

УДЕЛЬНОЕ ЧИСЛО КЛЕТОК И ИНТЕНСИВНОСТЬ ЭКСПРЕССИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ НИТРОКСИДСИНТАЗЫ В ТКАНЯХ ЖЕЛУДКА В ЗОНЕ ИЗЪЯЗВЛЕНИЯ И УРОВЕНЬ ВНУТРИЭРИТРОЦИТАРНОГО МАГНИЯ У СТРЕССУСТОЙЧИВЫХ И СТРЕССНЕУСТОЙЧИВЫХ КРЫС

В. Н. Поветкина, Л. Н. Рогова

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра патологической физиологии*

Определено, что у стресснеустойчивых крыс по отношению к устойчивым площадь ацетатной, стрессовой язвы и ацетатной язвы в условиях острого стресса больше на фоне меньшего числа клеток слизистой оболочки желудка, экспрессирующих eNOS, и практически одинаковой концентрации магния в эритроцитах крови. Только при стрессовой язве у стресснеустойчивых животных по сравнению с устойчивыми выявлена более значительная потеря магния эритроцитами крови.

Ключевые слова: язва желудка, eNOS, магний, стрессустойчивые и стресснеустойчивые крысы.

SPECIFIC NUMBER OF CELLS AND INTENSITY OF ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE EXPRESSION IN THE STOMACH TISSUES OF THE ULCERATION AREA AND INTRAERYTHROCYTIC MAGNESIUM LEVEL IN STRESS RESISTANT AND STRESS NONRESISTANT RATS

V. N. Povetkina, L. N. Rogova

It was determined that nonresistant rats in comparison with resistant animals had a greater area of acid-induced, stress-induced and acid-induced gastric ulcer in condition of acute stress on the background of a lesser cell number of the stomach mucous membrane expressing eNOS and practically the same concentration of magnesium in red blood cells. Only in acute stress a more significant loss of magnesium by red blood cells in nonresistant animals in relation to resistant rats was revealed.

Key words: gastric ulcer, eNOS, magnesium, stress resistant and stress nonresistant rats.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определить число и интенсивность экспрессии eNOS-позитивных клеток в тканях зоны язвенного дефекта и содержание магния в эритроцитарной массе крови из подключичной вены у стрессустойчивых и стресснеустойчивых крыс с экспериментальными язвами желудка.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 40 белых крысах линии Вистар обоего пола, предварительно разделенных методом открытого поля на группу стрессустойчивых и стресснеустойчивых, в каждой из которых проводили по 5 серий экспериментов. Первую серию составляли интактные животные; во второй контрольной — имитировали моделирование ацетатной язвы; в третьей — моделировали ацетатную язву в препилорической зоне по методу Окабэ С., 2005 [4]. В четвертой серии воспроизводили «стрессовые» язвы по Брехману А. (1976). В пятой серии моделировали острый стресс у животных со сформировавшейся ацетатной язвой желудка. Всех животных выводили из эксперимента через 7 суток от его начала, кроме крыс 4-й серии, где эксперимент завершался через 3 суток, визуальную оценивая площадь язвы с последующим забором ткани из зоны язвенного де-

фекта для иммуногистохимического исследования. Для идентификации эндотелиальной нитроксидазы использовались моноклональные антитела к eNOS («Novocastra», Великобритания). Оценка реакции проводилась полуколичественным методом с учетом интенсивности окрашивания (негативная реакция — «0»; слабо позитивная — «1»; умеренно позитивная — «2»; сильно позитивная — «3»), а также удельного числа антиген-позитивных клеток в поврежденных тканях желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [3]. Концентрацию магния (Mg^{2+}) в эритроцитарной массе крови из подключичной вены (Vs) как условие оптимизации активации eNOS определяли по Камышникову В. С. (2004 г.) [1]. Для статистической обработки результатов исследования при нормальном распределении использовали критерий Стьюдента ($M \pm m$), при распределении отличном от нормального — критерий Уилкоксона при уровне значимости $Q < 0,05$ (Me [25 и 75 перцентили]).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты представлены в табл. 1, 2. У стрессустойчивых крыс 3-й серии формировалась язва площадью $(38,72 \pm 4,09)$ мм², при остром стрессировании в этой группе размер язвы составил $(8,47 \pm 1,4)$ мм².

Таблица 1

Площадь язвы и содержание Mg²⁺ в эритроцитах крови из Vs (M ± m)

Показатель	Исходное состояние		P	Контроль		P	Ацетатная язва		P	Стрессовая язва		P	Ацетатная язва после воздействия острого стресса		P
	+	-		+	-		+	-		+	-		+	-	
Устойчивость к стрессу	+	-		+	-		+	-		+	-		+	-	
Площадь язвенного дефекта, мм ²							38,72 ± 4,09	68,70 ± 9,44	<0,05	8,47 ± 1,40	15,83 ± 2,93	<0,05	39,00 ± 3,71	79,63 ± 16,94	<0,05
Mg ²⁺ в эритроцитарной массе крови из Vs, ммоль/л	1,420 ± 0,101	1,910 ± 0,074	<0,001	1,750 ± 0,094*	2,150 ± 0,184	>0,1	1,210 ± 0,012**	1,480 ± 0,175###	>0,1	2,120 ± 0,268***	1,220 ± 0,035####	<0,01	1,900 ± 0,143****	2,110 ± 0,168#####	>0,1

Примечание. + — стрессустойчивые крысы; – — стресснеустойчивые крысы; P — достоверность различий между показателями у крыс с разной устойчивостью к стрессу.

Достоверность различий показателей между контролем и исходным состоянием: *у стрессустойчивых крыс (P < 0,05); между ацетатной язвой и контролем: **у стрессустойчивых крыс (P < 0,001), ###у стресснеустойчивых крыс (P < 0,05); между стрессовой язвой и исходным состоянием: ***у стрессустойчивых крыс (P < 0,05), ####у стресснеустойчивых крыс (P < 0,001); между ацетатной язвой после воздействия острого стресса и ацетатной язвой: ****у стрессустойчивых крыс (P < 0,001), #####у стресснеустойчивых крыс (P < 0,05).

Таблица 2

Удельное число и интенсивность экспрессии eNOS-позитивных клеток (Me[25 и 75 перцентили])

Характеристика eNOS	Исходное состояние		Q	Контроль		Q	Ацетатная язва		Q	Стрессовая язва		Q	Ацетатная язва после воздействия острого стресса		Q	
	+	-		+	-		+	-		+	-		+	-		
Устойчивость к стрессу	+	-		+	-		+	-		+	-		+	-		
СОЖ	интенсивность экспрессии	1 [1; 1]	2 [2; 2]	<0,05	3 [3; 3]*	3 [3; 3]#	-	2 [2; 2]**	1 [1; 1]###	<0,05	2 [2; 2]***	3 [3; 3]###	<0,05	3 [3; 3]****	3 [2,75; 3]#####	-
	удельное число	65 [50; 82,5]	17,5 [10; 25]	<0,05	7,5 [4; 11,25]*	12,5 [8,75; 15]	-	22,5 [20; 27,5]**	12,5 [10; 15]	<0,05	30 [28,75; 31,25]***	5 [4,5; 5]####	<0,05	32,5 [12,5; 55]	7,5 [4; 15]	-
Подслизистая основа	Интенсивность экспрессии	0 [0; 0,75]	1 [0,75; 1]	-	1 [1; 1]	1 [0; 2,25]	-	2 [1,5; 2]	0 [0; 0,25]	-	2 [1,5; 2,25]	2 [1,5; 2]	-	2 [2; 2]	0 [0; 0,5]	-
	Удельное число	0 [0; 12,5]	10 [7,5; 10]	-	5 [5; 6,25]	5 [0; 10]	-	3 [1; 2]	0 [0; 1,25]	-	7,5 [3,75; 10]	5 [3,75; 6,25]	-	5 [5; 6,25]	0 [0; 3,75]	-

Примечание. + — стрессустойчивые крысы; – — стресснеустойчивые крысы; Q — достоверность различий между показателями у крыс с разной устойчивостью к стрессу (Q < 0,05).

Достоверность различий показателей (Q < 0,05) между контролем и исходным состоянием: *у стрессустойчивых крыс, #у стресснеустойчивых крыс; между ацетатной язвой и контролем: **у стрессустойчивых крыс, ###у стресснеустойчивых крыс; между стрессовой язвой и исходным состоянием: ****у стрессустойчивых крыс, #####у стресснеустойчивых крыс; между ацетатной язвой после воздействия острого стресса и ацетатной язвой: *****у стрессустойчивых крыс, #####у стресснеустойчивых крыс.

У крыс со сформировавшейся ацетатной язвой под влиянием острого стресса по отношению к животным с ацетатной язвой площадь язвы оставалась практически такой же — (39,0 ± 3,71) мм² (табл. 1). При ацетатной язве желудка у стрессустойчивых животных число eNOS-позитивных клеток слизистой оболочки желудка (СОЖ) повышалось (Q < 0,05), но интенсивность экспрессии снижалась по отношению к контрольной серии крыс. Одновременно в эритроцитах крови из Vs содержание Mg²⁺ снижалось на 30,9 % (p < 0,001). Выявлена прямая заметная связь между содержа-

нием внутриэритроцитарного Mg²⁺ и числом иммунорезистивных клеток в СОЖ (r = 0,7). После воздействия острого стресса в этой же группе крыс число eNOS-позитивных клеток снизилось в СОЖ, но интенсивность экспрессии увеличилась по отношению к исходному состоянию (Q < 0,05). Одновременно было выявлено увеличение на 49,3 % (P < 0,05) концентрации внутриэритроцитарного Mg²⁺ в крови из Vs. При остром стрессе определялась прямая корреляционная связь между площадью язвы и числом иммунорезистивных клеток в СОЖ (r = 0,69). Увеличение

площади язвы, коррелирующее с числом и интенсивностью экспрессии нитроксидсинтазы в СОЖ, может быть связано с нарушением сопряжения L-аргинина и eNOS. Снижение транспорта и метаболизма L-аргинина при одновременном увеличении активности eNOS ведет к образованию супероксид-аниона. При этом количество синтезированного NO резко снижается, создавая предпосылки к усилению изъязвления слизистой оболочки желудка [2].

У стрессустойчивых животных со сформировавшейся ацетатной язвой после воздействия острого стресса по отношению к крысам с ацетатной язвой желудка была выявлена достоверная сверхэкспрессия и недостоверное увеличение количества eNOS-позитивных клеток в СОЖ на фоне повышенного уровня Mg^{2+} в эритроцитарной массе крови из Vs на 57,0 % ($P < 0,001$). Выявлены следующие корреляционные взаимосвязи: между площадью язвы и удельным числом eNOS-позитивных клеток в СОЖ — прямая весьма высокая ($r = 0,98$); между содержанием внутриэритроцитарного Mg^{2+} в крови из Vs и удельным числом eNOS-позитивных клеток в СОЖ — прямая умеренная ($r = 0,46$).

У стрессустойчивых крыс площадь ацетатной язвы составила ($68,7 \pm 9,44$) мм², моделирование стрессовой язвы в этой же группе животных вызывало появление дефекта площадью ($15,83 \pm 2,93$) мм². При воздействии острого стресса на животных со сформировавшейся ацетатной язвой площадь язвы составила ($79,63 \pm 16,94$) мм² (табл. 1). На фоне ацетатной язвы при сравнении с контрольной серией отмечалось снижение как числа, так и интенсивности окрашивания eNOS-позитивных клеток в СОЖ ($Q < 0,05$) с одновременным снижением на 31,2 % ($P < 0,05$) концентрации Mg^{2+} в эритроцитах крови из Vs. Между площадью язвы и числом eNOS-позитивных клеток в СОЖ выявлена прямая связь ($r = 0,63$); между концентрацией Mg^{2+} в эритроцитах крови из Vs и числом клеток в СОЖ — прямая зависимость ($r = 0,37$). На фоне острого стресса уменьшалось число клеток, экспрессирующих eNOS в СОЖ, с увеличением интенсивности экспрессии ($Q < 0,05$). Одновременно было выявлено снижение на 36,1 % ($P < 0,001$) концентрации Mg^{2+} в эритроцитах из Vs. Корреляционные взаимоотношения были следующими: между площадью язвы и числом иммунопозитивных клеток в СОЖ — прямые умеренные ($r = 0,41$); между содержанием Mg^{2+} в эритроцитах крови из Vs и числом eNOS-позитивных клеток в СОЖ — прямые высокие ($r = 0,73$), по отношению к интенсивности окрашивания клеток в СОЖ — обратные ($r = -0,82$). Острое стрессирование крыс с уже сформировавшейся ацетатной язвой по сравнению с животными с ацетатной язвой приводило к увеличению интенсивности иммуногистохимической реакции на фоне практически неизменного числа eNOS-позитивных клеток в СОЖ и выраженного увеличения концентрации Mg^{2+} в эритроцитах крови из Vs на 42,6 % ($P < 0,05$). Между интенсивностью экспрессии eNOS-позитивных клеток в СОЖ и пло-

щадью язвы определена прямая заметная связь ($r = 0,65$); между содержанием Mg^{2+} в эритроцитах крови из Vs и удельным числом eNOS-позитивных клеток в СОЖ — прямая связь — $r = 0,42$, по отношению к выраженности экспрессии в СОЖ — $r = 0,77$.

При ацетатной язве было выявлено, что у стрессустойчивых по отношению к стресснеустойчивым крысам площадь язвы была меньше на 43,6 % ($P < 0,05$). При этом у стресснеустойчивых крыс была менее выражена интенсивность и более низкое число eNOS-позитивных клеток в СОЖ по сравнению со стрессустойчивыми животными на фоне практически одинаковой концентрации Mg^{2+} в эритроцитах крови из Vs. При остром стрессе у стрессустойчивых животных по сравнению со стресснеустойчивыми крысами площадь язвы была меньше на 46,5 % ($P < 0,05$). При этом у стресснеустойчивых животных по отношению к устойчивым крысам определялось более низкое число клеток, экспрессирующих eNOS в СОЖ, но интенсивность экспрессии была выше на фоне значительной на 73,8 % ($P < 0,01$) задержки Mg^{2+} в эритроцитарном пуле крови из Vs. Острое стрессирование обеих групп животных со сформировавшейся ацетатной язвой сопровождалось появлением язвы меньшей площади у стрессустойчивых крыс на 51 % ($P < 0,05$) по отношению к неустойчивым животным, которые при этом отличались от устойчивых крыс недостоверным снижением интенсивности и числа eNOS-позитивных клеток в СОЖ на фоне меньшей концентрацией Mg^{2+} в эритроцитарной массе крови из Vs на 10 % ($P > 0,1$).

Таким образом, у стрессустойчивых крыс меньшая площадь язвенного дефекта при ацетатной язве и ацетатной язве, сформировавшейся на фоне острого стресса, сопровождается большим числом eNOS-позитивных клеток в СОЖ, обеспечивающих адекватный уровень кровоснабжения стенки желудка, что приводит к меньшему повреждению слизистой оболочки и более интенсивной реализации процессов заживления поврежденных тканей ЖКТ. На фоне острого стресса формирование язвы меньшей площади у стрессустойчивых крыс также ассоциирует со значительным числом eNOS-позитивных клеток в СОЖ. Обращает на себя внимание, что при критически малом числе нитроксидпозитивных клеток в СОЖ у стресснеустойчивых крыс, видимо, как проявление адаптационных процессов усиливается интенсивность ее экспрессии. Полученные данные позволяют утверждать, что в процессе стресс-реакции происходит не только и не столько истощение активности нитроксидсинтазы, приводящее к ишемии слизистой, сколько врожденный или приобретенный дефицит этого фермента в тканях ЖКТ. Стойкая высокая зависимость площади изъязвления от числа и интенсивности экспрессии eNOS в тканях желудка вне зависимости от этиологического фактора изъязвления делает этот показатель одним из важных патогенетических механизмов формирования язвенных дефектов.

Анализ содержания магния в эритроцитах крови на фоне язвенных дефектов ацетатной и стрессовой природы выявляет разнонаправленные изменения. Сравнительное исследование уровня внутриклеточного магния у стрессустойчивых и неустойчивых крыс с ацетатной язвой и ацетатной язвой, сформировавшейся на фоне острого стресса, значимой разницы не выявляет. Однако у стресснеустойчивых крыс со стрессовой язвой резко падает уровень внутриклеточного магния, что на фоне малого числа eNOS-позитивных клеток создает оптимальные условия для изъязвления слизистой ЖКТ. Во-первых, потому что дефицит магния вызывает нарушение механизмов вазодилатации. Во-вторых, его дефицит как активатора более 300 ферментов, в том числе и в первую очередь энергообразования и энергопотребления, создает предпосылки для снижения интенсивности пролиферации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать вывод, что при формировании экспериментальных язв стрессовой и химической природы у стресснеустойчивых крыс по отношению к устойчивым площадь язвенного дефекта больше на фоне меньшего числа клеток в слизистой оболочке желудка, экспрессиру-

ющих eNOS, и практически одинаковой концентрации внутриэритроцитарного магния в крови. Только в условиях острого стресса у стресснеустойчивых животных выявлена более значительная потеря магния эритроцитами крови по сравнению со стрессустойчивыми крысами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. — М.: МЕДпресс-информ, 2004. — 920 с.
2. Парахонский А.П. // Фундаментальные исследования (Материалы конференции). — 2008. — № 8. — С. 120—122.
3. Полянецв А. А., Мозговой П. В., Фролов Д. В., Снугур Г. Л // Хирургия. — 2011. — Т. 12. — С. 410—419.
4. Okabe Susumu and Amagase Kikuku // Biol. Pharm. Bull. — Japan. — 2005. — Vol. 28 (8) — P. 1321—1341.

Контактная информация

Поветкина Виктория Николаевна — ассистент кафедры патологической физиологии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: vnpovetkina@gmail.com

УДК 616. 831 — 003. 215: 340.6

СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКАЯ ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ВРЕДА ЗДОРОВЬЮ ХРОНИЧЕСКИХ СУБДУРАЛЬНЫХ ГЕМАТОМ

В. К. Дадабаев, М. А. Невзоров, Е. Б. Ганина

Тверская государственная медицинская академия

В настоящее время существует проблема раннего обнаружения хронической субдуральной гематомы, что не всегда позволяет установить механизм, давность и точное время возникновения, это важно в работе судебно-медицинского эксперта при производстве экспертиз при определении причиненного вреда здоровью пострадавшего. Применение рентгеновской компьютерной томографии дает исчерпывающую информацию по вышеизложенным вопросам, в том числе определяет план лечения, сроки и прогноз выздоровления.

Ключевые слова: судебно-медицинская экспертиза, хроническая субдуральная гематома, рентгеновская компьютерная томография, установление тяжести вреда здоровью.

MEDICOLEGAL ASSESSMENT OF SEVERITY OF HARM TO HEALTH OF CHRONIC HEMATOMA SUBDURALIS

V. K. Dadabaev, M. A. Nevzorov, E. B. Ganina

Nowadays there is a problem of early detection of chronic hematoma subduralis whose mechanism, remoteness and exact time of origin are difficult to define; this is important in the work of a forensic expert when determining the extent of harm done to the victim's health. Application of x-ray computer tomography gives exhaustive information about the above stated issues, including defining the treatment plan, terms and recovery forecast.

Key words: Forensic expertise, chronic hematoma subduralis, x-ray computer tomography, establishment of harm to health.

Судебно-медицинская экспертиза тяжести вреда здоровью хронической субдуральной гематомы (ХСГ) часто вызывает затруднения, вызванные отсутствием четкой связи между травмой головы и неврологическими

проявлениями ХСГ, выявляемыми через 2—3 недели после травмы. Применяемые при исследовании трупов методы диагностики не приемлемы в случаях несмертельных черепно-мозговых травм (ЧМТ). Необходимо учиты-