

стагландинів груп E і I₂ і зменшують стресс-реакцію // Бюл. експерим. биол. и мед. – 1996. – Т.122, №12. – С. 622-624. 6. Савченко Л.В. Роль ендогенних простагландинів у патогенезі гіпоксичного синдрому та фармакотерапія деякими інгібіторами метаболізму арахідонової кислоти // Журн. АМН України. – 1998. – Т.4, №3. – С. 540-544. 7. Савченко Л.В., Лукьянчук В.Д. Современные представления о генезе гипоксического синдрома и принципах его фармакокоррекции // Журн. АМН Украины. – 1997. – Т.3, №4. – С. 554-566. 8. Сапрыкин В.П., Галанкин В.Н. Ультраструктурная характеристика нефлогенного и флогенного реагирования моно- и полинуклеарных фагоцитов при их взаимодействии со Staphylococcus aureus // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 1998. – №1. – С. 22-26. 9. Fine A., Panchenko M.P., Smith B.D. et al. Discordant regulation of transforming growth factor- β receptors by prostaglandin E₂ // Biochim. Biophys. Acta. Gene Struct. Express. – 1995. – V.1261, №1. – P. 19-24.

THE INFLUENCE OF EXOGENIC PROSTANOIDS AND THEIR SYNTHESIS INHIBITORS ON LIPID PEROXIDATION INTENSITY IN EYES WITH A PENETRATING INJURY OF THE CORNEA, AGGRAVATED BY HYPHEMA

Ya.I.Penishkevich

Abstract. The influence of paracetamol, diclofenac, dexamethasone and prostaglandins E₁, E₂ and F₂ α on the dynamic of changes of the anterior chamber aqueous humor malonic aldehyde content on rabbit eyes with a penetrating injury of the cornea, aggravated by hyphema was studied in an experiment. The local malonic aldehyde level considerably increases, the process going on over a period of four weeks. Prostaglandin E₂ does not influence, and prostaglandins E₁ and F₂ α essentially decrease lipid peroxidation intensity in the injured eye. With the administration of paracetamol, diclofenac and dexamethasone the normalization of the malonic aldehyde content occurs on the seventh day of treatment.

Keywords: eye, trauma, lipid peroxidation, eicosanoids, treatment.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Надійшла до редакції 16.10.2001 року

УДК 618.19-006.6:612.017]-019

I.V.Ташук

ВПЛИВ ПОСТІЙНОЇ ТЕМРЯВИ НА АКТИВНІСТЬ РЕЗИДУАЛЬНИХ МАКРОФАГІВ У МИШЕЙ З АДЕНОКАРЦИНОМОЮ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Кафедра онкології, променевої діагностики та променевої терапії (зав. –проф. Р.В.Сенютович)
Буковинської державної медичної академії

Резюме. Вивчено активність перитонеальних макрофагів у мишей з перещепленою аденокарциномою молочної залози Ca755, які утримувалися за різних світлових режимів. Встановлено, що в умовах постійної темряви збільшення активності резидуальних макрофагів супроводжується підвищенням рівня Т-лімфоцитів у лімфовузлах, що свідчить про інтенсифікацію процесів кооперації імункомпетентних клітин.

Ключові слова: аденокарцинома, темрява, макрофаги, лімфоцити, мелатонін.

Вступ. Центральне місце в хронобіологічній організації, регулюванні циркадіанних ритмів та в процесі адаптації організму до змін зовнішнього середовища належить шишкоподібному тілу [5]. Фотоперіодична інформація надходить до центральної нервової системи через фоторецептори сітківки та надалі – до епіфізу. Показано, що синтез мелатоніну, основного індоламіну епіфіза відбувається тільки за умови темряви і гальмується у світлу фазу доби [4]. Поряд із підвищенням рівня плазматичного та епіфізарного мелатоніну, в період темряви [8,9,12] спостерігаються й інші ознаки активності залози: зростання частоти електричних розрядів пінеалоцитів, збільшення об'єму мітохондрій, ендоплазматичного ретикулула та апарату

Гольджи [1]. Епіфіз здійснює антистресовий захист мозку та інших органів шляхом утворення мелатоніну та гормонів пептидної природи (епіталамін), які мають ней-ропротекторні, імуностимулювальні та онкостатичні властивості [10].

Мета дослідження. Дослідити активність резидуальних макрофагів та визначити кількість тканинного пулу лімфоцитів у мишей з перещепленою аденокарциномою молочної залози Ca755 за умов постійної темряви та природного фотоперіоду.

Матеріал і методи. Дослідження виконані на мишах-самках лінії C57Bl із перещепленою аденокарциномою молочної залози Ca755 (маса тіла – 0,02кг, розведення віварію ІЕПОР НАНУ ім. Р.Е.Кавецького). Вивчення показників імунної системи проведено на 14-ту добу після щеплення.

Мишей було розподілено на дві дослідні групи, по п'ять тварин у кожній. Миші першої групи знаходилися в умовах природного фотоперіоду, другої – за умов постійної темряви. На 14-ту добу експерименту тварин забивали під ефірним наркозом методом декапітації та проводили забір тканин тимуса, селезінки та лімфовузлів (пахвинних – 4, пахових – 2, підколінних – 2, всього – 8). На торсійних терезах визначали абсолютну масу органів та розраховували показник відносної маси кожного з них (у % від маси тіла).

Органи розтирали в гомогенізаторі Поттера в живильному середовищі 199, яке містило 10%-ну сироватку крові великої рогатої худоби. Клітини центрифугували при 1,5 тис об/хв протягом 10 хв. Суспензію клітин, виділених із селезінки, додатково обробляли 0,83%-ним розчином NH_4Cl для лізису еритроцитів впродовж 6 хв, після чого тричі відмивали від NH_4Cl у середовищі 199 (1,5 тис об/хв, 10 хв). Підрахунок кількості життєздатних лімфоцитів, вилучених із кожного органа, проводили за стандартною методикою, використовуючи суправітальне фарбування трипановим синім. Розраховували вміст клітин на 1 мг маси органа та відсоток життєздатних клітин.

Визначали субпопуляційний склад суспензій клітин із лімфатичних вузлів. Препарати для цитологічного дослідження готували із суспензій, які містили по $4-5 \times 10^6$ клітин/мл, за методом висушених краплин та фарбували за методом Штокінгера-Келльнера 1%-ним розчином метиленового синього з наступним диференціюванням у питратному буфері Зеренсена (рН 4,96). Проводили мікроскопію 1000 клітин, підраховуючи Т- (макро-) та В- (мікро-) лімфоцити, лімфобласти і великі лімфоцити, а також інші клітинні елементи [7].

Активність макрофагів визначали в НСТ-тесті. Останні вимивали на 14-ту добу із черевної порожнини за стандартним методом [11]. Готували суспензії клітин (4×10^6 в мл) у живильному середовищі 199, яке містило 10%-ну сироватку крові великої рогатої худоби, змішували рівні об'єми (по 0,1 мл) таких суспензій і розчину нітросинього тетразолію ("Chetanol", Чехія), інкубували проби 40 хв при 37°C та 20 хв при $20-21^\circ\text{C}$, клітини концентрували центрифугуванням. З осаду готували мазки, які фарбували за методом Романовського. У кожному мазку підраховували 100 макрофагів, диференціюючи їх на такі групи: 0 – клітини без гранул диформазану; 1 – 5-7 гранул у цитоплазмі; 2, 3 – гранули займали менше 30 – 50% цитоплазми відповідно; 4 – цитоплазма заповнена гранулами на 50-100%, ядро контуроване; 5 – ядро не контуровується (100% заповненість гранулами). Цитохімічний показник активності (ЦПА) розраховували за формулою

$$\frac{\sum a_v}{100}$$

де a – порядковий номер групи, v – кількість клітин у цій групі [2].

Для порівняння результатів, отриманих у тварин дослідної і контрольної груп, використовували індекси модуляції [6].

Математичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента на РС Pentium II за програмою "Biostat" [3].

Результати дослідження та їх обговорення. Встановлено, що за умов постійної темряви показники абсолютної та відносної маси тимуса і селезінки вірогідних змін не зазнавали, тоді як абсолютна та відносна маса лімфовузлів зменшувалася статистично вірогідно (табл. 1).

Таблиця 1

Показники абсолютної та відносної маси імунокомпетентних органів у тварин з аденокарциномою молочної залози ($\bar{x} \pm S_x$)

Група	Тимус		Селезінка		Лімфовузли	
	мг	%	мг	%	мг	%
Природний фотоперіод, n=5	50,0±3,0	2,5±0,1	244,0±11,1	12,2±0,5	76,0±9,0	3,8±0,4
Постійна темрява, n=5	37,3±13,8	2,0±0,7	243,3±45,9	12,6±1,8	53,3±1,8 p<0,05	2,8±0,1 p<0,05

Примітка. p – ступінь вірогідності різниць показників у досліджуваних тварин; n – число спотережень.

Загальна та відносна клітинність тимуса, селезінки і лімфовузлів вірогідно не змінювалася (табл. 2).

Таблиця 2

Показники загальної клітинності та клітинності на 1 мг маси імункомпетентних органів ($x \pm Sx$)

Група	Тимус		Селезінка		Лімфовузли	
	абс.	на 1 мг маси	абс.	на 1 мг маси	абс.	на 1 мг маси
Природний фотоперіод, n=5	100,7±12,0	2,0±0,2	232,7±16,6	0,9±0,03	83,7±10,7	1,1±0,03
Постійна темрява, n=5	69,3±31,1	1,6±0,4	210,3±36,2	0,86±0,03	62,7±8,9	1,2±0,2

Примітка. n – число спотережень.

У групі мишей, що знаходилися за умови постійної темряви, спостерігалось підвищення вмісту Т-лімфоцитів у лімфовузлах (табл. 3). Вміст В-лімфоцитів, лімфобластів і великих лімфоцитів та інших клітинних елементів достовірних змін не зазнавав.

Таблиця 3

Субпопуляційний склад лімфовузлів мишей лінії C₅₇Bl ($x \pm Sx$)

Група тварин	Відносний вміст, %:			
	Т-лімфоцитів	В-лімфоцитів	Лімфобластів та великих лімфоцитів	Інші клітинні елементи
Природний фотоперіод, n=5	67,2±0,61	30,1±0,52	2,2±0,12	0,50±0,13
Постійна темрява, n=5	69,9±0,84 p<0,05	28,1±0,85	1,6±0,27	0,40±0,06

Примітка. P – ступінь вірогідності різниць показників у досліджуваних тварин; n – число спотережень.

Як впливає з таблиці 4, кількість макрофагів у мишей, які знаходилися за умови постійної темряви, відповідала такій у тварин, що утримувалися в умовах природного фотоперіоду. Водночас цитохімічний показник активності макрофагів був вірогідно вищим.

Таблиця 4

Кількість та показники активності макрофагів (в НСТ-тесті) мишей лінії C₅₇Bl ($x \pm Sx$)

Група	Кількість макрофагів, $\times 10^6$	Цитохімічний показник активності
Природний фотоперіод, n=5	5,5±0,6	8,0±0,6
Постійна темрява, n=5	5,2±0,9	14,0±0,2 p<0,05

Примітка. P – ступінь достовірності різниць показників у досліджуваних тварин; n – число спотережень.

Це свідчить про активацію резидуальних макрофагів, які виконують антиген-презентуючу функцію. Одночасне підвищення кількості Т-лімфоцитів у периферичних лімфовузлах (тобто, Т-лімфоцитів, які є активовані та беруть участь в імунній відповіді) вказує на інтенсифікацію процесів кооперації клітин в імунній відповіді. На нашу думку, фактором, що призводить до вищезазначених змін, може бути гормон шишкоподібного тіла – мелатонін, рівень у крові якого за умови постійної темряви, як відомо, зростає в десятки разів [4], а сам мелатонін виявляє онкостатичні та імуномодулюючі властивості [10].

Висновок. Утримання мишей лінії C₅₇Bl із підшкірно перещепленою аденокарциномою молочної залози Ca755 в умовах постійної темряви призводить до підвищення активності резидуальних макрофагів та збільшує кількість Т-лімфоцитів у периферичних лімфатичних вузлах.

Література. 1. Анисимов В.Н. Физиологические функции эпифиза (геронтологический аспект) // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. – 1997. – Т. 83, №8. – С. 1-13. 2. Войткевич В.А. Определение общей окислительно-восстановительной активности нейтрофилов с помощью гистохимического красителя нитросинего тетразолия // Лаб. дело. – 1977. – №3. – С. 147-148. 3. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М: Практика, 1999. – 459 с. 4. Мецциен І.Ф., Пишак В.П., Заморський І.І. Мелатонін: обмін та механізм дії // Бук. мед. вісник. – 2001. – Т. 5, №2. – С. 3-15. 5. Пишак В.П. Клиническая анатомия шишковидного тела (эпифиза). – Черновцы, 1992. – 101 с. 6. Савцова З.Д., Ковбасюк С.А., Юдина О.Ю. и др. Морфофункциональные показатели некоторых иммунокомпетентных органов мышей // Радиобиология. – 1991. – Т. 31, вып. 5. – С. 679-686. 7. Уманский Ю.А., Глузман Д.Ф., Юдин В.М. и др. Цитологическая идентификация Т- и В-лимфоцитов мышей // Докл. АН СССР. – 1975. – Т.221, №5. – С. 1193-1195. 8. Cassone V.M. Melatonin: Time in a bottle // Oxford Rev. Reprod. Biol. – 1990. – Vol. 12. – P. 319-367. 9. Lemaigre-Voreaux P. Melatonine et lumiere // LUX – 1986. – № 139. – P. 183-197. 10. Panzer A., Viljoen M. The validity of melatonin as an oncostatic agent // J.Pineal Res. – 1997. – Vol.22, №4. – P.184-202. 11. Pereira J., Watanabe S., Bruera E. Infections in a palliative care unit // Suppor. Care Canc. – 1997. – Vol. 5, №2. – P. 153. 12. Stama-Scemama A., Noteborn H. P. J. M., de Moree A. et al. The effect of ovine pineal compounds prepared under red or green light on the activity of male rat anterior pituitaries in vitro // J. Neural Transmiss. – 1985. – Vol. 62, № 1-2. – P. 155-167.

INFLUENCE OF CONSTANT DARKNESS ON THE ACTIVITY OF RESIDUAL MACROPHAGES IN MICE WITH MAMMARY ADENOCARCINOMA

I.V.Tashchuk

Resume. The author has investigated the activity of peritoneal macrophages of mice, with the inoculated mammary adenocarcinoma Ca755, which were kept under different light conditions. It has been established, that under conditions of constant darkness, an increase of the activity of residual macrophages is accompanied by an increased level of T-lymphocytes in the lymph nodes, suggesting an intensification of the processes of cooperation of immunocompetent cells.

Key words. adenocarcinoma, darkness, macrophages, lymphocytes, melatonin.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Надійшла до редакції 4.12.2001 року