

ROLE OF GLYCOCONJUGATES IN THE PROCESSES OF SKIN MORPHOGENESIS IN THE OFFSPRING WITH UNDERLYING MATERNAL ORGANISM'S HYPOTHYROIDISM*Ch.I.Preima, A.M.Yashchenko*

Abstract. The paper investigated the impact of hypothyroidism of the maternal organism on the morphofunctional peculiarities and cytotopography of lectin receptors in the structural components of the skin in the offspring. Slices of the skin, taken from the back of the offspring on the 16th day of embryogenesis and from control females, and on the 1st and 10th days of postnatal development, were fixed in 4 % neutral formalin. Then the skin samples were stained with hematoxylin and eosin, basic brown stain, aldehyde fuchsin by Gomori's technique, and tested by PAS reaction was carried out. Glycoconjugates of the skin were studied by the method of the lectin peroxidase technique with the use of the set of the following lectins: ConA, PNA, RCA, HPA, WGA, SNA, LABA, and LTFA. With underlying maternal organism's hypothyroidism, the number of tissue basophils increases on the 10th day of ontogenesis that is an evidence of an activation of immune reactions under these conditions. There occurs a remodelling of the carbohydrate components of the skin and their derivatives, the process of the differentiation of the substantia medullaris changes with the predominance of the expression of the receptors of α NAcDGluc-specific lectin WGA.

Key words: skin, hypothyroidism, lectins, histochemistry.

Danylo Halytskyi National Medical University (Lviv)

Рецензент – доц. Н.В.Черновська

Buk. Med. Herald. – 2009. – Vol.13, №4.–P.232-236

Надійшла до редакції 22.07.2009 року

© Х.І.Прейма, А.М.Ященко, 2009

УДК 612.67.79:616.5:615.361.018.5.013.8

*В.Ю.Пурешева, О.В.Кудокочева, В.В.Волина, И.И.Ломакин, Л.А.Бабийчук***ПРЕЖДЕВРЕМЕННОЕ СТАРЕНИЕ КОЖИ, ВЫЗВАННОЕ ГИПОТИРЕОЗОМ, И СПОСОБЫ ЕГО КОРРЕКЦИИ**

Отдел криофизиологии (зав. – проф. Г.А.Бабийчук)
Института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Резюме. В работе изучали характер влияния криоконсервированных ядросодержащих клеток кордовой крови на морфофункциональное состояние дермы в условиях экспериментального гипотиреоза *in vivo*. Показана перспективность применения стволовых клеток

кордовой крови в качестве терапевтического воздействия на процессы регенерации дермы.

Ключевые слова: гипотиреоз, дерма, стволовые клетки, пуповинная кровь морфология.

Введение. Внешний вид человека во многом определяет качество его жизни. С ростом благосостояния и стремлением вести здоровый образ жизни все большее внимание уделяется эстетике внешнего вида, особенно состоянию кожи. Кожа является зеркалом, отражающим общее состояние здоровья организма. Старение кожи можно рассматривать с общепрофизиологической позиции старения организма в целом. Биологическое старение кожи определяют общие метаболические нарушения в организме, которые проявляются с возрастом: снижение активности цитоплазматических ферментов, преобладание процессов катаболизма над процессами анаболизма и т.п. Важным фактором старения является снижение функций эндокринной системы, которая обеспечивает обмен веществ в коже, ее репарацию и восстановление утрачиваемых клеточных элементов, нормальное функционирование желез и рост волос. Наиболее значимым влиянием на функционирование кожи обладают гормоны щитовидной железы [2, 3].

Еще Хорслей (Horsley, 1884) указывал на параллелизм между симптомами старения и гипотиреозом [8]. Совершенно очевидно, что сложнейший биологический процесс старения организма не может быть сведен к изменению функции только одной железы. Однако в механизме многих возрастных изменений существенная роль принадлежит нарастающей гипофункции щитовидной железы.

Тиреоидные гормоны играют главную роль в обеспечении метаболизма и необходимы для нормального роста и развития кожи. Основным механизмом действия тиреоидных гормонов является стимуляция синтеза белков в цитоплазме клеток и повышение уровня потребления тканями кислорода. Развивающиеся при хроническом гипотиреозе нарушения структуры дермы проявляются в изменении волосяного покрова, функциональных изменениях потовых и сальных желез, сухости кожи, повышенном слущивании эпидермиса, снижении основного потенциала кожных

© В.Ю.Пурешева, О.В.Кудокочева, В.В.Волина, И.И.Ломакин, Л.А.Бабийчук, 2009

покровов в осуществлении физиологических, иммунных и биохимических функций кожи [2].

С открытием в кордовой крови плюрипотентных стволовых клеток (СК) и стволовых мезенхимальных клеток, кордовая кровь (КК) рассматривается как потенциальный источник для клеточной терапии при широком спектре заболеваний [1, 6]. В этой связи возникают теоретические предположения использования препаратов КК для исследования процессов регенерации кожи крыс при дерматопатологии, вызванной экспериментальным гипотиреозом (ЭГТ).

Цель исследования. Изучить влияние криоконсервированных стволовых клеток кордовой крови человека на процессы регенерации кожи при преждевременном старении в условиях экспериментального гипотиреоза у крыс.

Материал и методы. Объектом исследования служили беспородные белые самки крыс 4-месячного возраста массой тела 110-120 г. Работа с животными осуществлялась с соблюдением положений Европейской конвенции по охране позвоночных животных и национального законодательства по гуманному обращению с животными. Субтотальную тиреоидэктомию (100% удаление щитовидной железы) выполняли по методу [4]. В эксперименте задействованы животные, подвергшиеся тиреоидэктомии и последующему введению препарата КК в хвостовую вену [6].

Все эксперименты проводились в течение первых 40 дней с момента тиреоидэктомии, с учетом динамики восстановления тиреоидных гормонов в крови подопытных животных [3, 4].

Животные составили следующие экспериментальные группы:

группа 1 – тиреоидэктомированные животные;

группа 2 – тиреоидэктомированные животные, которым вводили препарат КК «Стемкорд».

Каждая группа состояла из 10 животных. Контролем служили интактные животные.

Препарат кордовой крови «Стемкорд» представлял собой криоконсервированную взвесь стволовых клеток (СК) в концентрации (1-3)10⁵ в 1 мл плазмы КК, богатой биологически активными веществами, факторами роста, гормонами, цитокинами, микроэлементами [1].

Исследования ядродержащих клеток (ЯСК) (CD45+) кордовой крови, в том числе и гемопоэтических (CD34+), проведены до и после криоконсервирования методом проточной цитометрии по международному ISHAGE протоколу [1].

Для изготовления гистологических препаратов иссеченные на всю толщину участки кожи экспериментальных животных из области спины фиксировали в 10 % формалине, промывали проточной водой, подвергали обезвоживанию в спиртах возрастающей концентрации, просветляли в ксилоле и заливали в парафин-целлоидин.

Полученные из парафин-целлоидиновых блоков микротомные срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином для получения обзорных гистологических препаратов, а также пикрофуксином по методу Ван Гизон для изучения соединительной ткани.

Изучение препаратов проводили под световым микроскопом «Биолам». Формирование экспериментального гипотиреоза подтверждалось на 10-11-е сутки соответствующими изменениями уровня гормонов (тиреотропного гормона - ТТГ, тироксина – Т4, трийодтиронина – Т3) в сыворотке крови.

Статистическую обработку полученных данных проводили по методу Стьюдента-Фишера.

Результаты исследования и их обсуждение. Гистологическое исследование тиреоидэктомированных животных (группа 1) через 1 месяц после моделирования гипотиреоза показало все признаки ее старения. Так, эпидермис был очень истончен, уплощен, отсутствовала его нормальная складчатость. Слои эпидермиса не дифференцировались, его клетки в большинстве имели пикнотичные ядра. В собственно дерме сосочковый и сетчатый слои также не дифференцировались. Соединительнотканная часть дермы представляла собой разрыхленные, фрагментированные и контурно измененные пучки коллагеновых и эластических волокон, среди которых находилось уменьшенное, по сравнению с нормой (рис. 1, а), количество фибробластических клеток с плотными ядрами. Дериваты кожи – сальные железы и волосяные фолликулы – встречались редко, они были уменьшены в размерах, ядра их клеток – пикнотичны (рис. 1, б).

У тиреоидэктомированных животных, которым после операции вводили препарат КК «Стемкорд» (группа 2), кожа иссекалась под эфирным наркозом спустя 7 суток после введения препарата. При гистологическом исследовании обнаруживался новообразованный эпидермис, который был утолщен по сравнению с нормой. В нем обнаруживалась складчатость и дифференцировка клеток с формированием характерных слоев. Клетки фибробластического ряда, количество которых было увеличено по сравнению с нормой, в большинстве случаев располагались параллельно новообразованным пучкам коллагеновых волокон, формирующих дерму, трещин и щелей между ними обнаружено не было (рис. 1, в). В собственно дерме, особенно в глубоких ее отделах, обнаруживались растущие волосяные фолликулы. На границе дермы и подкожной клетчатки наблюдалось разрастание мелких кровеносных сосудов и капилляров, а также – фибробластических клеточных элементов, вероятно произошедших из перицитов (периваскулярных клеток мезенхимального происхождения, служащих главными предшественниками фибробластов) [7].

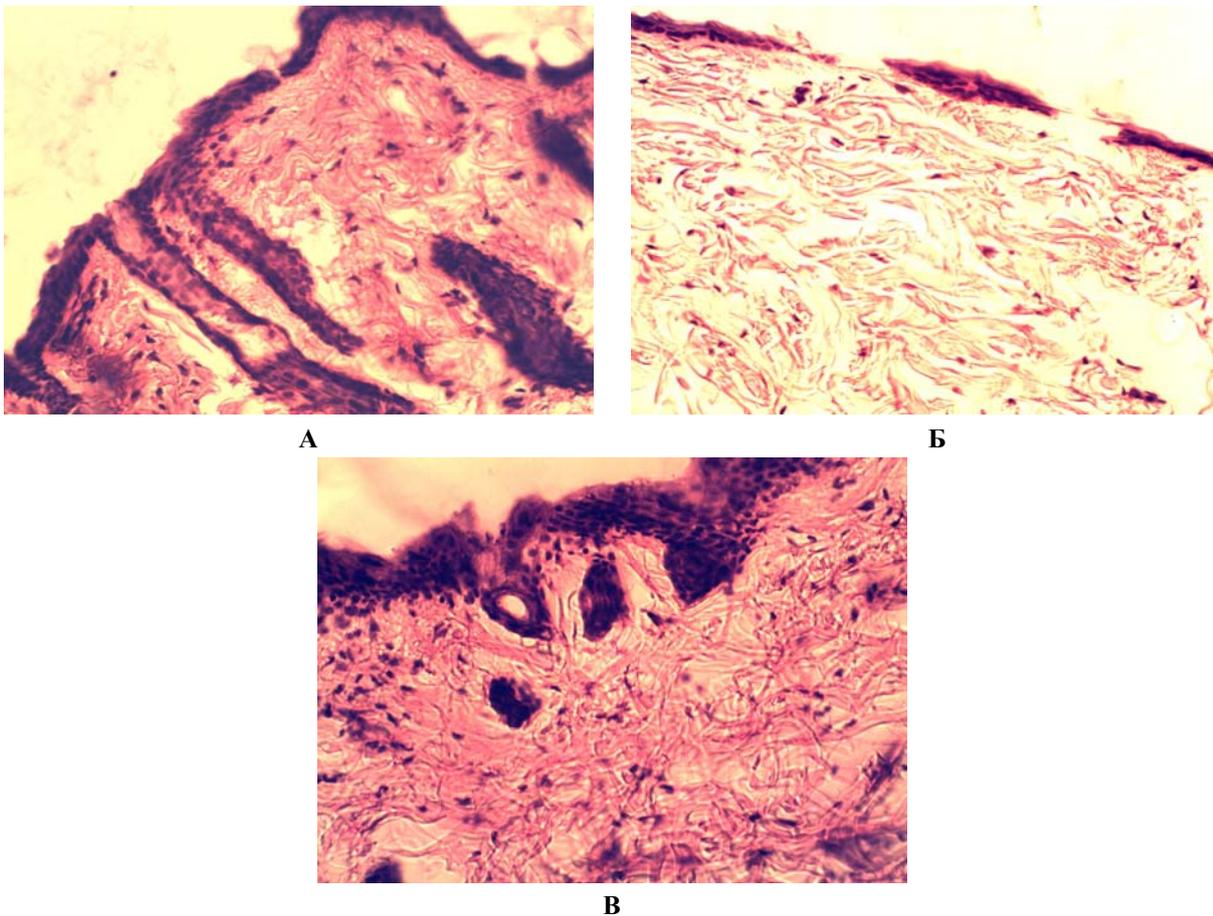


Рис. 1. Кожа крыс экспериментальных групп: а – intactные животные; б – животные с моделированным гипотиреозом через 1 мес.; в – тиреоидэктомированные животные, которым вводили препарат кордовой крови «Стемкорд». Окраска гематоксилином и эозином, ок. 10, об. 20

Выводы

1. Характер восстановительных процессов в коже животных с экспериментальным гипотиреозом при введении препарата КК «Стемкорд» имеет выраженную тенденцию к полной регенерации утраченных морфофункциональных свойств кожи.

2. Основным механизмом, обеспечивающим восстановительные процессы в коже при введении стволовых, в том числе и мезенхимальных клеток, а также биогенных стимуляторов, которые присутствуют в плазме КК и участвуют в нормализации метаболизма в организме, является стимуляция роста кровеносных капилляров, улучшающих трофику кожи, и фибробластов, синтезирующих коллагеновые волокна.

Перспективы дальнейших исследований.

Применение препаратов кордовой крови в условиях экспериментального гипотиреоза рассматривается нами как перспективный фактор воздействия на течение и последствия эндокринных нарушений как кожи, так и всего организма в целом.

Литература

1. Бабийчук Л.А. Новые перспективы в криоконсервировании ядродержащих клеток кордовой крови / Л.А.Бабийчук, О.В.Кудокоцева, В.В.Рязанцев // Гематол. і переливання крові. – 2008. – № 34. – С. 17-21.
2. Калюжная Л. Старение кожи: патогенетические и лечебные аспекты / Л.Калюжная,

В.Дзюбак // Укр. мед. часопис. – 2002. – № 2 (28). – С. 68-72.

3. Кандрор В. Физиологические эффекты тиреоидных гормонов и механизм их действия // Руководство по клинической эндокринологии: статья / В.Кандрор. – Питер, 1996. – С. 120-124.
4. Легач Е.И. Ретроградный способ тиреоидэктомии крыс как адекватная модель гипотиреоза / Е.И.Легач // Трансплантология. – 2005. – Т. 8, № 2. – С. 92-94.
5. Озерская О. Экспериментальные подходы к обоснованию применения клеточных композиций на основе фибробластов в дерматокосметологии / О.Озерская, В.Щеголев // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2008. – Т. 3, № 2. – С. 66-67.
6. Применение препаратов кордовой крови и общей экстремальной аэрокриотерапии для восстановления нарушений дермы, вызванных хроническим гипотиреозом / В.Ю.Пурышева, И.И.Ломакин, О.В.Кудокоцева [и др.] // Трансплантология. – 2008. – Т. 10, № 1. – С. 100-103.
7. Стволовые клетки. Биология и потенциальное клиническое использование / Н.Я.Спивак, Г.Т.Сухих, В.В.Малайцев [и др.] // Трансплантология. – 2005. – Т.8, № 3. – С. 6-14.
8. Судаков К.В. Основы физиологии функциональных систем / К.В.Судаков. – М.: Медицина, 1983. – 272 с.

**ПЕРЕДЧАСНЕ СТАРІННЯ ШКІРИ, ВИКЛИКАНЕ ГІПОТИРЕОЗОМ,
І ЗАСОБИ ЙОГО КОРЕКЦІЇ***В.Ю.Пуришева, О.В.Кудокотцева, В.В.Волина, І.І.Ломакін, Л.О.Бабійчук*

Резюме. У роботі вивчали характер впливу криоконсервованих ядромісних клітин кордової крові на морфофункціональний стан дерми в умовах експериментального гіпотиреозу *in vivo*. Показано перспективність застосування стовбурових клітин кордової крові як терапевтичний вплив на процеси регенерації дерми.

Ключові слова: гіпотиреоз, дерма, стовбурові клітини, пуповинна кров, морфологічне дослідження.

**PREMATURE AGING OF THE SKIN, CAUSED BY HYPOTHYROIDISM
AND ITS CORRECTION METHODS***V.Ju.Purysheva, O.V.Kudokotseva, V.V.Volina, I.I.Lomakin, L.A.Babichuk*

Abstract. The paper studied the character of the influence of cryoconserved nucleated cells of the cord blood on the morphofunctional condition of the derma under the conditions of experimental hypothyroidism *in vivo*. A promising outlook of applying the stem cells of the cord blood as a therapeutic modality on the processes of derma regeneration has been demonstrated.

Key words: hypothyroidism, derma, stem cells, cord blood, morphological research.

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine
of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kharkiv)

Рецензент – доц. Р.Є.Булик

Buk. Med. Herald. – 2009. – Vol.13, №4.–P.236-239

Надійшла до редакції 27.08.2009 року

© В.Ю.Пуришева, О.В.Кудокотцева, В.В.Волина, І.І.Ломакін, Л.А.Бабійчук,

УДК 616.62-003.7:616.613-003.7-039.31]-08

*Л.В.Святська***ХРОНОРИТМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ФІЗИКО-ХІМІЧНОГО
СКЛАДУ СЕЧІ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ СЕЧОКАМ'ЯНОЮ
ХВОРОБОЮ ТА НИРКОВОЮ КОЛІКОЮ**

Кафедра хірургії та урології (зав. – проф. А.Г.Іфтодій)
Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

Резюме. На підставі вивчення хроноритмологічних особливостей фізико-хімічного складу сечі нами виявлено, що зміни концентрації водневих іонів сечі протягом доби корелюють з ритмом виникнення ниркової коліки. У той же час акрофаза концентрації водневих іонів сечі у здорових людей за часом протилежна акрофазі ниркової коліки в пацієнтів із сечокам'яною

хворобою. Суттєво зростав за нападу ниркової коліки на фоні сечокам'яної хвороби вміст білка в сечі – його концентрація, що перевищувала граничні норми, достовірно збільшена у всі досліджувані часові проміжки.

Ключові слова: сечокам'яна хвороба, ниркова коліка, хроноритми, протеїнурія, водневі іони сечі.

Вступ. Останніми роками в Україні реєструється підвищення росту захворюваності на сечокам'яну хворобу (СКХ) як у дорослих, так і в дітей [3, 5]. Упродовж останнього десятиріччя реєструється позитивна динаміка в зростанні обструктивних уропатій і сечокам'яної хвороби в більшості регіонів України [7].

Здатність до самостійного відходження в повній мірі залежить від розміру каменя, його локалізації, а також анатомо-функціонального стану верхніх сечових шляхів. Більше 98 % каменів, менше 5 мм у діаметрі, відходять спонтанно, причому, час пасажу каменя становить 3-4 тижні. Відходження каменів, як правило, супроводжується нирковою колікою, однак може бути без больових

відчуттів. Біля 50 % каменів більших, ніж 5 мм у діаметрі, потребують втручання [12].

Наукова думка в останні десятиріччя переважно зосереджена не на консервативному лікуванні СКХ та проведенні метафілактичних заходів, а на хірургічних аспектах видалення каменя з ВСШ [6]. Стрімкий технічний прогрес сприяв цьому, спрощуючи видалення каменя за рахунок відпрацьованих технологій та одночасно гальмуючи вивчення патогенезу СКХ, розробку на цьому підґрунті патогенетичного лікування та ефективних метафілактичних заходів [5, 7]. Ця тенденція виглядала наступним чином: зручніше було видалити новий камінь з ВСШ, ніж запобігати утворенню нових. Адже не є секретом те, що ви-