УДК 615.324:616.61:616.33-002.44-085-092.4

ОЦЕНКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЯДРЫШКОВЫХ ОРГАНИЗАТОРОВ В КЛЕТКАХ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА КРЫС НА ФОНЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ «ИНДОМЕТАЦИНОВОЙ» ЯЗВЫ ПЕПТИДНЫМ КОМПЛЕКСОМ ИЗ ТКАНЕЙ СВИНЫХ ПОЧЕК

Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул

Лоренц С.Э., Жариков А.Ю., Бобров И.П., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Сиряченко М.Е.

Для оценки изменения пролиферативной активности клеток слизистой оболочки желудка крыс при профилактическом применении пептидного комплекса из тканей свиных почек в условиях «индометациновой» язвы было проведено исследование морфофункциональной активности ядрышковых организаторов в клетках. По результатам исследования было установлено, что на фоне семидневного профилактического введения препарата значительно понижаются показатели морфофункциональной активности ядрышковых организаторов в сравнении с контролем, что указывает на уменьшение пролиферации эпителия. Таким образом, можно полагать, что пептидный комплекс, оказывая антиульцерогенное действие, не обладает способностью напрямую стимулировать регенерацию тканей.

Ключевые слова: *язвенная болезнь желудка, ядрышковые организаторы, пептидный экстракт, гастропротекторное действие.*

To assess the changes in the proliferative activity of cells of the gastric mucous membrane of rats during the preventive use of the peptide complex from the tissues of pig kidneys under the conditions of the "indometacin" ulcer, the morpho-functional activity of the nucleolar organizers in cells was studied. According to the results of the study, it was found that against the background of the seven-day preventive administration of the drug, the parameters of the morpho-functional activity of the nucleolar organizers are significantly reduced in comparison with the control, which indicates a decrease in the proliferation of the epithelium. Thus, it can be assumed that the peptide complex, having an anti-ulcerogenic effect, does not have the ability to directly stimulate the regeneration of tissues.

Key words*: gastric ulcer, nucleolar organizers, peptide extract, gastroprotective effect.*

Ранее в эксперименте мы установили, что применение пептидного комплекса из тканей свиных почек с целью фармакологической коррекции «индометациновой» язвы сопровождалось значительным облегчением протекания патологии. Об этом главным образом свидетельствовало снижение количества глубоких полосовидных эрозий слизистой оболочки желудка и их глубины, уменьшение индекса Паулса, а также увеличение толщины слизистой оболочки желудка [1].

В данном контексте нас заинтересовал вопрос изучения возможных механизмов выявленного антиульцерогенного действия. В этой связи на первом этапе мы решили изучить влияние пептидного комплекса на морфофункциональную активность ядрышковых организаторов в клетках слизистой оболочки желудка. Ядрышковые организаторы – это специфические участки хромосом, содержащие множество генов, кодирующих рРНК. Вокруг ядрышковых организаторов формируются ядрышки, а находящиеся в них белки отвечают за активизацию и контроль транскрипции рибосомных генов, за регуляцию деления клеток [2, 3]. При язвенной болезни в зоне повреждения значительно изменяются процессы пролиферации [4]. Выраженность этих процессов в клетке напрямую связано с активностью и количеством ядрышковых организаторов в ядре. Эту активность можно определить благодаря наличию в них аргирофильных белков (AgNORs), способных выявляться методом серебрения [5, 6]. Поэтому определение количественных показателей AgNORs в ядрах клеток слизистой оболочки желудка на фоне применения пептидного комплекса из тканей свиных почек может внести вклад в понимание механизмов его антиульцерогенного действия.

Цель настоящего исследования – определить характер влияния пептидного комплекса из тканей свиных почек на пролиферативные процессы в слизистой оболочке желудка при «индометациновой» язве посредством морфофункциональной оценки активности ядрышковых организаторов в клетках.

Материалы и методы

Исследование проводилось на 20 самцах крыс сток Вистар (возраст 7-8 недель, масса 200-250 г), разделенных поровну на две группы: контрольную (моделирование язвенной болезни

желудка) и подопытную (моделирование язвенной болезни желудка + профилактическое введение пептидного комплекса из тканей свиных почек). Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к еде и воде. Исследования выполняли с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/EEC) и Хельсинкской декларации, в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

В качестве язвообразующего фактора использовали нестероидный противовоспалительный препарат «Индометацин». Модель индометацинового повреждения желудка крыс воспроизводили путем однократного внутрижелудочного введения индометацина в дозе 60 мг/кг в 1 мл физиологического раствора. Животным контрольной группы до введения индометацина в течение 7 дней внутрижелудочно вводили 1 мл дистиллированной воды. Животным подопытной группы в аналогичных условиях вводили пептидный комплекс из тканей свиных почек в дозе 75 мг/кг. Через 6 часов после введения язвообразующего фактора крыс подвергали эвтаназии, желудки извлекали, промывали в дистиллированной воде, материал фиксировали в растворе 10% нейтрального формалина и определяли активность ядрышковых организаторов.

Выявление ядрышковых организаторов (ЯО) осуществляли по двухступенчатому методу Daskal Y. et al. [1980], в нашей модификации [7]. При окрашивании материала отчетливо определялись округлые черные гранулы AgNORs на фоне коричневых ядрышек и более светлых ядер. При увеличении х 1000 под масляной иммерсией микроскопа высчитывали число ядрышек, суммарную площадь AgNORs на 1 ядро и ядрышко-ядерное соотношение (Ядр/Яд) в относительных единицах (отн. ед.). В каждом случае исследовали не менее 25-30 ядер клеток шеечных отделов слизистой оболочки желудка крысы (СОЖ).

Статистическую обработку материала проводили при помощи статистического пакета Statistica 10.0. При нормальном распределении данных при проверке статистических гипотез применяли методы параметрической статистики (t-test Стьюдента), а если полученные данные не соответствовали критериям нормального распределения (критерий Шапиро-Уилка $W = 0,89$, $p<0,01$), то применяли тест Колмогорова-Смирнова или U-тест Манна- Уитни. Данные считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Оценка морфофункциональной активности ЯО в клетках шеечных отделов СОЖ контрольной группы крыс показала, что число ядрышек составило 2,85±0,3 на 1 ядро. Площадь AgNORs на 1 ядро в среднем составила 4,5±0,4 мкм^2. Средняя площадь ядра составила – 34,9±2,5 мкм^2. Соотношение Ядр/Яд составило – 0,18±0,04 отн.ед. (рисунок 1).

При оценке морфофункциональной активности ЯО в клетках шеечных отделов СОЖ подопытной группы животных выявлено, что число ядрышек составило 1,2±0,1 на 1 ядро. Площадь AgNORs составила 1,7±0,1 мкм^2 на 1 ядро. Средняя площадь ядра составила 17,2±0,9 мкм^2. Ядр/Яд соотношение составило 0,10±0,005 отн.ед. (рисунок 2).

При сравнении полученных результатов отмечалось, что все показатели морфофункциональной активности ядрышковых организаторов в клетках СОЖ крыс подопытной группы были значительно меньше соответствующих показателей в контрольной группе: число ядрышек на 1 ядро меньше в 2,4 раза, площадь AgNORs – меньше в 2,6 раза ($p<0,05$), площадь ядра – в 2 раза ($p<0,05$), соотношение Ядр/Яд – в 1,8 раза ($p<0,05$).

Результаты проведенного исследования показали, что при индометациновом повреждении СОЖ крыс контрольной группы в клетках шеечных отделов СОЖ отмечалась высокая площадь ядра и высокие показатели морфофункциональной активности ядрышковых организаторов, что может свидетельствовать о значительной активности и скорости пролиферативных процессов в шеечных областях. В подопытной группе в клетках шеечных отделов СОЖ площадь ядра была небольшая, а параметры морфофункциональной активности ЯО невысокие, что может свидетельствовать о небольшой активности и скорости пролиферативных процессов в СОЖ.

Учитывая низкую активность биосинтетических процессов в клетках СОЖ в подопытной группе по сравнению с контролем, можно предположить, что механизм антиульцерогенного действия пептидного комплекса не связан напрямую со стимуляцией регенерации ткани. Не исключено, что задействуются иные механизмы, препятствующие изъязвлению слизистой под влиянием индометацина. Идентификация этих механизмов станет целью дальнейших исследований.

Заключение

Профилактическое внутрижелудочное введении пептидного комплекса из тканей свиных почек на модели «индометациновой» язвы желудка сопровождается ослаблением активности ядрышковых организаторов в ядрах клеток слизистой оболочки желудка, что свидетельствует о снижении активности пролиферативных процессов. Можно полагать, что пептидный комплекс, оказывая антиульцерогенное действие,

не обладает способностью напрямую стимулировать регенерацию тканей.

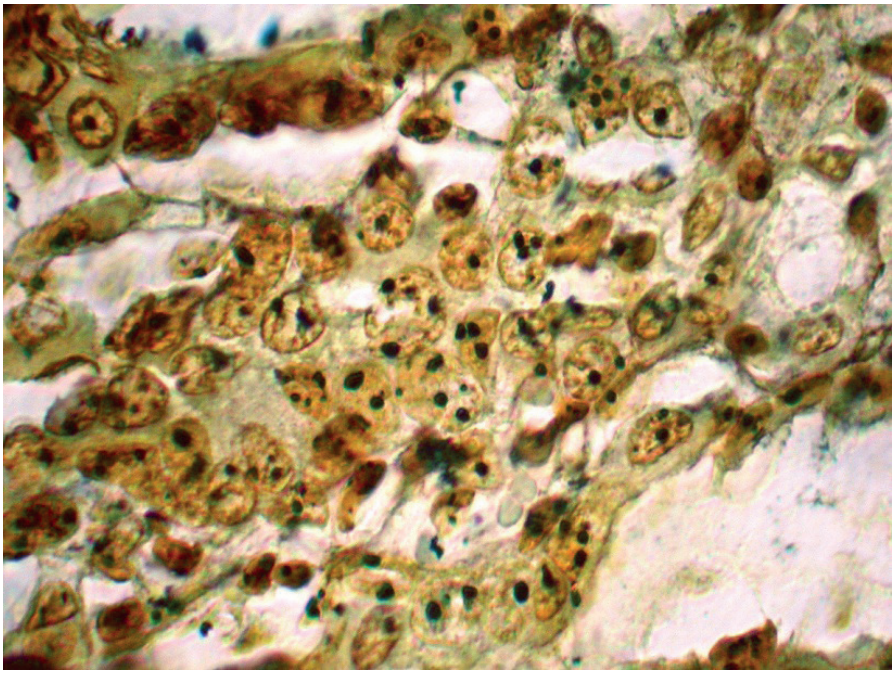

Рисунок 1. Высокая активность ядрышковых организаторов в клетках шеечных отделах СОЖ крыс контрольной группы. Серебрение по Боброву И.П.

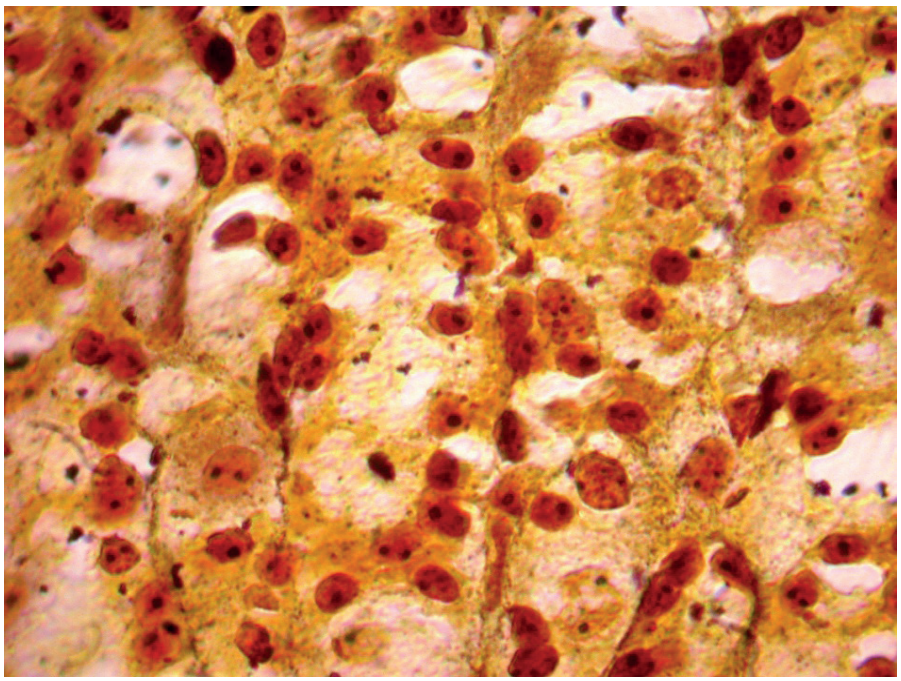

Рисунок 2. Невысокая активность ядрышковых организаторов в клетках шеечных отделах СОЖ крыс подопытной группы. Серебрение по Боброву И.П.

Список литературы

1. Лоренц С.Э., Жариков А.Ю., Бобров И.П., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Киселев В. И. Гастропротекторное действие пептидного комплекса из тканей свиных почек при экспериментальной «индометациновой» язве у крыс. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2017; 6(37): 5-9.
2. Зенит-Журавлева Е.Г., Полковниченко Е.М., Лушникова А.А. Нуклеофозмин и нуклеолин: кодирующие гены и экспрессия в различных тканях животных и человека. *Молекулярная медицина*. 2012; 4: 25-33.
3. Бобров И.П., Черданцева Т.М., Брюханов В.М. Прогностическое значение количественного анализа аргирофильных белков области ядрышкового организатора (AgNOR) при почечно-клеточном раке. *Российский онкологический журнал.* 2013; 1: 19-24.
4. Агеева Т.А., Мальцева Ю.Г., Чернова Л.Н. Патоморфологическая характеристика процессов клеточного обновления в слизистой оболочке желудка при язвенной болезни. *Вестник НГУ*. 2011; 3(9): 6-12.
5. Sirri V., Roussel P., Hernandez-Verdun D. The AgNOR proteins: qualitative and quantitative changes during the cell cycle. *Micron.* 2000; 2(31): 121–126.
6. Долгатов А.Ю., Гервальд В.Я., Бобров И.П. Экспрессия аргирофильных белков, ассоциированных с областью ядрышкового организатора (AgNOR), при раке почки: клинико-морфологические параллели. *Сибирский онкологический журнал*. 2011; приложение 1: 45.
7. Бобров И.П., Авдалян А.М., Черданцева Т. М. и др. Модифицированный метод выявления аргирофильных белков области ядрышкового организатора на парафиновых срезах. Морфология. 2010; 5(138): 65-67.

Контактные данные

Автор, ответственный за переписку: Жариков Александр Юрьевич, д.б.н., доцент, заведующий кафедрой фармакологии Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.

656056, г. Барнаул, ул. Папанинцев, д. 126.

Тел.: (3852) 241859.

E-mail: zharikov@agmu.ru

Информация об авторах

Лоренц Самира Эльшадовна, преподаватель кафедры фармакологии Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.
656056, г. Барнаул, ул. Папанинцев, д. 126.
Тел.: (3852) 241859.
E-mail: pharm_s@mail.ru

Жариков Александр Юрьевич, д.б.н., доцент, заведующий кафедрой фармакологии Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.
656056, г. Барнаул, ул. Папанинцев, д. 126.
Тел.: (3852) 241859.
E-mail: zharikov@agmu.ru

Бобров Игорь Петрович, с.н.с. морфологической лаборатории Центра медико-биологических исследований Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.
Тел.: (3852) 669927.
E-mail: science@agmu.ru

Мазко Олеся Николаевна, к.м.н., с.н.с. лаборатории биомедицины Центра медико-биологических исследований Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.
Тел.: (3852) 669927.
E-mail: olesia.mazko@yandex.ru

Макарова Олеся Геннадьевна, к.м.н., с.н.с. лаборатории биомедицины Центра медико-биологических исследований Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.
Тел.: (3852) 669927.
E-mail: olesia552@mail.ru

Сиряченко Мария Евгеньевна, студентка 5 курса фармацевтического факультета Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.
Тел.: (3852) 669927.
E-mail: science@agmu.ru