

УДК 616.438-091.8-003.9:616-001.17:616-092.4

I. В. Гунас, I. В. Дзевульська, Е. В. Черкасов, О. I. Ковальчук
 Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, Національний
 медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ

ВПЛИВ ВНУТРІШНЬОВЕННОЇ ІНФУЗІЇ КОМБІНОВАНИХ ГІПЕРОСМОЛЯРНИХ РОЗЧИНІВ НА СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ОРГАНІВ НЕЙРОІМУНОЕНДОКРИННОЇ СИСТЕМИ ПРИ ОПІКОВІЙ ХВОРОБИ

В статті наведені дані щодо показників летальності та ендогенної інтоксикації, а також структурних змін аденогіпофіза, кіркової речовини надниркових залоз і тимусу при експериментальній опіковій хворобі у щурів за умов її лікування шляхом внутрішньовенної інфузії колоїдно-гіперосмолярних розчинів. Встановлено, що лактопротеїн-С діє як протектор судинної стінки і чинить мембранопластичний вплив на структуру органів.

Ключові слова: опікова хвороба, аденогіпофіз, кіркова речовина надниркових залоз, тимус,.

В даний час визнано, що глибокі опіки шкірного покриву характеризуються не лише пошкодженням шкіри, а й викликають тривалі структурно-функціональні зміни внутрішніх органів, що об'єднані в нозологічну форму "опікова хвороба" [8,11]. Встановлено, що в патогенезі опікової хвороби провідну роль відіграють гіпофіз, надниркові залози і тимус, які є центральними органами нейроімуноендокринної системи [1] та ініціюють стресорні міжсистемні реакції організму [10,11].

Вірогідно, функціональне виснаження нейроімуноендокринної регуляції залучене до формування синдрому поліорганної недостатності, зокрема розвитку вторинного імунодефіциту і судинної дисфункції. Припускається, що в складному і недостатньо вивченому патогенезі опікової хвороби одне з головних місць належить ендогенній інтоксикації та гемоконцентрації на тлі значної плазматрати [11]. Доведена також [5,6] ефективність її інфузійної терапії колоїдно-гіперосмолярними розчинами дезінтоксикаційної, реологічної, енергетичної та протишокової дії.

Актуальність даного дослідження обумовлена тим, що до цього часу аналіз та співставлення показників клінічного перебігу та структурних змін аденогіпофіза, кіркової речовини надниркових залоз і тимуса при опіковій хворобі за умов її лікування шляхом інфузії колоїдно-гіперосмолярних розчинів не були предметом спеціальних досліджень.

Метою роботи було вивчення показників летальності та ендогенної інтоксикації, а також структурних змін аденогіпофіза, кіркової речовини надниркових залоз і тимуса при експериментальній опіковій хворобі у щурів за умов її лікування шляхом внутрішньовенної інфузії НАЕС-LX-5% та лактопротеїну з сорбітолом.

Матеріал та методи дослідження. Експериментальне дослідження морфологічних змін в тимусі при опіковій хворобі (через 1, через 3, через 7, через 14, через 21, через 30 діб) та за умов дії інфузійних колоїдно-гіперосмолярних препаратів дезінтоксикаційної, реологічної, енергетичної, протишокової дії НАЕС-LX-5% та лактопротеїну з сорбітолом (фірмова назва препарату – «Лактопротеїн – С») було виконано на 90 щурах-самцях лінії Вістар масою 155-160 грам.

Лактопротеїн-С – це інфузійний колоїдно-гіперосмолярний препарат, який містить альбумін (5%), сорбітол (6%), натрію лактат (2,1%), а також електроліти в збалансованих кількостях. Теоретична осмолярність препарату – 1020 мОсм/л. Лактопротеїн-С показаний до застосування як засіб корекції кислотно-лужного стану і гіпопротеїнемії, покращення мікроциркуляції, зменшення інтоксикації, покращення гемодинаміки при травматичному, операційному, гемолітичному та опіковому шоку, при опіковій хворобі; в післяопераційному періоді після порожнинних операцій; при гіпопротеїнемії різноманітного походження, хронічних гепатитах, при різних інфекційних захворюваннях [5,6,9].

Вітчизняний новий кровозамінник НАЕС-LX-5% був розроблений в лабораторії технології трансфузійних препаратів ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України» (м. Львів). НАЕС-LX-5% - це комплексний колоїдно-гіперосмолярний інфузійний препарат, який містить в якості колоїдної основи гідроксиетильований крохмаль з ММ 130000, п'ятиатомний спирт ксилітол, залужнювальний компонент натрію лактат, солі натрію, калію, кальцію та магнію хлориду. Осмолярність препарату складає 890 мОсм/л, що у три рази перевищує осмолярність ізотонічного розчину натрію хлориду та осмолярність плазми крові.

Утримання та маніпуляції з тваринами проводили у відповідності до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), також керувалися рекомендаціями «Європейської конвенції про захист хребетних

тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985) і положеннями «Правил до клінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP)».- шури без термічної травми, яким проводилась окрема інфузія 0,9% розчину NaCl, HAES-LX-5% та лактопротейну-С відповідно у дозі 10 мл/кг; V, VI, VII — тварини з опіком, яким за аналогічною схемою та у такому ж дозовому режимі проводили окреме введення досліджуваних речовин.

Опік (після відповідної премедикації) викликали шляхом прикладання до бічних поверхонь тулуба тварин чотирьох мідних пластинок (по дві пластинки з кожного боку), які попередньо тримали протягом шести хвилин у воді з постійною температурою 100 °С. Загальна площа опіку у щурів зазначеної маси складала 21-23% при експозиції 10 сек., що є достатнім для формування опіку II ступеня – дермального поверхневого опіку (колишній III А ступінь) та розвитку шокового стану середнього ступеня важкості.

Досліджувані розчини вводили внутрішньовенно протягом 5-6 хв. у дозі 10 мл/кг маси тіла. Інфузію проводили у нижню порожнисту вену, для чого виконували її катетеризацію в асептичних умовах через стегнову вену. Катетер, встановлений у стегновій вені, підшивали під шкіру. Його просвіт по всій довжині заповнювали титрованим розчином гепарину (0,1 мл гепарину на 10 мл 0,9% розчину NaCl) після кожного введення речовин. Перше введення розчинів здійснювали через 1 годину після моделювання патологічного стану, наступні інфузії виконували щоденно загалом впродовж 7 діб.

Проведені нами попередні дослідження показали (табл. 1), що шури-самці без будь-якої фармакокорекції на фоні опікової травми шкіри гинули всі на 9-у добу експерименту, а на 7-у добу летальність складала 80%, в зв'язку з чим (враховуючи питання біоетики), практично не можливим було набрати коректну, у кількісному відношенні, групу контролю з чистим опіком шкіри без лікування. Тому задля контролю лікувальної дії гіперосмолярних розчинів ми спиралися на групу тварин, які на фоні опіку шкіри отримували 0,9 % розчин NaCl.

Таблиця 1

Летальність щурів після опікової травми шкіри без введення будь-яких фармакологічних розчинів

Кількість щурів n=10	Термін спостереження (доба)								
	1 n=3	2 n=1	3 n=2	4 n=0	5 n=1	6 n=0	7 n=1	8 n=0	9 n=2

У групі тварин з опіковою травмою шкіри, яким вводили 0,9 % розчин NaCl, виявлене (табл. 2) прогресуюче збільшення показника летальності від 5% через 1-у добу до 11% у проміжку від 4-ї до 7-ї доби з наступним поступовим зменшенням величини даного показника до 3% у проміжку від 22-ї до 30-ї доби після опіку шкіри. Загальний показник летальності в групі щурів самців, яким після опіку шкіри вводили 0,9% розчин NaCl склав 43,5%. Окрема лікувальна курсова терапія щурів з опіковою травмою шкіри розчином HAES-LX-5% подібно до такої лактопротейном-С суттєво перешкоджала загибелі тварин упродовж усього спостереження.

Ступінь інтоксикації при опіковій хворобі визначали за рівнем молекул середньої маси [3] та лейкоцитарним індексом інтоксикації (ЛІІ), який розраховується з формулою Я. Кальф-Каліфа: $LII = ((4M+3Y+2P+C) \times (Pl+1)) / ((L+Mo) \times (E+1))$, де М – мієлоцити, Ю – юні, П – паличкоядерні, С – сегментоядерні нейтрофіли, Пл – плазмоцити, Л – лімфоцити, Мо – моноцити, Е – еозинофіли.

Дослідження ступеня інтоксикації проводили в проблемній науково-дослідній лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку науково-дослідного центру Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, сертифікованої ДФЦ МОЗ України (посвідчення №003/10 від 11.01.2010 р).

Статистичний аналіз результатів дослідження провели в пакеті STATISTICA 5.5 (належить ЦНІТ ВНМУ імені М.І. Пирогова. Ліцензійний №АХХR910A374605FA) з використанням непараметричних методів оцінки отриманих результатів. Оцінювали правильність розподілу ознак за кожним з отриманих варіаційних рядів, середні значення за кожною ознакою, що вивчалися та стандартні відхилення. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою U-критерія Мана-Уїтні.

Забір матеріалу проводився під наркозом. У тварин після декапітації робили розтин порожнини черепа, черевної та грудної порожнини і вирізали за допомогою леза невеликі шматочки аденогіпофіза, кіркової речовини надниркових залоз та тимуса. Матеріал для морфологічних досліджень обробляли за загальноприйнятою методикою. Ультратонкі зрізи готували на ультрамікроскопі «ЛКВ», і вивчали та фотографували на електронному мікроскопі ПЕМ-125К.

Напівтонкі зрізи забарвлювали толуїдиновим та метиленовим синім, вивчали та фотографували за допомогою світлового мікроскопа Olympus Bx15.

Таблиця 2

Вплив фармакотерапії 0,9% розчином NaCl, лактопротеїном-С та HAES-LX-5% на показники летальності щурів з опіковою травмою шкіри

Умови досліджу	Летальність тварин (n- %)					
	Термін спостереження (доба)					
	1	2-3	4-7	8-14	15-21	22-30
Опік + 0,9 % розчин NaCl (n=200)	n=10 (5 %)	n=21 (10,5 %)	n=22 (11 %)	n=17 (8,5 %)*	n=11 (5,5 %)	n=6 (3 %)
Опік + HAES-LX-5 % (n=120)	n=2 (1,7 %)	n=4 (3,3 %)*	n=5(4,2 %)*	n=4 (3,3 %)#	n=2 (1,7 %)	n=1 (0,8 %)
Опік + лактопротеїн-С (n=120)	n=1 (0,8 %)*	n=4 (3,3 %)*	n=3 (2,5 %)*	n=3 (2,5 %)*	n=1 (0,8 %)*	n=3 (1,7 %)

Примітки: 1. * - достовірна різниця відносно контролю (опік + 0,9 % NaCl); 2. # - тенденція різниці відносно контролю (опік + 0,9 % NaCl).

Електронномікроскопічне дослідження виконано на базі відділу електронної мікроскопії (науковий керівник – професор Л.О. Стеченко) Інституту проблем патології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

Результати дослідження та їх обговорення. Результати проведеного дослідження (рис. 1; рис. 2) свідчать, що рівень молекул середньої маси та лейкоцитарного індексу інтоксикації (ЛІІ), статистично значуще нижчий у щурів без опіку, ніж у щурів з опіком на протязі всього експерименту. Досліджувані показники статистично значуще вищі у щурів, яким вводили ізотонічний розчин в порівнянні з тваринами, яким проводили окрему інфузію лактопротеїну-С та HAES-LX-5%. Найвищі показники рівня молекул середньої маси у щурів з опіком зафіксовані через 3 доби після опіку, відповідає періоду гострого опікового шоку. Найменший рівень молекул середньої маси у щурів з опіком встановленим через 30 діб після травми.

Рівень ЛІІ досягав свого максимуму у щурів з опіком, яким вводили лактопротеїн-С та HAES-LX-5% через 3 доби.

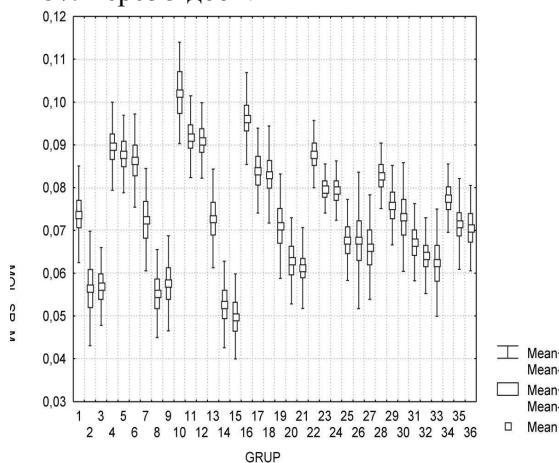


Рис. 1. Рівень молекул середньої маси протягом місяця після опіку шкіри та його корекції колоїдними гіперосмолярними розчинами.

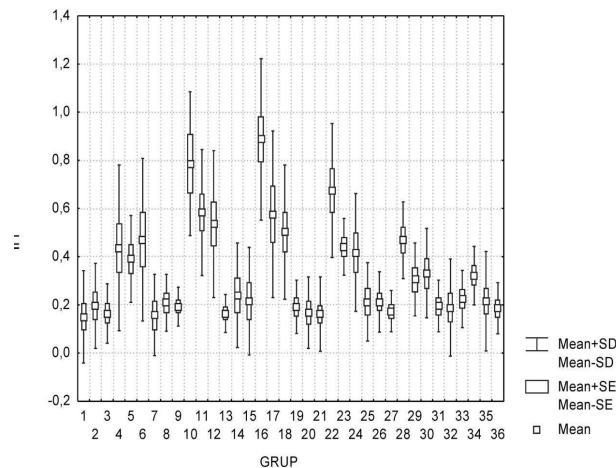


Рис. 2. Рівень лейкоцитарного індексу інтоксикації (ЛІІ) протягом місяця після опіку шкіри та його корекції колоїдними гіперосмолярними розчинами.

Позначення: тут \bar{x} – середня вибірки; $Mean \pm SE$ – похибка середньої; $Mean \pm SD$ – стандартне відхилення середньої; GRUP – шкала груп дослідження; MOL_SR_M – шкала рівня молекул середньої маси; 1 – 1 доба ізотонічний розчин; 2 – 1 доба лактопротеїн-С; 3 – 1 доба HAES-LX-5%; 4 – 1 доба опік + ізотонічний розчин; 5 – 1 доба опік + лактопротеїн-С; 6 – 1 доба опік + HAES-LX-5%; 7 – 3 доба ізотонічний розчин; 8 – 3 доба лактопротеїн-С; 9 – 3 доба HAES-LX-5%; 10 – 3 доба опік + ізотонічний розчин; 11 – 3 доба опік + лактопротеїн-С; 12 – 3 доба опік + HAES-LX-5%; 13 – 7 доба ізотонічний розчин; 14 – 7 доба лактопротеїн-С; 15 – 7 доба HAES-LX-5%; 16 – 7 доба опік + ізотонічний розчин; 17 – 7 доба опік + лактопротеїн-С; 18 – 7 доба опік + HAES-LX-5%; 19 – 14 доба ізотонічний розчин; 20 – 14 доба лактопротеїн-С; 21 – 14 доба HAES-LX-5%; 22 – 14 доба опік + ізотонічний розчин; 23 – 14 доба опік + лактопротеїн-С; 24 – 14 доба опік + HAES-LX-5%; 25 – 21 доба ізотонічний розчин; 26 – 21 доба лактопротеїн-С; 27 – 21 доба HAES-LX-5%; 28 – 21 доба опік + ізотонічний розчин; 29 – 21 доба опік + лактопротеїн-С; 30 – 21 доба опік + HAES-LX-5%; 31 – 30 доба ізотонічний розчин; 32 – 30 доба лактопротеїн-С; 33 – 30 доба HAES-LX-5%; 34 – 30 доба опік + ізотонічний розчин; 35 – 30 доба опік + лактопротеїн-С; 36 – 30 доба опік + HAES-LX-5%.

Для аденогіпофіза, кіркової речовини надниркових залоз і тимуса щурів з опіковою травмою шкіри, яким вводили 0,9% розчин NaCl, через 1,3,7 та 14 діб експерименту (терміни, коли зареєстроване збільшення та стабілізація величини показників летальності та ендогенної інтоксикації) найбільш характерним загальним проявом патоморфологічних змін була альтерація

функціонально різних клітин органів та стінок судин гемомікроциркуляторного русла на тлі виразного міжклітинного та паравазального набряку.

У цей період у стінці кровоносних капілярів і венул спостерігається набряк ендотеліоцитів, їх парціальний і тотальний некроз, відбувається потоншення та локальна руйнація базальної мембрани, утворюються паравазальні крововиливи (рис. 3; рис. 4; рис. 5).

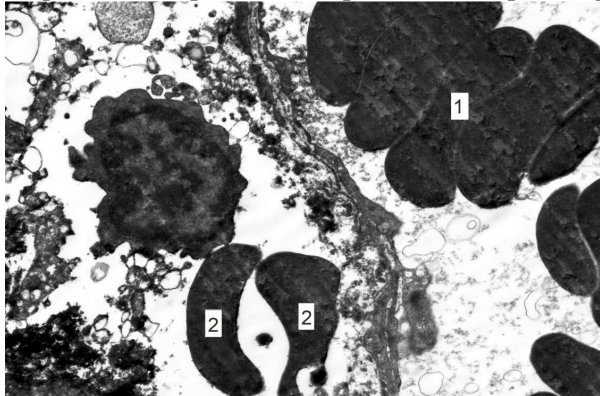


Рис. 3. Паравазальний набряк і утворення агрегата еритроцитів за типом «монетного ставпчика» у просвіті венули в кірковій речовині надниркової залози щура через 1 добу розвитку опікової хвороби за умов введення 0,9 % розчину NaCl. 1 – «монетний ставпчик» еритроцитів у просвіті венули; 2 – паравазальні еритроцити. 36. 14000.

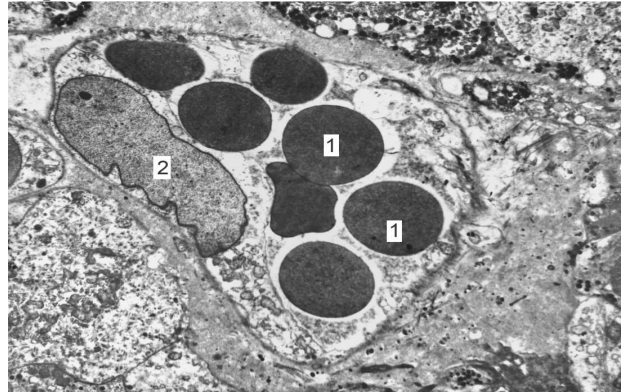


Рис. 4. Кровоносний капіляр із субтотально зруйнованою ендотеліальною вистілкою в аденогіпофізі щура через 1 добу розвитку опікової хвороби за умов введення 0,9 % розчину NaCl. 1 – еритроцит у просвіті кровоносного капіляра; 2 – ядро ендотеліоцита з зруйнованою цитоплазмою. 36. 12000.

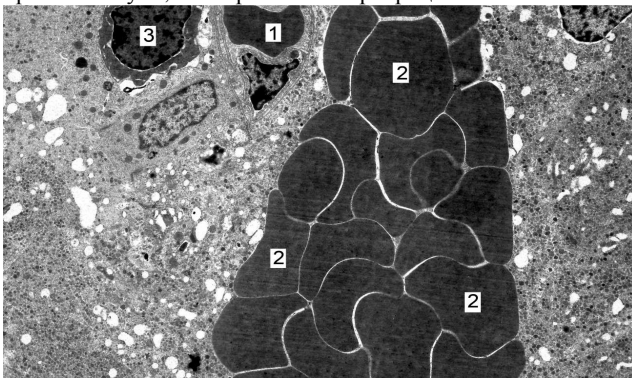


Рис. 5. Крововилив в аденогіпофізі щура через 7 днів розвитку опікової хвороби за умов введення 0,9 % розчину NaCl. 1 – еритроцит у просвіті неушкодженого кровоносного капіляра; 2 – еритроцити в зоні крововиливу; 3 – апоптотичний ендотеліоцит. 36. 5000.



Рис. 6. Утворення трансендотеліальних каналів та локальних зникнення базальної мембрани в стінці кровоносного капіляра тимуса щура через 7 днів розвитку опікової хвороби за умов введення 0,9% розчину NaCl. Стрілочками відмічені наскрізні дефекти кровоносного капіляра. 1 – еритроцит у просвіті кровоносного капіляра. 36. 15000.

У стінці деяких кровоносних капілярів зі збереженою судинною стінкою ендотеліальне покриття стає тонким, в ділянках простих за формою і не великих за довжиною міжотеліальних контактів з'являються розширені міжотеліальні щілини або трансендотеліальні канали, які в зонах відповідних до них локацій руйнації базальної мембрани мають вигляд наскрізних трансмуральних дефектів (рис. 5). Описані трансмуральні дефекти разом з прилеглими і розширеними (у результаті розвитку набряку) міжклітинними просторами вивчених органів є місцями протікання і внутрішньоорганного проникнення плазми та клітин крові, що призводить до прогресування набряку та крововиливів.

Визначені нами вище особливості розвитку набряку в органах нейроімуноендокринної системи при опіковій хворобі є настільки невід'ємною частиною решти послідовних змін, що (для спрощення викладення і з метою уникнення термінологічних непорозумінь) ми в подальшому будемо позначати ймовірні (розширенні міжотеліальні щілини та трансендотеліальні канали) та сформовані трансмуральні дефекти терміном «протіканнями», а потенційні шляхи міжклітинного внутрішньоорганного розповсюдження плазми крові – терміном «проникнення».

У щурів з опіковою травмою, яким за схемою експерименту були введені гіперосмолярні розчини (VI та VII групи тварин), у досліджених органах нейроімуноендокринної системи не виявлені суттєві пошкодження стінки кровоносних судин та крововиливи, а також, відповідно, не зареєстровані структурні ознаки паравазального та міжклітинного набряку. Це свідчить про

ангіопротекторні властивості застосованих комбінованих гіперосмолярних розчинів, які за умов застосування лактопротейну-С пов'язані з доволі специфічною мембранопластичною дією цього препарату.

Вже через 3 доби і, особливо, через 7 діб в досліджених органах тварин з опіковою травмою, яким був введений лактопротейн-С (VII експериментальна група), навколо кровоносних судин та в зоні базальної мембрани судинної стінки відзначене нерівномірне накопичення гетероморфного електроннощільного матеріалу (складається з неоднаково розподілених в аморфному матриксі дрібних фібрил та гранул). Загальна електронна щільність цього матеріалу є меншою ніж щільність матриксу еритроцитів у судинному просвіті. Цей матеріал на електронограмах відрізняється від розташованого у судинному просвіті лактопротейну-С, який візуально є гомогенним і аморфним.

Паравазальний характер розташування зазначеного електроннощільного матеріалу свідчить, що його поява пов'язана з специфікою транспорту складових лактопротейну-С після опікової травми через «протікання» судинної стінки, які вони чітко декорують. За рахунок цього контури міжэндотеліальних щілин виглядають ніби намальованими чорною фарбою, що розлилась навколо судин. Не виключено, що деякі складові лактопротейну-С (які на електронограмах мають низьку щільність) транспортуються через систему мікропіноцитозних пухирців, але беззаперечних структурних свідоцтв на користь цього нами не виявлено.

Складові лактопротейну-С, що потрапили у судинну стінку та розповсюдились через «проникнення» паравазально, модифікуються за рахунок фагоцитозу та синтезуючої діяльності прилеглих клітин. В тимусі про останнє свідчать ознаки активації органел синтетичного апарату паравазальних епітеліоретикулоцитів (більшою мірою розширення розгалужених каналців гранулярної ендоплазматичної сітки та їх заповнення пілоподібним вмістом середньої електронної щільності).

Результатом співдружньої діяльності клітин судинної стінки та паравазальних клітин є формування специфічних мембраноподібних структур в паренхімі досліджених органів щурів тільки і винятково VII експериментальної групи.

За рахунок міжклітинного просякнення компонентів лактопротейну-С і утворення зазначених мембраноподібних структур судинна стінка деяких кровоносних капілярів стає багаточаровою. За цих обставин бар'єрна функція судинної стінки зростає, що заважає проникненню в орган цитотоксичних чинників, а також запобігає розвитку набряків і крововиливів. Одночасно слід визнати, що для цих судин функція трансендотеліального газообміну та транспорту речовин стає значно утрудненою. Однак вона залишається, про що свідчить структурна збереженість компонентів судинної стінки навіть у плазматичних кровоносних капілярів зі замкненим судинним просвітом, який виглядає як тонка щілина. Не виключено, що у подібних кровоносних капілярів опорна (каркасна) функція переважає транспортну. Зважаючи на практичну відсутність просвіту та можливу ригідність (негнучкість) багаточарової стінки (яка не може забезпечити розширення судинного просвіту), можна припустити, що в тимусі ці судини (як шляхи коаксіального транспорту та трансмуральної міграції тимоцитів) виключаються з кола шляхів рециркуляції тимоцитів.

Виявлені в паренхімі досліджених органів специфічні мембраноподібні структури не є тимчасовими реактивними утворами, що зникають через деякий час після інфузії лактопротейну-С (остання здійснюється лише упродовж 7 діб). Окремі описані специфічні мембраноподібні структури об'єднуються у комірочки і відокремлюють клітини або групи (кластери) клітин, сприяють їх ізоляції від решти клітин та, можливо, забезпечують їх захист від шкідливих впливів цитотоксичних чинників. Клітини, що об'єднані у кластери (по 3-30 клітин), характеризуються, за звичай, збереженістю структур цитоплазми та ядра, але іноді, кластеризація є проявом своєрідної секвестрації клітин, що підлягають апоптозу та/або некрозу.

Через 21 та 30 діб експерименту специфічні мембраноподібні структури в судинній стінці та в паренхімі досліджених органів, утворюють розгалужений мембраноподібний комплекс, в комірках якого локалізовані клітини, що мають типові ознаки морфологічної норми.

В тимусі частина відгалужень мембраноподібного комплексу у цей період оточується підковоподібно або колоподібно цитоплазмою окремих епітеліоретикулоцитів, що, іноді, нагадує картину внутрішньоклітинного розташування овальних, полігональних і пластинчастих за формою поперечного перерізу відгалужень. Складається враження, що деякі фрагменти дрібних відгалужень мембраноподібного комплексу дійсно розташовані безпосередньо в цитоплазмі, що супроводжується підвищенням синтезуючої активності відповідного епітеліоретикулоцита, але не супроводжується появою лізосом. У цьому випадку вміст розширених каналців гранулярної ендоплазматичної сітки

частково відкривається в зону локалізації відгалуження, що надає останньому вигляд плями з глибокими зубчастими інвагінаціями.

Підсумовуючи одержані дані можна заключити, що ангіопротекторний та цитопротекторний вплив лактопротеїну-С на структуру аденогіпофіза, кіркової речовини надниркових залоз і тимуса при опіковій травмі є довоготривалим, але парадоксальним. Парадокс дії лактопротеїну-С полягає у тому, що більшість клітин паренхіми досліджених органів в комірках мембраноподібного комплексу упродовж усього терміну після опікової травми залишається структурно збереженою у той час, коли цитоархітектоніка органів стає істотно іншою.

Між тим, саме упорядковане розташування клітин (цитоархітектоніка досліджених органів) за усталеною точкою зору [1] забезпечує можливість необхідної для функціонування кожної клітини нейроімуноендокринної системи молекулярної комунікаційної взаємодії. Загальновідомо, що, зокрема, епітеліоретикулоцити тимуса виконують функцію «епітеліального каркасу» (кіркова та мозкова клітинні сітки) і є джерелом сигналів для тимоцитів, що реалізуються за рахунок прямих клітинних контактів [7]. В тимусі тварин з опіком, яким була здійснена інфузія лактопротеїну-С, функцію каркасу частково виконує новоутворений мембраноподібний комплекс, який порушує старі і одночасно створює нові просторові відповідності секреції власне тимічних гормонів та короткорангових пептидних месенджерів до місць реалізації їх дії. Взаємодія тимоцитів з клітинами мікрооточення слугує важливим чинником процесів позитивної та негативної селекції, які за умов формування «нового каркасу» (останній можна умовно назвати «сполучнотканинним») мають бути істотно зміненими.

Частина «нового сполучнотканинного каркасу», як свідчать одержані дані, підлягає руйнації та перемодельованню за рахунок фагоцитарної активності макрофагів; частина залишається незмінною; ще одна «вмонтовується» в «епітеліальний каркас» тимуса (в якому відгалуження мембраноподібного комплексу повністю або частково, підковоподібно або колоподібно оточуються цитоплазмою відповідного епітеліоретикулоцита). Зрозуміло, що у останньому випадку «новий сполучнотканинний каркас» (крім захисної, опорної, розділяючої та розподіляючої функції) виконує функцію підлеглого матриксу для епітеліоретикулоцитів (які повинні налагодити порушені міжклітинні молекулярні взаємодії).

Варто припустити, що застосування інфузії лактопротеїну-С призводить до індукованого терапевтичного патоморфозу опікової хвороби (сукупності суттєвих і стійких змін характеру захворювання під впливом терапевтичного лікування). Зазначений патоморфоз є дуже своєрідним з огляду на те, що значна частина клітин досліджених органів є структурно збереженою, а показники летальності (табл. 2) та ендогенної інтоксикації (рис.1; рис.2) відносно контролю є суттєво зменшеними. У той же час «нова цитоархітектоніка» є мінливою, багатоваріантною, і навіть випадковою, але усе ж таки передбаченою і упорядкованою, тому що ступінь розповсюдження (обмежене чи широке розповсюдження) та характер розподілу складових лактопротеїну-С визначаються характером розташування та ступенем розповсюдження зон «протікання» та «проникнення».

Динамічні морфологічні часові та просторові зміни «нового сполучнотканинного каркасу» не можна пояснити тільки потребами реорганізації його позаклітинної та внутрішньоклітинної (утвореної у разі транслокації або поглинання деяких конструктивних елементів) складових, що визначає появу «нової органної цитоархітектоніки». Цілком логічно буде стверджувати, що цей «каркас» є також своєрідно структурованим «сховищем» запасів нутрієнтів, що забезпечують живлення клітин за умов притаманного опіковій хворобі гіперметаболізму [11]. Це сховище загалом має на ультратонких та напівтонких зрізах вигляд «істівного дерева», а у тривимірному вигляді, мабуть, нагадує «трубчасто-комірковий» утвір («трубчаста» частина – це мембраноподібні структури, що розташовані перивазально; «коміркова» частина – це мембраноподібні структури, що оточують окремі клітини та кластери клітин). У міру необхідності клітини мають змогу одержати певні порції накопичених у міжклітинних просторах «харчових запасів». Саме у цьому, на нашу думку, полягає особливість біохімічного впливу лактопротеїну-С та НАЕС-LX-5% як комплексу речовин, що гальмують генералізовану катаболічну реакцію, а також і діють як протектори і речовини, що сприяють репарації клітин [2].

Співставлення показників летальності та ступеня ендогенної інтоксикації при експериментальній опіковій хворобі у щурів дозволяє припустити, що кластеризація клітин (та їх оточення специфічними мембраноподібними мембранами) є суттєвим чинником обмеження

негативних впливів ендогенної інтоксикації в органах нейроімуноендокринної системи, а відтак і (прямо та опосередковано) в організмі в цілому.

Узагальнюючи можна сказати, що терапевтична дія застосованих гіперосмолярних розчинів в умовах появи зон «протікання» та «проникнення» в аденогіпофізі, кірковій речовині надниркових залоз і тимусі при опіковій хворобі не обмежується ефектами (дезінтоксикаційним, реологічним, протишоковим) їх власне інфузійного впливу, але й проявляється їх цитопротекторним та ангіопротекторним ефектами, що обумовлені утворення добре структурованих бар'єрів та можливостями залучення компонентів розчинів для репаративних (а в широкому сенсі – трофопластичних) потреб органів.

Зважаючи на зазначене вище, в клінічній практиці варто враховувати морфологічні зміни, які виникають за умов інфузії різноманітних комбінованих гіперосмолярних розчинів. Особливої уваги потребує добір нових лікарських препаратів, які повинні мати ефективний корегуючий вплив на ендокринноімунний стан пацієнтів, невелику вартість та мінімальну побічну дію.

Висновки

1. Застосування лактопротеїну-С та HAES-LX-5% у перші 7 діб експерименту призводить до статистично значущого зменшення рівня молекул середньої маси у щурів без опіку шкіри, а ЛПІ у даних тварин практично не відрізняється від такого у щурів, що отримували ізотонічний розчин. Найвищі показники рівня ендогенної інтоксикації (як молекул середньої маси, так і ЛПІ) у щурів після опіку шкіри, що отримували ізотонічний розчин, встановлені через 3 і 7 діб від початку експерименту.

2. Застосування розчинів лактопротеїну-С та HAES-LX-5% призводить до статистично значущого зниження рівня ендогенної інтоксикації (як молекул середньої маси, так і ЛПІ), порівняно з щурами, що отримували після опіку шкіри ізотонічний розчин, починаючи з 3 доби до кінця експерименту. Лише через 30 діб після опіку шкіри у щурів, яким вводили лактопротеїн-С та HAES-LX-5% ЛПІ статистично значуще не відрізнявся від показників у щурів без опіку.

3. Загальним проявом патоморфологічних змін в аденогіпофізі, кірковій речовині надниркових залоз і тимусі при опіковій хворобі є альтерація функціонально різних клітин органа та стінок судин гемомікроциркуляторного русла на тлі утворення крововиливів, виразного паравазального та міжклітинного набряку. Повідним фактором розвитку набряку в досліджених органах при опіковій хворобі є утворення наскрізних трансмуральних дефектів у стінці кровоносних судин («протікань») і відповідних внутрішньоорганних міжклітинних розширень («проникнень»), маркером яких є електроннощільний лактопротеїн-С.

4. Лактопротеїн-С та HAES-LX-5% за умов розвитку опікової хвороби проявляють цито- та ангіопротекторні властивості, гальмують розвиток крововиливів, набряку, попереджають альтерацію клітин аденогіпофіза, кіркової речовини надниркових залоз і тимуса і сприяють репарації органів. Лактопротеїн-С за умов розвитку опікової хвороби проявляє уперше описані мембранопластичні властивості, що полягають в утворенні у зонах «протікань» та «проникнень» системи взаємозв'язаних мембраноподібних структур. Поява системи мембраноподібних структур при опіковій хворобі за умов застосування інфузії лактопротеїну-С призводить до конформативних змін стінки судин гемомікроциркуляторного русла, а також до відокремлення та ізоляції кластерів клітин, а відтак є суттєвим чинником обмеження негативних впливів ендогенної інтоксикації в органах нейроімуноендокринної системи і (прямо та опосередковано) в організмі в цілому.

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку полягає у вивченні змін імунологічних показників організму тварин при експериментальній опіковій травмі шкіри за умов застосування інфузії HAES-LX-5% та лактопротеїну-С.

Список літератури

1. Акмаев И.Г. От нейроэндокринологии к нейроиммуноэндокринологии /И.Г.Акмаев, В.В. Гриневич//Бюл. exper. биол – 2001. – Т.131, №1. – С.22-32.
2. Благодаров В. М. Типи клітинної смерті в тимусі щурів при опіковій хворобі та її терапевтичному лікуванні / В. М. Благодаров, Е. В. Черкасов, О. В. Благодарова // Biomedical and Biosocial Antropology. – 2011. - №16. – С. 64-68
3. Габриэлян Н.И. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях. Метод. рекоменд. / Н.И. Габриэлян, Э.Р. Левицкий, А.А. Дмитриев [и др.]. // М.: Медицина, - 1985. – 18с.
4. Гусак В.К. Оценка тяжести эндогенной интоксикации и выбор метода детоксикационной терапии у обожженных по данным лейкоцитограммы и биохимического мониторинга /, Э.Ц. Фисталь, И.И. Сперанский [и др.] // Клин. лаб. диагностика. – 2000. – №10. 36 с.
5. Кондрацький Б.О. Трансфузійний препарат «Лактопротеїн з сорбітолом» – фармакотоксикологічна характеристика / Б.О. Кондрацький, М.В. Миндюк, М.Й. Винарчик [та ін.] // Український журнал гематології та трансфузіології. – 2004. – №4 (4). – С. 36-39.

6. Кондрацький Б.О. Обґрунтування розробки білкового-солевого препарату «Лактопротеїн з сорбітолом» / Б.О. Кондрацький, М.В. Миндюк, М.Й. Винарчик [та ін.] // Український журнал гематології та трансфузіології. – 2004. – №2(4). – С. 43-47.
7. Кветной И.М. Нейроиммуноэндокринология тимуса / И.М. Кветной, А.А. Ярыгин, В.О. Полякова [и др.] // СПб: Издательство ДЕАН, - 2005. – 160 с.
8. Козинець Г.П. Опікова травма та її наслідки / Г.П. Козинець, С.В. Слесаренко, О.М. Сорокіна [та ін.]. // Дніпропетровськ: Преса України, - 2008. – 224 с.
9. Фещенко Ю.И. Инфузионная терапия в клинике внутренних болезней / Ю.И. Фещенко, Н.И. Гуменюк // Укр. хіміотерапевт. журн. – 2008. - № 1-2 (22). - С. 1-5.
10. Adly A. Oxidative stress and disease: an updated review / A. Adly // Res. J. Immunol. – 2010. – Vol. 3(2). – P. 129 – 145.
11. Keck M. Pathophysiology of burns / M. Keck, D. Herdon, L.-P. Komolz [et al.] // Wien Med. Wochenschr. – 2009. – Vol. 159. – P. 327-336.

Реферати

ВЛИЯНИЕ ВНУТРИВЕННОЙ ИНФУЗИИ КОМБИНИРОВАННЫХ ГИПЕРОСМОЛЯРНЫХ РАСТВОРОВ НА СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОРГАНОВ НЕЙРОИММУНОЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ

Гунас И.В., Дзевульская И.В., Черкасов Э.В., Ковальчук А.И.

В статье приведены данные о структурных изменениях аденогипофиза, коркового вещества надпочечников и тимуса при экспериментальной ожоговой болезни у крыс при её лечении путём внутривенной инфузии коллоидно-гиперосмолярных растворов. Выяснено, что лактопротеин-С действует как протектор сосудистой стенки и оказывает мембранопластическое влияние на структуру органов.

Ключевые слова: ожоговая болезнь, аденогипофиз, корковое вещество надпочечников, тимус.

Стаття надійшла 14.01.2014 р.

INFLUENCE OF THE INTRAVENOUS INFUSION OF COMBINED HYPEROSMOLAR SOLUTIONS ON STRUCTURAL CHANGES IN ORGANS OF NEUROIMMUNOENDOCRINE SYSTEM

Gunas I.V., Dzevulska I. V., Cherkasov E.V., Kovalchuk O. I.

The article presents data in relation to letality, endogenous intoxication and structural changes in adenohipophysis, adrenal cortex and thymus during experimental burn disease in rat under the condition of its treatment by the intravenous infusion of colloid-hyperosmolar solutions Lactoproteinum-S protects the damage of vessel wall and has a membranoplastic influence on the organic structure.

Key words: burn disease, adenohipophysis, adrenal cortex, thymus.

Рецензент Шепітько В.І.

УДК 612-438.018-091.8:575.23.084]-092.9

А. І. Довгалюк

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського», м. Тернопіль

СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ ТИМУСА МИШЕЙ З НОКАУТОМ ГЕНА *pttg1*

Проведені електронномікроскопічні дослідження і зроблено порівняльний аналіз ультраструктурного стану компонентів тимуса ювенільних мишей дикого типу (з повним набором генів) і з нокаутом гена *pttg1*. Встановлено, що за відсутності гена *pttg1* у тимусі мишей зменшується кількість лімфобластів і макрофагів, збільшується кількість апоптичних лімфоцитів, з'являються тимоцити з електроннопрозорою та електроннощільною цитоплазмою. Поява останніх є проявом патологій клітинної смерті, причини якої обговорюються.

Ключові слова: тимус, субмікроскопічні зміни, нокаут гена *pttg1*.

Нещодавно відкритий онкоген *pttg1* (*pituitary tumour transforming gene*) [12] надмірно експресується в різноманітних пухлинах ендокринних органів, травного тракту та центральної нервової системи. Однак, згодом виявлена його активна експресія і у патологічно незмінених клітинах різних органів, зокрема, найінтенсивніше – у тимусі та яечках [17]. Із наукової літератури відомо, що білковий продукт цього гена (РТТГ, секурін) є регулятором клітинного циклу та функціонує як інгібітор передчасного розходження сестринських хроматид у мітотичних клітинах, а також контролює проліферацію та трансформацію клітин, репарацію ДНК, індукує ангиогенез, інвазію та генетичну нестабільність [15]. Доведено, що відсутність гена *pttg1* призводить до порушення функціонування Т-лімфоцитів у мишей лінії BL6/C57, а саме пригнічує їхню бласт-трансформацію, сповільнює проходження клітинного циклу [6], змінює експресію низки білків у цих клітинах [7]. Окрім того, показано, що нокаут *pttg1* змінює експонування вуглеводних детермінант на поверхні клітин [2] і сприяє розвитку аутоімунних процесів [1]. Встановлено, що відсутність *pttg1* спричиняє гіперплазію тимуса за рахунок збільшення площі кіркової речовини та зростання щільності тимоцитів у ній. [3]. Однак, ультраструктурні зміни, що виникають у тимусі мишей із нокаутом гена *pttg1*, до цих пір не з'ясовані.