

- №1.- С. 29-30.  
Моделювання процесу специфічного антитілогенезу за умов імунізації шурів АДП-анатоксином / А.Ю. Волянський, Л.Л. Симиренко, І.Ю. Кучма, Ю.В. Никитченко та ін. // Інфекційні хвороби.- 2006.- №4.- С. 62-66.
- Bittencourt C.S., Azzolini A.E., Ferreira D.A., Assis-Pandochi A.I. Antibody responses in hyperthyroid rats / *Int Immunopharmacol.*- 2007.- Jul. 7 (7).- P. 989-993.
- Chatterjee S., Chandel A.S. Immunomodulatory role of thyroid hormones: in vivo effect of thyroid hormones on the blastogenic response to lymphoid tissue // *Acta Endocrinol.*- 1983.- Vol. 103.- P. 95-100.
- Dorshkind K., Horseman N.D. Anterior pituitary hormones, stress, and immune system homeostasis // *Bioassays.*- 2001.- Vol. 23.- P. 288-294.
- Dorshkind K., Horseman N.D. The roles of prolactin, growth hormone, insulin-like growth factor-I, and thyroid hormones in lymphocyte development and function: insights from genetic models of hormone and hormone receptor deficiency // *Endocrine Rev.*- 2000.- Vol. 21.- P. 292-312.
- Duarte C.G., Azzolini A.E., Assis-Pandochi A.I. Effect of the period of treatment with a single dose of propylthiouracil on the antibody response in rats / *Int Immunopharmacol.*- 2003.- Vol. 3 (10-11).- P. 1419-1427.
- Effects of thyroid state on the expression of hepatic thyroid hormone transporters in rats / R.P. Peeters, C.H. Edith, R. Docter, G. Hennemann et al. // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*- 2002.- Vol. 283.- P. 1232-1238.
- Experimental evidence pointing to the bidirectional interaction between the immune system and the thyroid axis / A.J. Klecha, A.M. Genaro, K.A.M. Lysione et al. // *Int. J. Immunopharmacol.*- 2000.- Vol. 22.- P. 491-500.
- Fabris N., Provinciali M. Pituitary-thyroid axis and immune system: a reciprocal neuroendocrine-immune interaction / *Hormone Res.*- 1995.- Vol. 43.- P. 29-38.
- Humoral and cell-mediated immunity in mice with genetic deficiencies of prolactin, growth hormone, insulin-like growth factor-I, and thyroid hormone / M.P. Foster, E.R. Jensen, E. Montecino-Rodriguez et al. // *Clin. Immunol.*- 2000.- Vol. 96.- P. 140-149.
- Integrative study of hypothalamus-pituitary-thyroid-immune system interaction: thyroid hormone-mediated modulation of lymphocyte activity through the protein kinase C signaling pathway / A.J. Klecha, A.M. Genaro, G. Gorelik et al. // *J. Endocrinol.*- 2006.- Vol. 189.- P. 45-55.
- Klein J.R. Physiological relevance of thyroid stimulating hormone and thyroid stimulating hormone receptor in tissues other than the thyroid // *Autoimmunity.*- 2003.- Vol. 36.- P. 417-421.
- Malik R., Hodgson H. The relationship between the thyroid gland and the liver // *Quart. J. Med.*- 2002.- Vol. 95.- №9.- P. 559-569.
- Potential of humoral immune response and activation of NF-kappaB pathway in lymphocytes in experimentally induced hyperthyroid rats / R. Vinayagamoorthi, B.C. Koner, S. Kavitha, et al. // *Cell Immunol.*- 2005.- Vol. 238 (1).- P. 56-60.
- Wang H.C., Klein J.P. Immune function of thyroid stimulating hormone and receptor // *Crit. Rev. Immunol.*- 2001.- Vol. 21.- P. 323-337.
- Yen P.M. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action // *Physiol. Rev.*- 2001.- Vol. 81.- P. 1097-1141.

---

**ИММУНОГОРМОНАЛЬНЫЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ПРИ УСЛОВИЯХ ИМУНИЗАЦИИ КРЫС НА ФОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИПЕРТИРЕОЗА**

**Волянський А.Ю., Симиренко Л.Л., Кучма І.Ю., Іщенко Т.І., Цейтлін Н.А.**

**Резюме.** Исследовано иммуногормональные взаимосвязи при прививке 3-месячных самцов крыс линии Вистар на фоне экспериментального гипертиреоза, которые моделировали введением экзогенного L-Тироксина на протяжении эксперимента. Гипертиреоидное состояние крыс влияет на развитие гуморального иммунного ответа при условиях прививки АДП-анатоксином. Разработана математическая прогностическая модель иммуногормональных взаимосвязей в динамике иммунного ответа на АДП-анатоксин на фоне экспериментального гипертиреоза и определены функциональные биохимические маркеры уровня специфического антителогенеза при этих условиях.

**Ключевые слова:** экспериментальный гипертиреоз, тиреоидные гормоны, кортикостерон, антителогенез, АДП-анатоксин, крысы.

---

**THE IMMUNO-ENDOCRINE INTERACTION AT RATS' IMMUNIZATION ON THE BACKGROUND OF EXPERIMENTAL HYPERTHYROIDISM**

**Volyanskiy A.Yu., Simirenko L.L., Kuchma I.Yu., Ischenko T.I., Tzeitlin N.A.**

**Summary.** The immuno-endocrine interaction at vaccination of 3-month's Wistar males rats on the background of experimental hyperthyroidism that was developed by L-thyroxin treatment throughout the experiment was investigated. The hyperthyroid state influences on the humoral immune response development at ADT-anatoxin vaccination of rats. The mathematical prognostic model of the immuno-endocrine interrelations in dynamics of immune response on ADT-anatoxin on the background of experimental hyperthyroidism was developed and the functional biochemical markers of specific antibody genesis levels under these conditions were defined.

**Key words:** experimental hyperthyroidism, thyroid hormones, corticosteron, antibody genesis, ADT-anatoxin, rats.

---

**УДК:** 616.346.2-002-071:615.844.4

**АПОПТОЗ ТА НЕКРОЗ КЛІТИН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ КУКСИ АПЕНДИКСА КРОЛИКА ПІСЛЯ АПЕНДЕКТОМІЇ МЕТОДОМ ЕЛЕКТРОЗВАРЮВАННЯ В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

**Мельник І.П., Шапринський В.О., Черешнюк І.Л.**

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, кафедра госпітальної хірургії (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, Україна). Військово-медичний клінічний центр Центрального регіону ЗС України (вул. Свердлова 185, м. Вінниця, 21014, Україна)

**Резюме.** В експериментальній роботі досліджено апоптоз та некроз клітин слизової оболонки апендиксу в нормі та після апендектомії методом електрозварювання біологічних тканин на 3, 7 та 14 післяопераційну добу у кролів. На фоні апендектомії виявлено незначне збільшення рівнів апоптозу та некрозу. Відмічається збереження регенераторної здатності основної маси клітин в післяопераційному періоді.

**Ключові слова:** електрозварювання м'яких біологічних тканин, апоптоз, некроз, апендектомія, протокова цитометрія.

## Вступ

Причиною малої поширеності лапароскопічної апендектомії є недоліки існуючих незанурюючих способів обробки кукси апендикса, які обумовлюють виникнення внутрішньоочеревних інфекційних ускладнень, а саме: інфільтратів та абсцесів черевної порожнини - до 6%, післяопераційного тифліту - до 3-5% [Запорожан та ін., 2000; Дербенев, Іудин, 2005]. Абсцеси та інфільтрати проявляються, як правило, кишковою непрохідністю, яка в поєднанні з основним захворюванням і є найчастішою причиною летальності при гострому апендициті [Frantzides, 1997; Федоров и др., 2001; Пронин, Бойко, 2007; Куригин и др., 2005; Дербенев, Іудин, 2005].

Вищевикладена проблема і стала поштовхом до експериментального дослідження - вивчення апоптозу та некрозу клітин слизової оболонки кукси апендикса в нормі та після апендектомії методом електрозварювання біологічних тканин.

Метою даного дослідження було вивчення стан апоптозу та некрозу інтактних клітин слизової оболонки апендикса, а також стан апоптозу та некрозу клітин слизової оболонки апендикса на 3, 7 та 14 післяопераційну добу після апендектомії методом електрозварювання біологічних тканин з визначенням відсотка життєздатних клітин, за рахунок яких і відбувається закриття проєкції апендикса.

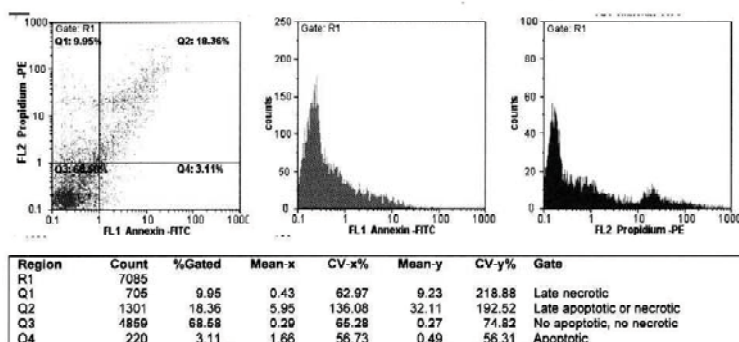
## Матеріали та методи

Експерименти було виконані на 12 статевозрілих кроликах обох статей масою близько 3 кг. Тваринам виконувалась апендектомія методом електрозварювання м'яких біологічних тканин. Операції виконувались під тіопенталовим наркозом внутрішньоплеврально 40 мг/кг маси тіла.

Всі тварини були розподілені на 4 групи. До I групи (3 кролика) увійшли тварини, у яких бралась інтактна слизова апендикса, до II групи (3 кролика) - тварини, у яких бралась слизова апендикса після апендектомії методом електрозварювання на 3 післяопераційну добу, до III групи (3 кролика) - тварини, у яких бралась слизова апендикса після апендектомії методом електрозварювання на 7 післяопераційну добу, до IV групи (3 кролика) - тварини, у яких бралась слизова апендикса

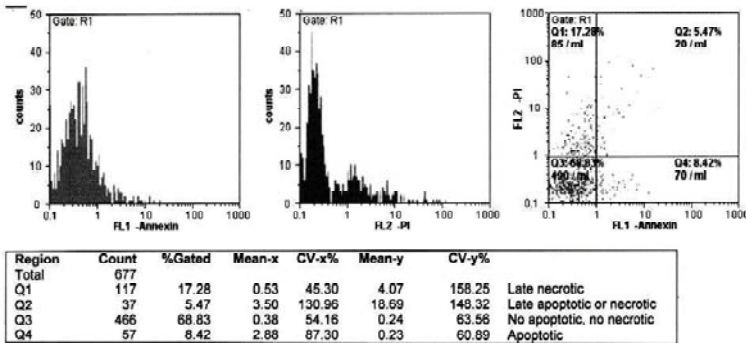
після апендектомії методом електрозварювання на 14 післяопераційну добу.

Суспензія клітин готувалась з шматочків слизової кукси апендикса кроликів об'ємом 1-2 мм куб. в фосфатно-сольовому буфері (ФСБ) з рН=7,4, після чого їх подрібнювали в пристрої для гомогенізації-деагрегації Medimachine (DakoCytomation) з 1,5 мл ФСБ. Отриману суспензію клітин фільтрували через фільтр Filcons 50 мкм і відмивали в 1,5 мл ФСБ шляхом центрифугування (300g 7 хв). Після видалення супернатанта і додавання до осаду ФСБ проводили інкубацію отриманої суспензії клітин Annexin V-FITC (1 мкл) та Propidium Iodide (2,5 мкл) відповідно до протоколу-інструкції використання "APOPTEST - FITC" (DAKO, Нідерланди). Цитофлуориметрію проводили на лазерному проточному цитофлуориметрі (аргон 488 нм) "PAS" (Partec, Німеччина) з наступним аналізом за допомогою програмного забезпечення для аналізу великих масивів даних FloMax. Враховували дані отримані по прямому (FSC) та боковому (SSC) світлорозсіюванню, а також по флуорисценції клітин на першому (FL1) та другому (FL2) фотопримножувачах. Компенсація накладання флуорисценції здійснювалась засобами програмного забезпечення. Після отримання гістограм для відокремлення від фонових шумів, уламків клітин та інших мікрочастинок формували зону інтересу - гейт R1, який і підлягав безпосередньому аналізу. На гістограмах FL1/FL2 отримували чотири варіанта експресії маркерів: Q1 (експресія Propidium Iodide) - клітини в стані некрозу, Q2 (експресія Propidium Iodide та Annexin V-FITC - подвійне

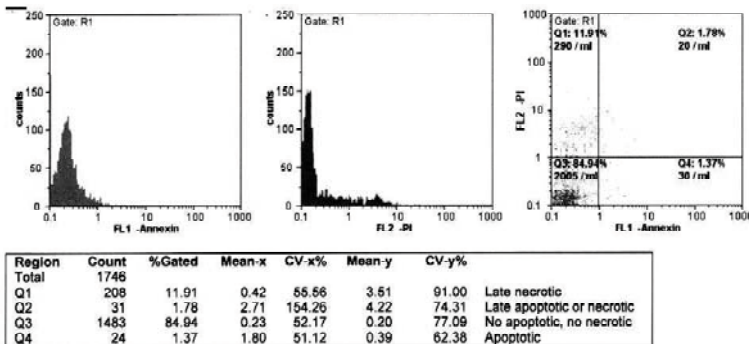


**Рис. 1.** Графічне відображення апоптозу та некрозу клітин інтактної слизової апендикса кролика.

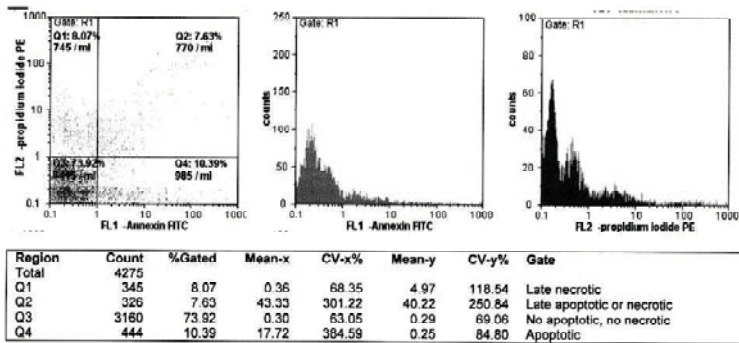
Середнє значення показника Q1 в I групі складає  $6,00 \pm 0,67\%$ , Q2 -  $9,04 \pm 0,64\%$ , Q3 -  $80,51 \pm 1,16\%$ , Q4 -  $4,46 \pm 0,14\%$ .



**Рис. 2.** Графічне відображення апоптозу та некрозу клітин слизової куки апендикса кролика на 3 добу після апендектомії методом електрозварювання біологічних тканин. Середнє значення показника Q1 в II групі складає  $24,41 \pm 0,64\%$ , Q2 -  $4,35 \pm 0,18\%$ , Q3 -  $64,1 \pm 0,49\%$ , Q4 -  $7,13 \pm 0,23\%$ .



**Рис. 3.** Графічне відображення апоптозу та некрозу клітин слизової куки апендикса кролика на 7 добу після апендектомії методом електрозварювання біологічних тканин. Середнє значення показника Q1 в III групі складає  $19,74 \pm 0,42\%$ , Q2 -  $4,56 \pm 0,13\%$ , Q3 -  $71,83 \pm 0,26\%$ , Q4 -  $3,86 \pm 0,20\%$ .



**Рис. 4.** Графічне відображення апоптозу та некрозу клітин слизової куки апендикса кролика на 14 добу після апендектомії методом електрозварювання біологічних тканин. Середнє значення показника Q1 в IV групі складає  $14,33 \pm 0,48\%$ , Q2 -  $9,91 \pm 0,53\%$ , Q3 -  $68,11 \pm 0,30\%$ , Q4 -  $7,63 \pm 0,56\%$ .

фарбування) - клітини в стані некрозу-пізнього апоптозу, Q3 (без експресії) - клітини, які ще не стали на шлях апоптозу, Q4 (експресія Annexin V-FITC) - клітини в стані апоптозу.

Результати дослідження підлягали обробці стандар-

тними методами варіаційної статистики.

### Результати. Обговорення

В результаті проведеного дослідження виявлено, що навіть в здорових тканинах слизової оболонки апендиксу у кролів, рівень некротизованих клітин, клітин, які перебувають в стадії пізнього апоптозу або некрозу (подвійне фарбування) та клітин в стадії апоптозу складають відповідно  $6,00 \pm 0,67\%$ ,  $9,04 \pm 0,64\%$  і  $4,46 - 0,14\%$  (рис. 1):

На нашу думку, наявність некротизованих клітин в отриманих суспензіях обумовлені особливостями методики дезагрегації та підготовки суспензії до протокового аналізу під час якої відбувається незначне пошкодження клітин.  $84,97 \pm 0,24\%$  клітин залишаються непошкодженими, тобто не піддавались фарбуванню ні пропідією йодидом ні анексіном. Наявність невеликої кількості клітин в стані апоптозу свідчить про нормальні регенераторні процеси - як складову нормального клітинного циклу.

В отриманому матеріалі клітин куки апендикса на 3 післяопераційну добу тварин II групи рівень некрозу та пізнього апоптозу складає відповідно  $24,41 \pm 0,64\%$  та  $4,35 \pm 0,18\%$ . Відсоток клітин, які ще не стали на шлях апоптозу та клітин, які вже знаходяться в стані апоптозу складає відповідно  $64,1 \pm 0,49\%$  та  $7,13 \pm 0,23\%$ . Тобто, на 3 післяопераційну добу після апендектомії методом електрозварювання біологічних тканин в цілому згідно даних отриманих методом протокової цитометрії близько  $28,76 \pm 0,35\%$  клітин є нежиттєздатними та  $71,23 \pm 0,31\%$  - життєздатних клітин.

На представленій нижче гістограмі II групи відображається стан апоптозу та некрозу клітин слизової оболонки апендикса кролика на 3 післяопераційну добу (рис. 2).

На представленою нижче рисунку 3 відображається стан апоптозу та некрозу клітин слизової оболонки апендикса кролика на 7 післяопераційну добу:

Рівень некрозу та пізнього апоптозу клітин куки апендикса на 7 післяопераційну добу складає відповідно  $19,74 \pm 0,42\%$  та  $4,56 \pm 0,13\%$ . Клітини, які ще не стали на шлях апоптозу та клітин, які вже знаходяться в стані апоптозу склали відповідно  $71,83 \pm 0,26\%$  та  $3,86 \pm 0,20\%$ . На 7 післяопераційну добу після апендектомії методом електрозварювання біологічних тканин в цілому близько  $24,3 \pm 0,24\%$  клітин є нежиттєздатними та  $75,69 \pm 0,22\%$  - життєздатними.

За даними методу проточної цитометрії рівень некрозу та пізнього апоптозу клітин куки апендикса на 14

післяопераційну добу складає відповідно  $14,33 \pm 0,48\%$  та  $9,91 \pm 0,53\%$ . Відсоток клітин з без маркерів апоптозу і некрозу та клітин, які вже знаходяться в стані апоптозу складає відповідно  $68,11 \pm 0,30\%$  та  $7,63 \pm 0,56\%$ . На 14 післяопераційну добу після апендектомії методом електрозварювання біологічних тканин в цілому близько  $24,24 \pm 0,47\%$  клітин є нежиттєздатними та  $75,74 \pm 0,27\%$  - життєздатних клітин.

На представленій нижче гістограмі IV групи відображається стан апоптозу та некрозу клітин слизової оболонки апендикса кролика на 14 післяопераційну добу - рис. 4.

### **Висновки та перспективи подальших розробок**

1. Виконавши аналіз стану апоптозу та некрозу клітин слизової оболонки інтактного апендиксу за допомогою методу проточної цитометрії, можна стверджувати, що середня кількість життєздатних клітин складає  $84,97 \pm 0,24\%$ , а кількість нежиттєздатних клітин -  $15,01 \pm 0,62\%$ .

2. Проаналізувавши стан апоптозу та некрозу клітин слизової оболонки кукси апендикса кролика за допомогою методу протокової цитометрії на 3, 7 та 14 післяопераційну добу, можна стверджувати, що після обробки

основи апендикса методом електрозварювання біологічних тканин на 3 післяопераційну добу в зоні зварювального шва середня кількість життєздатних клітин складає  $71,23 \pm 0,31\%$ , на 7 післяопераційну добу -  $75,69 \pm 0,22\%$ , на 14 післяопераційну добу -  $75,74 \pm 0,27\%$ .

3. Якщо значення  $84,97\%$  - показник життєздатних клітин здорової слизової оболонки апендиксу кролика за даними методу протокової цитометрії прийняти за норму (100%), то відповідно мінімальний показник кількості життєздатних клітин на 3 післяопераційну добу -  $71,23\%$  ( $83,82\%$  від норми), на 7 добу -  $75,69\%$  ( $89,07\%$  від норми) та на 14 добу -  $75,74\%$  ( $89,13\%$  від норми).

4. Співвідношення життєздатних та нежиттєздатних клітин слизової оболонки апендикса кролика після апендектомії методом електрозварювання (на 3 добу -  $71,23\%$  та  $28,76\%$ , на 7 добу -  $75,69\%$  та  $24,3\%$ , на 14 добу -  $75,74\%$  та  $24,24\%$ , при показниках отриманої норми  $84,97\%$  та  $15,01\%$  відповідно) забезпечує процеси регенерації кукси апендикса та закриття просвіту органу.

Дослідження апоптозу та некрозу клітин слизової оболонки зон анастомозу порожнистих органів черевної порожнини дозволить визначити причини їх неспроможності та стане вагомим фактором при виборі способу операції.

---

### **Література**

- Пронин В.О., Бойко В.В. Патология червеобразного отростка и аппендектомия.- Харьков, 2007.- С. 188-198.  
Куригин А.О., Багненко С.Ф., Куригин О.А. Заболевания червеобразного отростка слепой кишки.- Санкт-Петербург, 2005.- С. 156.  
Дербенев В.В., Іудин А.А. Осложнения лапароскопических аппендектомий у детей // Эндоскопическая хирургия.- 2005.- №1.- С. 40-41.  
Видеоэндоскопические операции в хирургии и гинекологии / В.Н. Запорожан, В.В. Грубник, В.Ф. Саенко, М.Е. Ни-  
читайло.- Киев, 2000.- С. 176-180.  
Федоров И.В., Сигал Е.И., Одинцов В.В. Эндоскопическая хирургия.- Москва, 2001.- С. 209-218.  
Frantzides C.T. Laparoscopic and Thoracoscopic surgery.- Mosby - Year Book, Inc., 1997.- P. 79-90.

---

### **АПОПТОЗ И НЕКРОЗ КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КУЛЬТИ АППЕНДИКСА КРОЛИКА ПОСЛЕ АППЕНДЕКТОМИИ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОСВАРКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

**Мельник И.П., Шапринский В.А., Черешнюк И.Л.**

**Резюме.** В экспериментальной работе исследовано апоптоз и некроз клеток слизистой оболочки аппендикса в норме и после аппендектомии методом электросварки биологических тканей на 3, 7 и 14 сутки после операции у кроликов. На фоне аппендектомии выявлено незначительное увеличение уровней апоптоза и некроза. Отмечается сохранение регенераторной способности основной массы клеток в послеоперационном периоде.

**Ключевые слова:** электросварка биологических тканей, апоптоз, некроз, аппендектомия, проточная цитометрия.

---

### **APOPTOSIS AND NECROSIS OF CELLULES OF THE MUCOUS MEMBRANE OF APPENDIX AFTER APPENDECTOMY BY THE WELDING METHOD IN EXPERIMENT**

**Melnyk I.P., Shaprynsky V.A., Cheresnyuk I.L.**

**Summary.** It has been research apoptosis and necrosis cellules of the mucous membrane of appendix on the 3, 7 and 14 postoperative days after the welding method of appendectomy. We have used the welding method for biological tissues in the appendix treatment during the appendectomy at 12 sick rabbits.

**Key words:** electric welding of the soft tissues, apoptosis, necrosis.

---