

Changes of the Volemic and Other Indices of the Blood at Physiological Course of Pregnancy

The study of the influence of pregnancy on the dynamics of volemic and other indices has revealed the increase of the circulating blood volume (CBV) during pregnancy, which is due to the increase of the plasma volume.

The increase of CBV during pregnancy is supposed to be conditioned by hormonal factors and increase of the vascular volume, which is very important for compensation of the possible blood loss during the labor.

ЛИТЕРАТУРА

1. Колпакова Л. Л. В кн.: Сб. докл. 3-й науч. конф. физиологов, биохимиков и фармакологов Западн. Сибири. Томск, 1965, с. 59.
2. Персианинов Л. С., Крымская М. Л., Демидов В. Н. и др. *Сов. мед.*, 1975, 10, с. 21.
3. Фильдэян С. П. Автореф. дис. канд. М., 1975.
4. Caglianelli M. A. *J. Geront.*, 1972, 20, 20, 721.
5. Gould W. L. *Angiology*, 1962, 13, 6, 129.
6. Haley H. B., Woodbury J. W. *Surg. Gynec. Obst.*, 1955, 203, 8, 227.
7. Seitchik J., Apler C. *Am. J. Obst. Gynec.*, 1956, 76, 6, 1165.

УДК 616.517—091.8

Н. Д. Варгазарян, Ж. Н. Саад

ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ, цАМФ, ПРОСТАГЛАНДИНСИНТЕТАЗЫ И АРАХИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПОРАЖЕННОЙ КОЖЕ ПРИ ПСОРИАЗЕ

Основным морфологическим проявлением псориаза является поражение кожи в виде гипер- и паракератоза эпидермиса с гиперплазией супрабазальных клеток [9]. Высокая их пролиферативная активность сопровождается дистрофией и нарушением кератинизации, обусловленными структурными, метаболическими и иммунными нарушениями в соединительной ткани дермы и дермаэпидермальной зоны [1].

В поражении эпидермиса важное значение придается нарушению обмена эйкозаноидов, циклических нуклеотидов и ферментных систем, обеспечивающих их метаболизм. Установлено значительное повышение в пораженной псориазом коже арахидоновой кислоты (АК) [3, 14], синтезируемой ферментом фосфолипазой A_2 (ФЛ), как прекурсора воспалительных и митогенных медиаторов [10]. К ним относятся 12-гидроксиэйкозатетраеновая кислота и лейкотреин B_4 , являющиеся продуктами липоксигеназного (ЛОГ) каскада арахидоновой кислоты [4, 5, 13, 15], и в малой степени—простагландины E_2 и F_2 , продукты циклооксигеназного каскада этой же кислоты. При этом известно, что псориазная кожа содержит эндогенный инги-

битор простагландинсинтетазы (ПГС), что создает условия, способствующие превалированию активности ЛОГ каскада 17К [14]. В сложной цепи нарушенного обмена важную роль играют сдвиги в каскаде аденилатциклаза (АЦ)—цАМФ как вторичного мессенджера в регуляции клеточных функций. Снижение содержания цАМФ как ингибитора митотического деления с параллельным нарушением пролиферации клеток, определяющим эпидермальный рост и дифференцировку в условиях нарушений взаимного регулирования обмена цАМФ и АК, ферментов АЦ и ПГС, отражается на процессах гликолиза, сопровождаясь дистрофическими изменениями и сдвигами в содержании в клетках гликогена [6].

Целью работы является изучение гистохимических особенностей содержания и локализации АЦ, цАМФ, ПГС и АК в пораженной коже при псориазе для выяснения их патогенетической роли в развитии заболевания.

У 36 больных в возрасте 10—74 года с типичными псориатическими изменениями изучались биоптаты кожи, взятые до лечения из пораженных участков. Из них 16 находились в прогрессирующей, а 20—в стационарной стадии болезни. Локализованная форма была у 10, диссеминированная—у 26 больных.

Взятый биоптат делился на две части. Одна половина фиксировалась в жидкости Карнуа и заливалась в парафин. Парафиновые срезы окрашивались гематоксилином и эозином, по ван Гизону, толуидиновым синим (рН 4,8). Другая половина замораживалась при -20°C , приготавливались криостатные срезы толщиной 3—5 мкм. Для определения в тканях цАМФ ставили непрямую реакцию иммунофлуоресценции, используя кроличью сыворотку против цАМФ фирмы Sigma (США) [11]. Срезы высушивались при комнатной температуре в течение часа и фиксировались в этаноле 15 минут. После промывания забуференным физиологическим раствором (использовался фосфатный буфер рН 7,6) со срезами ставилась реакция с антисывороткой к цАМФ в течение 30 минут во влажной камере. Предварительно определялось рабочее разведение сыворотки, при использовании которой неспецифическое свечение полностью отсутствовало. После реакции срезы промывались физиологическим раствором и на них наносилась антикроличья сыворотка, меченная изотиоцианфлуоресцеином в рабочем разведении. Срезы промывались в трех порциях забуференного физиологического раствора и заключались в забуференный глицерин в соотношении 1:10. Для контроля специфичности окраски использовали срезы кожи практически здоровых людей, погибших от травм, сыворотки, адсорбированные гомогенатом из кожи практически здорового человека, ставили реакцию с нормальной кроличьей сывороткой. Срезы кожи обрабатывали флуоресцирующей сывороткой против глобулинов кролика без предварительного нанесения иммунной сыворотки методом блокировки антигенов кожи гомологичной нефлуоресцирующей сывороткой. Результаты оценивали по интенсивности люминесценции от слабого (+) до интенсивного (++++) свечения.

АЦ определяли по Howell и Whitfield [7]. Нефиксированные криостатные срезы инкубировали в среде в течение 30 минут при 30°C. На 100 г инкубационной среды, приготовленной на (80 мМ) малеатном трис буфере (рН 7,4), добавляли декстрозу (8 г), теофиллин (0,036 мг), MgSO₄ (0,048 мг), АТФ (0,028 мг). Непосредственно перед употреблением добавляли (0,159 г) PbNO₃. После реакции срезы промывались дистиллированной водой, инкубировались в растворе сульфида аммония и после промывки фиксировались в 10% формалине. Срезы заключались в полистирол.

Контрольные опыты ставились с инкубацией в среде без субстрата и с добавлением $12,5 \times 10^{-3}$ М NaF. Осадок черного сульфида свинца маркировал место локализации фермента.

ПГС определяли методом Janszen и Nugteren [8]. Наличие энзима идентифицировали по коричневой окраске клеточных структур после инкубации срезов при 35°C в течение 10—12 часов в среде, содержащей АК в присутствии 3,3-диаминобензидина. Для подавления неспецифической окраски (геминкатализируемая азотоксидация жирных кислот) добавляли 10^{-3} М KCN, который не ингибирует биосинтез простагландинов. Сущность метода заключается в том, что при ферментативном окисления АК образуется реактивный кислород и промежуточные (свободные) радикалы. О специфичности реакции судили после оценки результатов контрольных опытов с инкубацией срезов в среде без субстрата—АК и ингибированием фермента индометацином. Кроме того, в качестве контроля использовали срезы из тканей почек крыс, мозговая часть которых, как известно, отличается высоким содержанием ПГС.

Учитывая тот факт, что при псориазе в пораженной коже увеличивается содержание АК [3], для выяснения ее наличия и локализации ставились реакции на параллельных срезах с использованием инкубационной среды без добавления субстрата.

Результаты проведенных исследований показали следующее. В эпидермисе выявлялись характерные для псориаза гистологические изменения в виде акантоза, гипер- и паракератоза с участками инфильтрации лимфоцитами и редкими нейтрофильными лейкоцитами. Выделялись развитые шиповатый и роговой слой. В 30 наблюдениях зернистый слой был сохранен, состоял из 2—3 рядов крупных овальных и удлинённых клеток, богатых гранулами кератогиалина. В роговом слое у 7 больных из 16, находившихся в прогрессирующей стадии болезни, обнаруживались микроабсцессы Мунро. В этих участках зернистый слой не выявлялся, определялись структурно-обособленные уплощенные клетки.

ПГС с высокой активностью обнаруживалась в клетках шиповатого и зернистого слоев и в очагах Мунро в виде светло-коричневых цитоплазматических зерен (рис. 1, а, б). Причем в клетках ближе к базальному слою наблюдалась мелкая, пылевидная зернистость, диффузно охватывающая всю цитоплазму. Ближе к поверхности зерна становились более крупными, располагались под цитоплазматической оболочкой, образуя свободную от фермента перинуклеарную зону. В

клетках зернистого слоя ПГС выявлялась или у полюсов ядер, или же под цитоплазматической оболочкой, больше на стороне, обращенной к поверхности кожи. Что касается клеток базального и рогового слоев, то они не отличались заметной ферментативной активностью. ПГС проявляла высокую активность в клетках абсцессов Мунро.

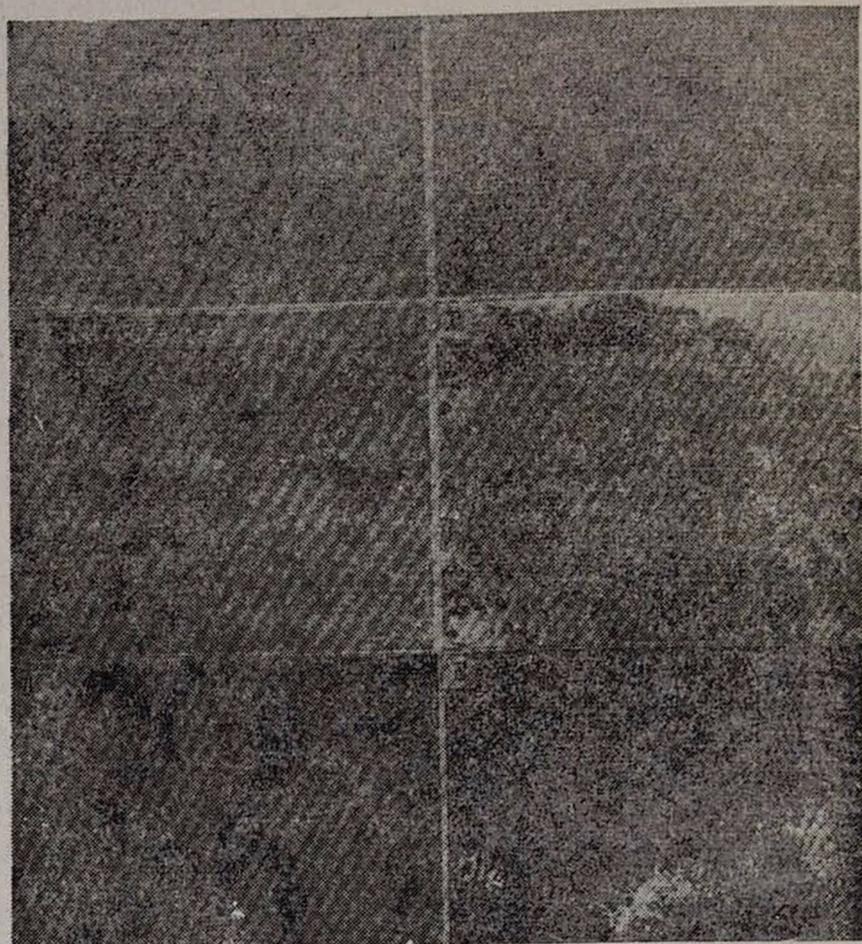


Рис. 1. ПГС, АС и цАМФ в пораженной коже больных псориазом. а—ПГС в клетках шиповатого слоя эпидермиса; X400. б—высокая активность ПГС в очаге Мунро рогового слоя; X100. в—высокая активность ПГС в отдельных клетках эпидермиса; а, б, в—реакция по Janszen и Nugterer [8]. г—высокая активность АЦ в клетках базального и зернистого слоев эпидермиса; X400. д—АЦ в области цитоплазматической оболочки клеток шиповатого слоя; X900; г, д—реакция по Howell и Whitfield [7]. е—интенсивное свечение цАМФ в отдельных группах эпителиоцитов шиповатого и базального слоев эпидермиса; X100; непрямая реакция иммунофлуоресценции с анти-цАМФ сывороткой.

В эпидермисе большинства больных, находившихся в прогрессирующей стадии псориаза, часто определялись крупные овальные или отростчатые клетки с высокой активностью ПГС (рис. 1, в). Они в основном располагались в эпидермальных островках, ближе к дермо-

эпидермальной зоне, четко выделяясь на общем бледно-коричнево окрашенном фоне.

АЦ имела высокую активность в клетках базального и зернистого слоев, выявляясь в виде диффузно мелкозернистого черного осадка (рис. 1, г). В большинстве клеток интенсивно окрашивалась цитоплазматическая оболочка (рис. 1, д). Некоторой активностью отличались глубокие клетки шиповатого слоя. В поверхностно расположенных кератиноцитах активность фермента была низкой или почти не обнаруживалась. Особенно выделялся зернистый слой, где АЦ выявлялась в виде множественных черных сферических и бесформенных зерен, расположенных непосредственно под цитоплазматической оболочкой. В роговом слое фермент не обнаруживался. Заметную активность проявляли также мононуклеарные клетки, диффузно или очагово инфильтрирующие все слои эпидермиса. Эти данные согласуются с результатами биохимических исследований Vooghees [14], констатирующих общую неизмененную активность АЦ в пораженной коже при псориазе. Характерно, что в участках, соответствующих микроабсцессам Мунро, активность фермента была низкой.

Приведенные данные указывают на глубокое нарушение метаболизма и тканевого гомеостаза эпидермиса в очагах паракератоза, играющих важную роль в изменении пролиферативной активности и дифференцировке клеток. Именно развивающимися дистрофическими процессами, на наш взгляд, можно объяснить последующую трансэпидермальную миграцию лейкоцитов, формирующих субкорнеальные микроабсцессы под влиянием появившегося в эпидермисе лейкотоксического фактора [13].

цАМФ в непрямой реакции иммунофлуоресценции обнаруживался во всех клетках эпидермиса. Свечение имело в основном неравномерный характер. На фоне его резкого уменьшения или отсутствия в шиповатом и зернистом слоях нередко выявлялись группы клеток с ярко-зеленой гомогенной или зернистой люминесценцией (рис. 1, е). Такое неравномерное очаговое или диффузное распределение кератиноцитов в эпидермисе с неодинаковым содержанием в клетках цАМФ при незначительном его содержании в эпидермисе выявлялось преимущественно в коже больных, находившихся в прогрессирующей стадии болезни, где признаки гиперплазии эпидермиса и акантоза были ярко выражены. цАМФ обнаруживался также в отдельных очагах экзодермиса, а также в мононуклеарах, диффузно инфильтрирующих все слои эпидермиса. У больных в стационарной стадии болезни в большинстве случаев цАМФ определялся в клетках росткового и частично—шиповатого слоев.

При сопоставлении данных о содержании цАМФ в клетках эпидермиса с активностью АЦ часто наблюдалось их несоответствие: свечение цАМФ было низким (+) или полностью отсутствовало при высокой активности фермента. Данный факт, по-видимому, можно объяснить действием цАМФ-фосфодиэстеразы, активность которой, по данным литературы [2], в два раза выше в пролиферирующем отделе пораженных участков кожи при низком уровне клеточного

цАМФ. Следует также учесть, что высвобождение АК под влиянием ФЛ происходит из фосфолипидов клетки и диглицеридов. А диглицериды являются физиологическими активаторами фермента протеинкиназы С, регулирующего пролиферацию и дифференцировку эпидермиса. Следовательно, можно считать, что усиленный синтез АК и его метаболитов, сопровождающийся дефицитом диглицеридов в эпидермисе в условиях нарушенного обмена АЦ и цАМФ, их взаимного регулирования, является тем основным процессом, который играет важную роль в патомеханизме поражения кожи при псориазе.

В дерме во всех биоптатах кожи обнаруживалось очаговое или диффузное мукоидное набухание межклеточного основного вещества соединительной ткани кожи, участки фибриноидного некроза, охватывающие стенки мелких сосудов. Указанные процессы выявлялись как в сосочках, так и в синцитиальном слое дермы. Острые деструктивные изменения с наличием периваскулярных инфильтратов из макрофагов, лимфоцитов и гистиоцитов наблюдались главным образом в прогрессирующей стадии болезни (рис. 2, а). У больных в стационар-

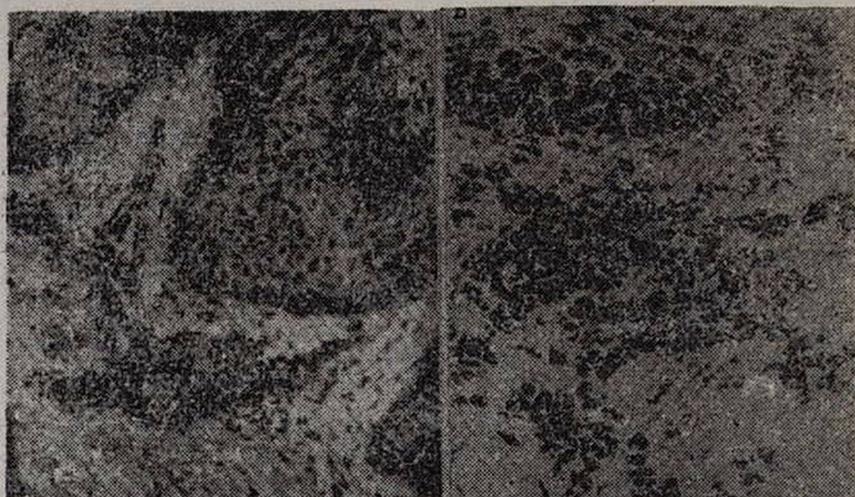


Рис. 2. Изменения дермы пораженной кожи при псориазе. а—периваскулярный лимфогистиоцитарный инфильтрат в дерме; X400; окраска гематоксилином и эозином. б—неравномерная высокая активность АЦ в клетках периваскулярного инфильтрата дермы; X400; реакция по Howell и Whitfield [7].

ной стадии в инфильтратах определялись скопления тучных клеток, часть которых дегранулировала. Отмечалось заметное набухание эндотелиальных клеток капилляров и венул с признаками их пролиферации. При этом в соединительной ткани определялись участки гиалиноза, а также периваскулярные очаги мукоидного набухания. Полиморфизм описанных тканевых сдвигов свидетельствует о длительно текущем патологическом процессе, имеющем рецидивирующий характер.

В клетках соединительной ткани дермы и периваскулярных лимфогистиоцитарных инфильтратов активность ПГС была низкой как в срезах, инкубированных в среде, содержащей АК, так и без нее. Эти данные не позволяют судить о наличии эндогенной АК в клетках дермы. При этом, однако, нельзя исключить, что в пораженной коже активность ПГС, а следовательно, и синтез ПГ в очагах воспаления ингибирован, вследствие чего все процессы направлены в сторону ЛОГ обмена. Об этом косвенно свидетельствует характер клеточного состава периваскулярных инфильтратов, где преобладал пролиферативный компонент воспаления при незначительной экссудации и лейкотаксисе. Слабую активность ПГС при этом проявляли клетки наружного коркового влагиалища волосяных фолликулов. Эти изменения преобладали в основном в пораженной коже больных, находившихся в прогрессирующей стадии псориаза.

В клеточных инфильтратах дермы отмечалось некоторое повышение активности АЦ (рис. 2, б). Фермент обнаруживался в виде мелких цитоплазматических зерен или же гомогенного черного осадка под клеточной оболочкой большинства фибробластов, лимфоцитов и макрофагов. В периваскулярных клеточных инфильтратах АЦ имела неодинаковую активность. При наличии множественных макрофагов, адвентициальных и набухших эндотелиальных клеток с высокой активностью фермента определялись множественные бледноокрашенные клеточные формы, лишенные АЦ. На этом фоне обнаруживались отдельные лимфоциты, макрофаги и гистиоциты или же их скопления, содержащие цАМФ. В коже больных, находившихся в стационарной стадии болезни, в клеточных инфильтратах цАМФ выявлялся больше.

При выраженных деструктивных и воспалительных процессах в соединительной ткани и сосудах дермы активность АЦ была низкой. В коже больных в прогрессирующей стадии псориаза при общей низкой активности АЦ и уменьшении цАМФ в периваскулярных клеточных скоплениях сосочкового слоя дермы выявлялись отдельные макрофаги и гистиоциты с интенсивной люминесценцией цитоплазмы.

Исходя из того, что цАМФ участвует во внутриклеточных регуляторных процессах, общее его уменьшение в клетках соединительной ткани дермы можно считать показателем нарушения обмена веществ и межклеточных взаимоотношений в условиях деструкции и воспаления. Указанные изменения, сопровождающиеся заметными сдвигами в обмене АК, опосредованные цАМФ, являются важными в нарушении дермо-эпидермального гомеостаза. Именно глубокие нарушения в обмене веществ, деструктивные и воспалительные процессы в соединительной ткани дермы являются теми основными патогенетическими факторами, которые обуславливают возникновение и развитие патологического процесса в эпидермисе.

ԱԳՆԵԻԿԱՏՑԻԿԱԶՁԻ, ՅԻԿԼԻԿ ԱԳՆԵՈՂԻՆ ՄՈՆՈՑՈՍՅԱՏԻ, ՊՐՈՍՏԱԿԿԼԱՆԴԻՆՍԻՆԹԵՏԱԶԻ ԵՎ ԱՐԱՆԻԴՈՆԱԲՔՎԻ ՀԻՍՏԻՈՔԵՄԻԱԿԱՆ ԲՆՈՒՔԱԳԻՐԸ ԱՆՏԱՀԱՐՎԱԾ ՄԱՇԿՈՒՄ ՊՍՈՐԻԱԶԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Պսորիազով տառապող 36 հիվանդների մաշկի բիոպտատներում հայտնաբերվել են տիպիկ հյուսվածաբանական տեղաշարժեր: Հայտնաբերվել է պրոստագլանդին սինթետազի բարձր ակտիվություն վերնամաշկի հատիկավոր և ելուստավոր շերտերի բջիջներում և Մունրոի թարախակույտերում: Միաժամանակ դիտվել է ներածին արախիդոնաթթվի բարձրացում:

Ադենիլատցիկլազը մեծ ակտիվություն է ցուցաբերել վերնամաշկի հիմնային և հատիկավոր շերտերում և բուն մաշկի շուրջանոթային ներսփռանքների բջիջներում:

Բերված տվյալները վկայում են նյութափոխանակության ծանր խանգարումների մասին, որոնք կարևոր դեր են խաղում էպիթելային բջիջների պրոլիֆերատիվ ակտիվության և տարբերակման գործում: Հիմնական ախտածնական գործոնը բուն մաշկի առաջնային ախտահարումն է, որով և պայմանավորվում է ախտաբանական պրոցեսի զարգացումը վերնամաշկում:

N. D. Vartazarian, Zh. N. Saad

The Histochemical Characteristics of Adenilate Cyclase, cAMP, Prostaglandinsynthetase and Arachidonic Acid in the Affected Skin at Psoriasis

In the skin bioplates of 36 patients with psoriasis peculiar histomorphologic changes have been found out. A high activity of prostaglandins' synthesis and increase of the level of endogenous arachidonic acid in the cells of the granular and spinous layers as well as in the Munro's abscesses are established. In the pathologic process development in epidermis, the changes in proliferative activity and differentiation of the epitheliocytes the significant role belongs to the initial affection of the derma and its metabolism disorders.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Шлопов В. Г., Шевченко Г. И. Арх. патол., 1987, 9, 32.
2. Шумаї Н. И. Псоріаз. М., 1980.
3. Bos J. D., British J. Dermatol., 1988, 118, 141.
4. Frain S. D., Camp R. D. R., Dowd P. M. et al. Lancet, 1982, 11, 762.
5. Grabbe J., Charnetzki B. M., Marclin M. Lancet, 1982, 11, 1464.
6. Harris R. R., Mackenzie I. C. J. Invest. Dermatol., 1981, 77, 337.
7. Howell S. L., Whitfield M. J. Histochem. Cytochem., 1972, 20, 873.
8. Janszen F. H., Nugteren D. N. Histochemie, 1971, 27, 159.
9. John H., Holm N. E., Elberg J. J. et al. ARMIS, 1988, 95, 723.
10. Kruger G. G., Bergstzesser P. R., Lowe N. G. et al. J. Amer. Acad. of Dermatol., 1984, 11, 937.
11. MacIndoe J. H., Sullivan W., Wray H. L. J. Endocrinology, 1977, 101, 2, 563.
12. Quell E. A., Fortune J., Peterson C. et al. J. Invest. Dermatol., 1986, 87, 137.
13. Tagami H., Iwatsuki K., Tatematsu H. J. Invest. Dermatol., 1987, 89, 18.
14. Voorhees J. Arch. Dermatol., 1983, 119, 41.
15. Ziboh V., Casebolt T. L., Marcelo C. L., Voorhees J. J. Invest. Dermatol., 1984, 83, 426.