загальновідомою схемою.

Для проведення імуногістохімічного дослідження використовували парафінові блоки слизової оболонки клиноподібної пазухи людини. Отримували зрізи за допомогою мікротому зі станцією прийому зрізів (Microm HM-340), що дозволило готувати серійні зрізи. В нашому дослідженні зрізи товщиною 4-6 мкм наносили на спеціальні адгезивні предметні стекла SuperFrost Plus, потім депарафінували відповідно до прийнятих стандартів. В роботі в якості первинних використовувалися моноклональні антитіла до Ki-67 – маркера проліферації [8,9,10,11]. Ми використовували інкубацію зрізів з первинними антитілами у вологих камерах при температурі 23 - 25°C на протязі 30 хвилин. Вторинні антитіла, що містили велику кількість молекул пероксидази хрому, наносили на зрізи та інкубували у вологих камерах протягом 30 хвилин з промиванням у ТРИС-буферному розчині між кожним етапом протягом 10 хвилин. Ідентифікація реакції проводилась завдяки нанесенню хромогену (DAB (Lab Vision)) під контролем мікроскопа протягом від 20 секунд до 3 хвилин, з проявом у вигляді темно-коричневого забарвлення ядер специфічних структур [2,4,5].

Для диференціювання структур тканин зрізи додатково забарвлювали гематоксиліном Маєра протягом 1-3 хвилин. Наступна дегідратація і включення у бальзам здійснювалися згідно розповсюдженим методикам.

Мікроскопію проводили за допомогою світлового мікроскопа Leica DMLS з використанням об'єктивів  $\times 10$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$ ,  $\times 100$ .

#### Результати досліджень та їх обговорення

Нами проведено дослідження проліферативної здатності клітин псевдобагатозарового війчастого циліндричного епітелію слизової оболонки клиноподібної пазухи у людей зрілого віку. В

наших попередніх роботах було встановлено, що слизова оболонка кожної стінки клиноподібної пазухи має певні цитологічні властивості. Так медіальна і латеральна стінки містять велику кількість війчастих клітин, в передній стінці переважають келихоподібні клітини на різних фазах секреції, а задня стінка характеризується наявністю зон росту.

В медіальній і латеральній стінках клиноподібної пазухи у осіб зрілого віку спостерігається певна локалізація маркера Ki-67. Так, короткі та довгі вставні клітини, які локалізуються на базальній мембрані, не мають або мають слабо виражену експресію до маркера Ki-67, в той час як ядра мікрворсинчатих і війчастих клітин інтенсивно експресують імуногістохімічний маркер Ki-67. В підслизовому шарі ендотеліальні клітини мікросудин мають посилену експресію Ki-67, що свідчить про їх здатність до проліферації (рис.1).

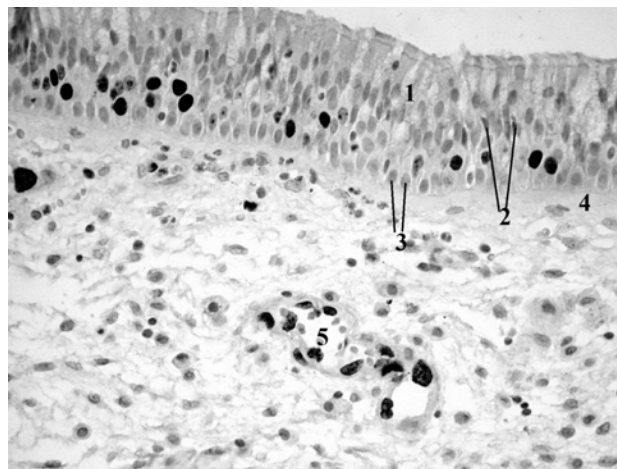
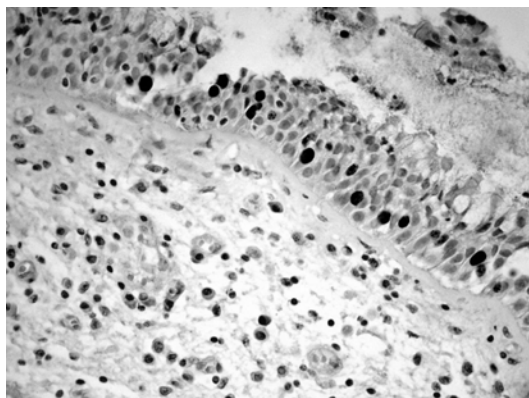
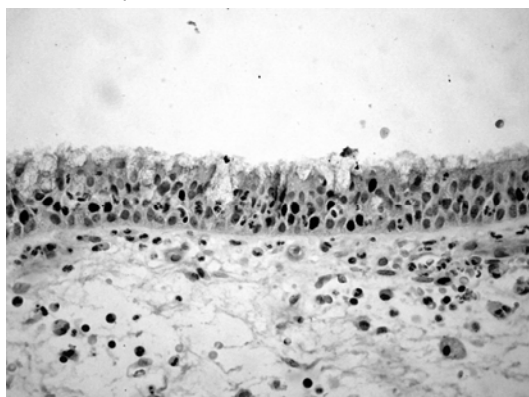


Рис.1. Псевдобагатозаровий війчастий циліндричний епітелій з переважним вмістом війчастих клітин. Війчасті клітини. 2. Мікрворсинчаті клітини. 3. Вставні клітини. 4. Базальна мембрана. 5. Ендотелій мікросудин. Забарвлення Ki-67. Збільшення  $20\times 10$ .

В псевдобагатозаровому війчастому циліндричному епітелії з перевагою келихоподібних клітин у осіб зрілого віку відмічається висока експресія до маркера проліферації Ki-67 як в мікрворсинчатих, так і частково в келихоподібних клітинах. В той час, як вставні клітини мають лише поодинокі експресію даного імуногістохімічного маркера (рис.2).



*Рис.2. Псевдобагатошаровий війчастий циліндричний епітелій з переважним розташуванням келихоподібних клітин. Слабка експресія маркера Ki-67 в вставних клітинах. Забарвлення Ki-67. Збільшення 20×10.*



*Рис.3. Псевдобагатошаровий війчастий циліндричний епітелій в зоні крипт у осіб зрілого віку. Експресія Ki-67 в коротких і довгих вставних клітинах. Забарвлення Ki-67. Збільшення 20×10.*

В зонах росту псевдобагатошарового війчастого циліндричного епітелію спостерігається глибока вегетація епітеліальних комплексів в підлеглий підслизовий шар. У осіб зрілого віку спостерігається посилена експресія маркера Ki-67, як коротких і довгих вставних, так і мікрворсинчатих, та іноді і келихоподібних клітинах (рис.3).

### **Висновки**

Встановлено, що різні стінки слизової оболонки клиноподібної пазухи людини мають свої цитологічні особливості, які характеризуються пев-

ними проліферативними відмінностями. Так, в передній, медіальній і латеральній стінках, що складаються з високо диференційованих клітин (війчастих, келихоподібних, мікрворсинчатих), у людей зрілого віку достатньо активно відбуваються явища проліферації вищеназваних клітин. В зонах росту маркер Ki-67 спостерігається переважно в коротких і довгих вставних клітинах, що підтверджує літературні дані про їх причетність до системи HLA.

Перспективи подальших розробок у даному напрямку полягають у проведенні імуногістохімічних досліджень псевдобагатошарового війчастого циліндричного епітелію слизової оболонки клиноподібної пазухи у людей різного віку для виявлення вікових змін в здатності клітин до проліферації.

### **Література**

1. Almalidi I. Induction of HLA class II genes by IFN- $\gamma$  is transcriptional and requires a trans-acting protein / I. Almalidi, W. Reith, C. Berte [et al.] // J. Immunol. – 1989. – V.142. – P.999-1004.
2. Bonhomme G. Z'histologie de la muqueuse des sinus / G. Bonhomme, Z. Gesp // Rev. laryngol. – 1958. - №5. – P.889-901.
3. Tamboli P. Comparative analysis of the nuclear proliferative index (Ki-67) in benign prostate, prostatic intraepithelial neoplasia, and prostatic carcinoma / P. Tamboli, M.B. Amin, D.S. Schultz [et al.] // Mod. Pathol. – 1996. - V.9, №10. – P.1015-1019.
4. Duchrow M. Cell proliferation-associated nuclear antigen defined by antibody Ki-67: a new kind of cell cycle-maintaining proteins / M. Duchrow, C. Schlier [et al.] // Arch. Immunol. ther. Exp. (Warsz). – 1995. – V.43, №2. – P.117-121.
5. Duchrow M. Molecular characterization of the gene locus of the human cell proliferation-associated nuclear protein defined by monoclonal antibody Ki-67 / M. Duchrow, C. Schluter, C. Wohlenberg [et al.] // Cell Prolif. – 1996. - V.29, №1. – P.1-12.
6. Gerdes J. Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67 / J. Gerdes, L. Li, C. Schlueter [et al.] // Am. J. Pathol. – 1991. - V.138. – P.867-873.
7. Gerlach C. Ki-67 expression during rat liver regeneration after partial hepatectomy / C. Gerlach, D.Y. Sakkab, T. Scholzen [et al.] // Hepatology. – 1997. - V.26, №3. – P.573-578.
8. Gerlach C. Ki-67 immunoreactivity is a robust marker of proliferative cells in the rat / C. Gerlach, M. Golding, L. Larue [et al.] // Lab. Invest. – 1997. - V.77, №6. – P.697-698.
9. Key G. New antiserum against Ki-67 antigen suitable for double immunostaining of paraffin wax sections / G. Key, J.L. Petersen, M.H. Becker [et al.] // J. Clin. Pathol. – 1993. - V.46, №12. – P.1080-1084.
10. Mc Cormick D. Detection of the Ki-67 antigen in fixed and wax-embedded sections with the monoclonal antibody MIB1 / D. Mc Cormick, H. Chong, C. Hobbs [et al.] // Hystopathology. – 1993.- V.22, №4. – P.355-360.
11. Moll R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells / R. Moll, W.W. Franke, D.L. Schiller [et al.] // Cell. – 1982. – V.31, №1. – P.11-24.

### **Реферат**

ИЗУЧЕНИЕ СОСТОЯНИЯ ПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В КЛЕТКАХ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КЛИНОВИДНОЙ ПАЗУХИ У ЛЮДЕЙ ЗРЕЛОГО ВОЗРАСТА С ПОМОЩЬЮ ИМУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО МАРКЕРА KI-67

Совгиря С.Н.

Ключевые слова: псевдомногослойный мерцательный цилиндрический эпителий, гомеостаз, пролиферация, маркер Ki-67.

В данном иммуногистохимическом исследовании материалом изучения была слизистая оболочка клиновидной пазухи людей зрелого возраста. Цель этой работы – выявление явлений пролиферации в клетках псевдомногослойного мерцательного цилиндрического эпителия с помощью маркера Ki-67. Установлено, что медиальная, латеральная и передняя стенки, состоящие преимущественно из высокодифференцированных клеток, характеризуются достаточно активными процессами митоза. В то время, как на задней стенке маркер пролиферации выявляется только в коротких и длинных вставочных клетках. С нашей точки зрения, это подтверждают данные литературы, что вставочные клетки являются клетками-предшественниками микрворсинчатых, а потом и мерцательных и бокалоподобных. Хотя последние обновляются и за счет собственного митоза.

Summary

STUDY OF PROLIFERATIVE PROCESSES IN SPHENOIDAL SINUS MUCOSA CELLS IN ADULTS BY IMMUNOHISTOCHEMICAL Ki-67-MARKER

Sovhyrya S.N.

Keywords: pseudostratified ciliated columnar epithelium, homeostasis, proliferation, marker Ki-67.

Sphenoidal sinus mucosa cells taken from adults were the material of this immunohistochemical research aimed to identify proliferative processes that occur in the cells of pseudostratified ciliated columnar epithelium by immunohistochemical Ki-67-marker. It was founded the medial, lateral and frontal walls which mainly consisted of highly differentiated cells were characterized by rather active processes of mitosis. While on the posterior wall the Ki-67 marker was observed only in cells located on basal membrane (short and long inserted cells). To our opinion it confirms the reliable literature information that the inserted cells are predecessors for microciliated cells, and then for ciliated and goblet cells. But the last ones regenerate due own mitosis as well.

ДК 616.316-092.9 : 615.916'175

**Стасюк О.А., Костенко В.О.**

**ЗМІНИ ОКИСНЮВАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЗМУ У СЛИННИХ ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ СПІЛЬНОГО НАДЛИШКОВОГО НАДХОДЖЕННЯ НІТРАТУ ТА ФТОРИДУ НАТРІЮ**

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

*У експерименті на 40 білих щурах досліджено стан NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну та пов'язані з ними зміни окиснювальних процесів у тканинах слинних залоз щурів за умов спільного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію. Виявлено, що при введенні фториду натрію типове для ізольованого призначення нітрату натрію пригнічення активності сумарних NO-синтаз змінюється на збільшення їх активності, підвищена активність орнітіндекарбоксилази суттєво зменшується. За цих умов у тканинах слинних залоз істотно підвищується продукція супероксидного аніон-радикалу мікросомальним та мітохондріальним електронно-транспортними ланцюгами, збільшується пероксидне окиснення ліпідів, знижується антиоксидантний потенціал.*

Ключові слова: інтоксикація нітратом натрію, інтоксикація фторидом натрію, слинні залози, супероксидний аніон-радикал, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, оксид азоту, NO-синтази.

Стаття є фрагментом планової НДР ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» «Кисень- та NO-залежні механізми ушкодження внутрішніх органів та їх корекція фізіологічно активними речовинами» (№держреєстрації 0108U010079).

Підвищення наприкінці ХХ століття антропогенного впливу на довкілля призвело до появи нової екологічної та медико-біологічної проблеми, пов'язаної з сукупною дією хімічних забруднювачів навколишнього середовища на організми людини та тварин. За оцінками науковців, у аграрно-промислових регіонах України значною проблемою є комбінована дія на організм людини та тварин неорганічних азотовмісних сполук та фторидів.

Залишається недостатньо з'ясованим питання сукупної дії нітратів і фторидів на організм ссавців. Інтерес викликає дослідження, насамперед, метаболічних змін у слинних залозах (СЗ), оскільки останні тісно взаємопов'язані з іншими відділами травлення, органами серцево-судинної, видільної систем тощо [3].

В останні роки СЗ розглядаються як важливий орган регуляції утворення NO у кількості, необхідній для нормального функціонування протективних систем слизової оболонки органів шлунково-кишкового тракту, підтримання її цілісності [9].

Кількість NO, що надходить у організм із слиною, контролюється механізмом ауторегуляції, відомим як цикл оксиду азоту [5]. Поряд з NO-синтазним шляхом в СЗ оксид азоту утворюється

через нітрат- та нітритредуктазні реакції [9]. Вважається, що саме ця складова циклу оксиду азоту є фізіологічно необхідною за умов зниження активності NO-синтаз (NOS), наприклад, за умов гіпоксії [5]. У той же можна припустити здатність фторид-іонів втручатися у функціонування циклу оксиду азоту, оскільки ці сполуки відомі як пригнічувачі альтернативного щодо NO-синтазного – аргіназного (неокисного) шляху метаболізму L-аргініну [16].

Введення надлишкової кількості попередників NO (нітратів і нітритів), а також інших токсичних агентів, що втручаються у функціонування циклу оксиду азоту та сполученого з ним циклу супероксидного аніон-радикала може істотно змінювати рівень продукції NO, сприяти утворенню його високотоксичних метаболітів (наприклад, пероксинітриту). За цих умов можна очікувати порушень як з боку самих СЗ, так і інших органів і систем.

**Мета роботи**

Вивчення стану NO-синтазного та аргіназного шляхів метаболізму L-аргініну та пов'язаних з ними змін окиснювальних процесів у тканинах СЗ щурів за умов спільного надлишкового надходження нітрату та фториду натрію.