© Тодоріко Л.Д., Підвербецька О.В., Бесединська О.В.
УДК: 616.34-018.74:576.312.31:616.24-002.5

[1]Тодоріко Л.Д., [1]Підвербецька О.В., [2]Бесединська О.В.
ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет" [1]кафедра фтизіатрії та пульмонології, [2]кафедра патологічної анатомії (пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58000, Україна)

ОСОБЛИВОСТІ ОРГАНІЗАЦІЇ ЯДЕРНОГО ХРОМАТИНУ ЕПІТЕЛІОЦИТІВ ТОНКОГО ТА ТОВСТОГО КИШЕЧНИКА У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ

Резюме. *Для оцінки ступеня організації ядерного хроматину епітеліоцитів тонкого та товстого кишечника нами був використаний показник коефіцієнту варіації оптичної густини забарвлення ядра, який був вірогідно вищий у хворих на мультирезистентний та із розширеною резистентністю туберкульоз та ко-інфекції ВІЛ/туберкульоз у порівнянні з хворими на вперше діагностований чутливий туберкульоз, що свідчить про зниження активності ядра цих клітин щодо залучення ДНК до проліферативних та непроліферативних (синтетичних) процесів та створює субстрат для розвитку дисфункції епітеліоцитів тонкого та товстого кишечника.*
Ключові слова: *туберкульоз легень, організація ядерного хроматину, епітеліоцити тонкого та товстого кишечника.*

Вступ

Вагоме місце у ефективності лікування туберкульозу легень належить функціональному стану кишечника. Зокрема, стан всмоктувальної функції тонкої кишки безпосередньо впливає на біодоступність протитуберкульозних препаратів (ПТП) та створення їх відповідних концентрацій у крові [8]. Не зважаючи на те, що усі пероральні форми антимікобактеріальних препаратів добре всмоктуються у кишечнику, окремі дослідження продемонстрували, що у частини хворих на туберкульоз спостерігається зниження концентрації ПТП у крові, що свідчить про порушення процесів їх всмоктування у кишечнику. Підґрунтям для цього можуть служити численні фактори (тривала інтоксикація, нераціональне харчування, зловживання алкоголем тощо), які порушують нормальне функціонування епітеліоцитів кишечника та перешкоджають процесам їх регенерації. Про стан даних процесів можна судити по ступеню організації ядерного хроматину епітеліоцитів, який відображає функціональний стан ядра, а отже і всієї клітини та свідчить про її здатність виконувати спеціалізовану функцію та про швидкість процесів регенерації. Тому нашою метою стало дослідження організації ядерного хроматину епітеліоцитів тонкого та товстого кишечника у хворих на туберкульоз легень.

Матеріали та методи

Проведено проспективне патоморфологічне дослідження 68 випадків смерті хворих, що померли від різних причин, у яких в заключному клінічному та патологоанатомічному діагнозах в якості основного захворювання фігурував туберкульоз легень.

У залежності від клінічних форм та варіантів туберкульозу основна група була поділена на 3 підгрупи. Так, 1 підгрупу основної групи склали 23 випадків, у яких клінічно був встановлений діагноз вперше діагностованого туберкульозу легень (ВДТБ) зі збереженою чутливістю МБТ до протитуберкульозних препаратів. До другої підгрупи увійшов 21 випадок хворих на мультирезистентний туберкульоз (МРТБ) або на туберкульоз легень із розширеною резистентністю (РРТБ). Третю підгрупу склали 24 секційні випадки хворих на ко-інфекцію ВІЛ/туберкульоз. Групу порівняння склали 20 осіб без патології шлунково-кишкового тракту та морфологічних ознак туберкульозної інфекції.

Забір аутопсійного матеріалу (груп порівняння та основної) проводили на базі ОКМУ "Патологоанатомічне бюро", м.Чернівці за 2013-2014рр. з урахуванням "Закону України про поховання та похоронну справу зі змінами, внесеними згідно Закону №2246-IV від 16.02.2004, ВВР, 2005, №4, ст. 105".

Вивчали первинну медичну облікову документацію: медичні карти стаціонарного хворого (ф. № 003/о) та протоколи патологоанатомічних досліджень (ф. № 103/о).

Обов'язковим критерієм вибору матеріалу був час від моменту настання смерті до проведення аутопсії (не більше 5-6 годин). Матеріал (тканини товстого та тонкого кишечника) фіксували 48 годин у 10% розчині нейтрального забуференого формаліну, зневоднювали у висхідній батареї спиртів та проводили парафінову заливку при температурі 54оС. На санному мікротомі МС-2 робили серійні гістологічні зрізи товщиною 5 мкм. Для візуалізації та кількісної оцінки ядерного хроматину був використаний спосіб забарвлення залізним гематоксиліном за Гейденгайном [1, 3, 5, 6].

При виконанні гістологічних досліджень використовували мікроскоп біологічний Delta Optical Evolution 300 Trino Plan LED; збільшення х40, х100, х400, х600, х1000 (окуляр х10; об'єктив х4, х10, х40, х60, х100). Запис цифрових копій оптичного зображення проводили у форматі RAW (прямі показники матриці фотокамери). Отриману цифрову копію оптичного зображення ми аналізували у середовищі комп'ютерної програми ImageJ (1.48v, вільна ліцензія, W.Rasband, National Institute of Health, USA, 2015) [2, 7]. Обраховування коефіцієнта варіації оптичної густини забарвлення ядра (вираженого у відсотках) здійснювали шляхом ділення величини середньоквадратичного відхилення оптичної щільності забарвлення на середню арифметичну оптичної щільності забарвлення із множенням на 100.

Таблиця 1. Коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину епітеліоцитів тонкого та товстого кишечника хворих на туберкульоз легень та у групі порівняння (X±Sx), %.

Локалізація епітеліоцитів	Групи дослідження			
	Група порівняння (n=20)	Основна група		
		Підгрупа I (n=23)	Підгрупа II (n=21)	Підгрупа III (n=24)
Епітеліоцити тонкого кишечника	6,7±0,34	25,1±2,23*	35,3±4,18**	42,7±6,47#
Епітеліоцити товстого кишечника	12,3±0,82	27,5±3,41*	37,9±5,53**	44,2±6,51#

Примітки: * - достовірно у порівнянні з групою порівняння при p<0,05; ** - достовірно у порівнянні з підгрупою I при p<0,05; # - достовірно у порівнянні з підгрупою II при p<0,05.

Результати. Обговорення

Згідно даних літератури [4] функціональний стан ядра знаходить відображення в характері та розподілі хроматина. Так, у зовнішніх відділах диплоїдних ядер нормальних тканин знаходять конденсований (компактний) хроматин - гетерохроматин, а в решті її відділів - неконденсований хроматин - еухроматин. Гетерохроматин та еухроматин відображують різні функціональні стани ядра; перший з них вважають неактивним, другий - досить активним та таким, що відображує участь ядра у різних метаболічних непроліферативних та проліферативних процесах. Оскільки ядро може переходити з стану відносного функціонального покою в стан функціональної активності і навпаки, морфологічна картина розподілу хроматину, представлена гетеро- та еухроматином, не може бути статичною. Можлива гетерохроматинізація та еухроматинізація ядер. Для оцінки ступеня організації ядерного хроматину епітеліоцитів тонкого та товстого кишечника ми використовували показник коефіцієнту варіації оптичної густини забарвлення ядра (табл. 1).

При аналізі цифрових даних виявлено, що в основній групі дослідження коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину достовірно вищий (p<0,05). У другій (МРТБ або РРТБ) та третій (ко-інфекції ВІЛ/туберкульоз) підгрупах показники коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину епітеліоцитів тонкого кишечника був вищий у 1,41 та 1,71 разів у порівнянні з підгрупою I (ВДТБ) та, відповідно, у 1,38 та 1,61 разів у епітеліоцитах товстого кишечника, що вказує на порушення балансу між еу- та гетерохроматином за рахунок збільшення вмісту останнього, що свідчить про зниження активності ядра цих клітин щодо залучення ДНК до проліферативних та непроліферативних (синтетичних) процесів та є субстратом для розвитку дисфункції епітеліоцитів.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину епітеліоцитів тонкого та товстого кишечника у хворих на мультирезистентний та із розширеною резистентністю туберкульоз, ко-інфекцію ВІЛ/туберкульоз вірогідно вищий у порівнянні з хворими на вперше діагностований туберкульоз легень зі збереженою чутливістю мікобактерій туберкульозу, що свідчить про зниження активності ядра цих клітин щодо залучення ДНК до проліферативних та непроліферативних (синтетичних) процесів та створює субстрат для розвитку дисфункції епітеліоцитів тонкого та товстого кишечника.

Враховуючи отримані результати, у перспективі планується вивчення впливу стану функціональної активності кишечника на клінічний перебіг туберкульозу легень та ефективність лікування даного захворювання з метою подальшого проведення корекції етіотропної та патогенетичної терапії.

Список літератури

1. Багрій М.М. Методики морфологічних досліджень /М.М.Багрій, В.А.Діброва.- Вінниця: Нова книга, 2016.- 328с.
2. Конюхов А.Л. Руководство к использованию програмного комплекса ImageJ для обработки изображений: учебн. пособие /А.Л.Конюхов.- Томск: кафедра телевидения и уп-

равления, Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники, 2012.- С.96-103.
3. Морфологическая диагностика. Подготовка материала для гистологического исследования и электронной микроскопии: рук-во /[под. ред. Д.Э.Коржевского].- Спб.: СпецЛит, 2013.- 127с.
4. Общая патология человек: рук-во для врачей: в 2 т. /[под. ред. А.И.Струкова, В.В.Серова, Д.С.Саркисова].- [2-е изд.].- М.: Медицина, 1990.- Т.1.- С.44-45.
5. Основы обеспечения качества в гистологической лабораторной технике / [под. ред. П.Г.Милькова, Г.А.Франка].- М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014.- 176с.
6. Bancroft's theory and practice of histological techniques /S.K.Suvarna, C.Layton, J.D.Bancroft [et al.].- 7-th edit.- UK : Churchil Livsingstone Elsevier, 2013.- 604p.
7. Ferreira T. Image /T.Ferreira, W.Rasband //J. User Guide.- New York: National Institute of Health.- 2012.- 187p.
8. Therapeutic Drug Monitoring for Slow Response to Tuberculosis Treatment in a State Control Program, Virginia, USA /K.Scott, J.Heysell, L.Moore [et al.] // Emerging Infectious Diseases.- 2010.- Vol.16, №10.- P.1546-1553.

Тодорико Л.Д., Подвербецкая Е.В., Бесединская Е.В.

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ЯДЕРНОГО ХРОМАТИНА ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ТОНКОГО И ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

Резюме. *Для оценки степени организации ядерного хроматина эпителиоцитов тонкого и толстого кишечника нами был использован показатель коэффициента вариации оптической плотности окраски ядра, который был достоверно выше у больных мультирезистентным и с расширенной резистентностью туберкулезом и ко-инфекции ВИЧ/туберкулез по сравнению с больными с впервые диагностированным чувствительным туберкулезом, что свидетельствует о снижении активности ядра этих клеток по отношению к привлечению ДНК в пролиферативные и непролиферативные (синтетические) процессы и создает субстрат для развития дисфункции эпителиоцитов тонкого и толстого кишечника.*

Ключевые слова: *туберкулез легких, организация ядерного хроматина, эпителиоциты тонкого и толстого кишечника.*

Todoriko L.D., Pidverbetska O.V., Besedinska O.V.

FEATURES OF THE ORGANIZATION OF THE NUCLEAR CHROMATIN OF THE SMALL AND LARGE INTESTINE EPITHELIAL CELLS IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS

Summary. *To assess the degree of organization of nuclear chromatin of epithelial cells of the small and large intestine we measured the coefficient of the core optical color density variations, which was significantly higher in patients with multi drug resistant and extensively drug resistant tuberculosis and co-infection HIV/tuberculosis compared with patients with newly diagnosed tuberculosis with preserved sensitivity, indicating the decreased activity of the nucleus of these cells towards DNA attract to proliferative and nonproliferative (synthetic) processes and creates a substrate for epithelial dysfunction of the small and large intestines.*

Key words: *pulmonary tuberculosis, the organization of nuclear chromatin, epithelial cells of small and large intestine.*

Рецензент: д.мед.н., професор Сільченко В.П.

Стаття надійшла до редакції 19.10.2015 р.

Тодоріко Лілія Дмитрівна - д.мед.н., професор, завідувач кафедри фтизіатрії та пульмонології ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет"; +38 050 660-79-59; pulmonology@bsmu.edu.ua
Підвербецька Олена Валеріївна - асистент кафедри фтизіатрії та пульмонології ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет"; +38 050 216-95-26; pulmonology@bsmu.edu.ua
Бесединська Олена Володимирівна - к.мед.н., асистент кафедри патологічної анатомії ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет"; +38 050 676-94-21; besedinska@ukr.net