

ОРИГІНАЛЬНА СТАТТЯ

УДК 611.814.3:611-018]:616-001.17-092.4-08

ОСОБЛИВОСТІ ПОКАЗНИКІВ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ В АДЕНОГІПОФІЗИ В ПІЗНІ ТЕРМІНИ ПІСЛЯ ОПІКОВОЇ ТРАВМИ ШКІРИ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ОКРЕМОЇ ІНФУЗІЇ У ПЕРШІ 7 ДІБ 0,9% РОЗЧИНУ NaCl, РОЗЧИНІВ ЛАКТОПРОТЕЇНУ З СОРБІТОЛОМ АБО HAES-LX 5%

Ковальчук О. І.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

Кафедра анатомії людини (завідувач кафедри – заслужений діяч науки і техніки України, д.мед.н., професор Черкасов Віктор Гаврилович)

В статті представлені результати дослідження показників клітинного циклу та фрагментації ДНК в аденогіпофізі у щурів через 14, 21 та 30 діб після термічного опіку шкіри II-III ступеня площею 21-23 % поверхні тіла на фоні корекції 0,9 % розчином NaCl, лактопротеїном з сорбітолом та HAES-LX 5%. Результати проведеного експериментального дослідження свідчать про обґрунтованість використання розчинів лактопротеїну з сорбітолом і HAES-LX 5% для покращення показників клітинного циклу в аденогіпофізі та протиапоптозного впливу в умовах негативних наслідків опікової травми шкіри II-III ступеня загальною площею ураження більше 20 % поверхні тіла.

Ключові слова: аденогіпофіз, клітинний цикл, фрагментація ДНК, опік, щури, 0,9 % розчин NaCl, лактопротеїн з сорбітолом, HAES-LX 5%.

Вступ. На сьогодні гіпоталамо-гіпофізарно-надниркова вісь розглядається як складна система, що нелінійно реагує на опікову травму [8], яка може забезпечити як адаптивні реакції так і містить пошкоджуючі елементи, що комплексно взаємодіють між собою. Тому вивчення функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової вісі та гіпофізу, зокрема, залишається актуальним питанням комбустіології і постійно перебуває у фокусі уваги вітчизняних і зарубіжних науковців [5, 10]. При цьому визнано, що внутрішньоклітинні механізми функціонування аденогіпофізу на тлі опікового ушкодження залишаються маловивченими і потребують подальшої детальної розробки. Одним із перспективних методів оцінки пошкодження і репарації клітин є ДНК-цитометрія, на що вказують публікації присвячені дослідженню показників клітинного циклу в різних органах на фоні опікової травми шкіри та застосування препаратів інфузійної терапії [1, 2, 3, 6, 7].

Мета роботи – вивчити показники клітинного циклу та фрагментації ДНК в клітинах аденогіпофіза у щурів через 14, 21 та 30 діб після опікової травми шкіри на фоні застосування 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або HAES-LX 5%.

Матеріали і методи дослідження. Експериментальні дослідження на 100 білих щурах-самцях масою 160-180 г, отриманих із віварію Інституту фармакології та токсикології НАМН України, проводили на базі науково-дослідної лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку науково-дослідного центру Вінницького національ-

ного медичного університету імені М.І. Пирогова, яка сертифікована МОЗ України (посвідчення № 003/10 від 11.01.2010 року). Тварини були розділені на 7 груп: I (10 щурів) – інтактні тварини; II, III, IV (кожна по 15 щурів) – щури без термічної травми, яким проводилась окрема інфузія 0,9% розчину NaCl, HAES-LX 5% та лактопротеїну з сорбітолом відповідно у дозі 10 мл/кг; V, VI, VII (кожна по 15 щурів) – тварини з опіком, яким за аналогічною схемою та у такому ж дозовому режимі проводили окреме введення досліджуваних речовин. Опік викликали шляхом прикладання до бічних поверхонь тулуба тварин чотирьох мідних пластинок (по дві пластинки з кожного боку площею по см кожна), які попередньо тримали протягом шести хвилин у воді з постійною температурою 100 °C. Загальна площа опіку у щурів складала 21-23 % при експозиції 10 с, що є достатнім для формування опіку III-а ступеня та викликання шокового стану середнього ступеня важкості. 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 доклінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів”. Під час роботи з лабораторними тваринами дотримувались: правил гуманного відношення до експериментальних тварин та умов, зат-

верджених комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова (протокол № 1 від 14.01.2010 р.); Міжнародних вимог про гуманне поводження з тваринами, правил “Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою” (1984); методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України про “Доклінічні дослідження лікарських засобів” (2001).

Інфузію розчину 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або HAES-LX 5% проводили у нижню порожнисту вену після її катетеризації в асептичних умовах через стегнову вену. Катетер підшивали під шкіру, його просвіт по всій довжині заповнювали титрованим розчином гепарину (0,1мл гепарину на 10 мл 0,9 % розчину NaCl) після кожного ведення речовин. Інфузії виконували раз на добу на протязі перших 7 діб. Катетеризацію магістральних судин та декапітацію тварин здійснювали в умовах пропофолового наркозу 60 мг/кг в/в.

Вміст ДНК в ядрах клітин аденогіпофіза щурів визначався методом проточної цитометрії. У тварин після декапітації видаляли гіпофіз, відокремлювали передню частку (аденогіпофіз) і з її вмісту готували нуклеарні суспензії для проточної цитометрії. Суспензії ядер з клітин аденогіпофіза отримували за допомогою розчину для дослідження ядерної ДНК CyStain DNA фірми Partec (Німеччина) відповідно до протоколу-інструкції виробника. Даний розчин дозволяє швидко виконувати екстракцію ядер і маркувати ядерну ДНК діамідинофеніліндолом (DAPI), який входить до його складу. У процесі виготовлення нуклеарних суспензій використовували одноразові фільтри CellTrics 50 мкм (Partec, Німеччина). Проточний аналіз виконувався на багатофункціональному науково-дослідному проточному цитометрі “Partec PAS” (Німеччина) в НДЦ ВНМУ імені М.І. Пирогова.

Для збудження флуоресценції DAPI застосовувалось УФ-випромінювання. З кожного зразка нуклеарної суспензії аналізу підлягало 10 тис. подій. Аналіз клітинного циклу виконувався засобами програмного забезпечення FloMax (Partec, Німеччина) у повній цифровій відповідності згідно математичної моделі, де визначались: G0G1 – відсоткове співвідношення клітин фази G0G1 до всіх клітин

клітинного циклу (вміст ДНК = 2с); S – відсоткове співвідношення фази синтезу ДНК до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК > 2с та < 4с.); G2 + M – відсоткове співвідношення фази G2 + M до всіх клітин клітинного циклу (ДНК = 4с); Визначення фрагментації ДНК (апоптоз) виконано шляхом виділення SUB-G0G1 ділянки на ДНК-гістограмах RN1 перед піком G0G1, яка вказує на ядра клітин з вмістом ДНК < 2с.

У зв’язку з тим, що окреме виділення різних типів ендокринних клітин аденогіпофізу щурів для здійснення проточної ДНК-метрії пов’язане з певними труднощами, ми забирали тканинні блоки аденогіпофіза in totus. У цьому випадку з’явилась можливість зробити інтегральну оцінку реакції усіх клітин аденогіпофізу на опікову травму та на дію інфузійних розчинів за показниками зміни в ньому клітинного циклу.

Статистична обробка отриманих результатів була проведена в ліцензійному пакеті “STATISTICA 6.1” із застосуванням непараметричних методів оцінки отриманих результатів. Оцінювали правильність розподілу ознак за кожним із отриманих варіаційних рядів, середні значення кожної ознаки, що вивчалася та стандартне квадратичне відхилення. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою U-критерію Мана-Уїтні.

Результати дослідження та їх обговорення. Для коректної оцінки впливу на показники клітинного циклу в аденогіпофізі інфузійної терапії 0,9 % розчином NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або HAES-LX 5% на першому етапі було проведено дослідження впливу цих препаратів на показники клітинного циклу в аденогіпофізі щурів без опікового ушкодження шкіри в контрольні терміни – через 14, 21 та 30 діб експерименту при введенні вищевказаних розчинів упродовж перших 7 діб.

Нами встановлено, що через 14 діб після опікової травми шкіри при використанні 0,9% розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом і HAES-LX 5% відбувається пікове підвищення показників інтервалу SUB-G0G1 у всіх трьох групах (табл. 1).

Через 14 діб встановлені найбільші значення не тільки показника інтервалу SUB-G0G1 (SUB-G0G1 – інтервал на ДНК-гістограмах RN1 перед піком G0G1, яка вказує на

Таблиця 1.

Показники S-фази та інтервалу SUB-G0G1 в клітинах аденогіпофізу при застосуванні 0,9 % розчину NaCl (V група), лактопротеїну з сорбітолом (VI група) і HAES-LX 5% (VII група) через 14 діб після опікової травми шкіри (M±y).

Група / достовірність відмінностей	Показники клітинного циклу (%)	
	S	SUB-G0G1
II група	0,550±0,090	0,540±0,083
V група	1,186±0,215	1,114±0,199
$P_{(II\text{ група} - V\text{ група})}$	<0,01	<0,01
III група	0,588±0,075	0,568±0,086
VI група	1,088±0,436	0,974±0,236
$P_{(III\text{ група} - VI\text{ група})}$	<0,05	<0,05
IV група	0,578±0,128	0,508±0,114
VII група	0,750±0,150	0,768±0,152
$P_{(IV\text{ група} - VII\text{ група})}$	=0,076	<0,05
$P_{(V\text{ група} - VI\text{ група})}$	>0,05	>0,05
$P_{(V\text{ група} - VII\text{ група})}$	<0,05	<0,01
$P_{(VI\text{ група} - VII\text{ група})}$	>0,05	=0,095

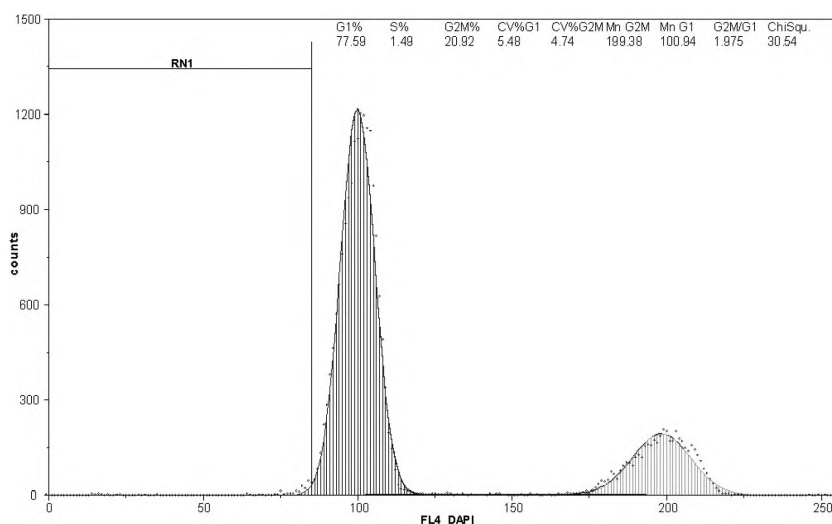


Рис. 1. ДНК-гістограма ядерної суспензії клітин аденогіпофіза щури V групи через 14 діб після опікової травми шкіри. RN1 – інтервал SUB-G0G1 (фрагментація ДНК) = 1,01 %.

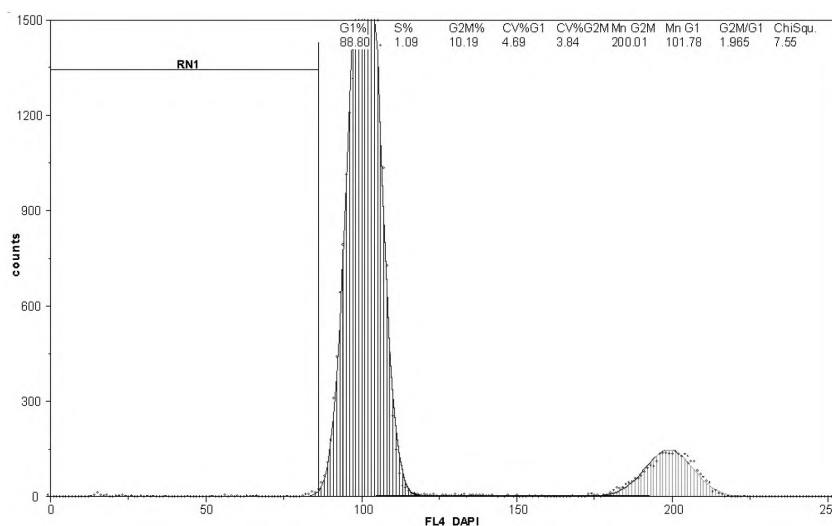


Рис. 2. ДНК-гістограма ядерної суспензії клітин аденогіпофіза щури VI групи через 14 діб після опікової травми шкіри. RN1 – інтервал SUB-G0G1 (фрагментація ДНК) = 0,93 %.

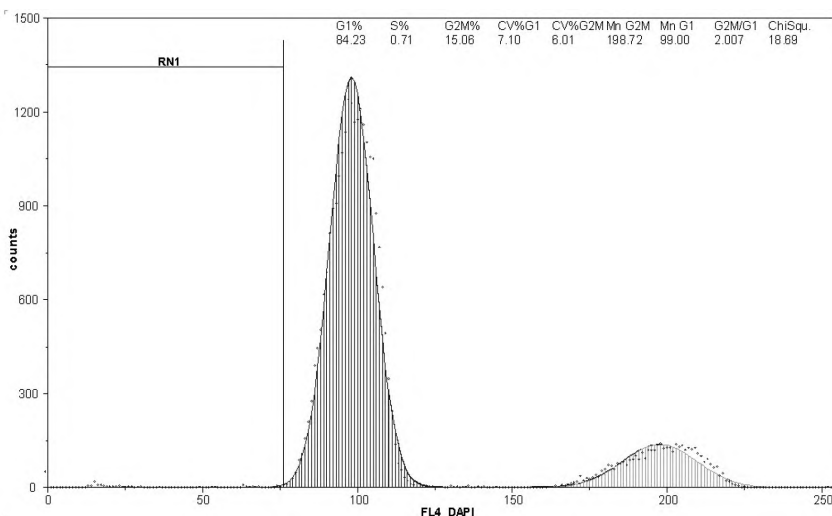


Рис. 3. ДНК-гістограма ядерної суспензії клітин аденогіпофіза щури VII групи через 14 діб після опікової травми шкіри. RN1 – інтервал SUB-G0G1 (фрагментація ДНК) = 0,91 %.

Отримані результати дозволяють припустити, що комплексний негативний вплив наслідків опікової травми шкіри на показники клітинного циклу в аденогіпофізі досягають свого максимуму через 14 діб після опіку, на що вказує пік показників інтервалу SUB-G0G1 в усіх трьох групах, а подальше підвищення показників S-фази вірогідно носить компенсаторний характер, про що свідчить динаміка даного показнику в VII групі, де зменшення рівня апоптозу співпадає із зниженням показників синтезу ДНК (див. табл. 1).

Через 21 добу після термічного опіку шкіри отримані дані вказують на пікове підвищення показників S-фази в групах із використанням 0,9% розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом і HAES-LX 5%, а показники інтервалу SUB-G0G1 різко зменшуються в порівнянні із 14 добою спостереження (табл. 2). Через 21 добу після опіку шкіри найбільші значення показника інтервалу SUB-G0G1 і S-фази встановлені у V групі (рис. 4), порівняно з аналогічними показниками VI групи (рис. 5) і VII групи (рис. 6). В даний термін дослідження показники S-фази у V групі достовірно ($p < 0,01$) більші, ніж у VI та VII групах, а показники інтервалу SUB-G0G1 у V групі достовірно ($p < 0,01$) більший, ніж у VII групі (див. табл. 2). Також привертають увагу достовірно ($p < 0,01$) більші значення S-фази та тенденція ($p = 0,060$) до більших значень показника інтервалу SUB-G0G1 у VI групі, ніж у VII групі (табл. 2).

При порівнянні показників S-фази між аналогічними групами через 21 добу без опіку та з опіком шкіри в усіх трьох групах достовірно ($p < 0,01$) більші значення встановлені у щурів з опіковою травмою; а при порівнянні показників інтервалу SUB-G0G1 – достовірно більші значення встановлені лише в V групі, а в VI групі спостерігається лише незначна тенденція ($p = 0,076$) до більших значень.

Отримані результати вказують на те, що саме в цей термін відбувається поступове відновлення клітинного функціонування в аденогіпофізі, однак застосування 0,9% розчину NaCl не забезпечує достатнього антиапоптозного ефекту, про що свідчить динаміка інтервалу SUB-G0G1 в даній групі.

Через 30 діб після опікової травми шкіри на тлі використання 0,9 % розчи-

Таблиця 2.

Показники S-фази та інтервалу SUB-G0G1 в клітинах аденогіпофізу при застосуванні 0,9 % розчину NaCl (V група), лактопротеїну з сорбітолом (VI група) і HAES-LX 5% (VII група) через 21 добу після опікової травми шкіри (M±y).

Група / достовірність відмінностей	Показники клітинного циклу (%)	
	S	SUB-G0G1
II група	0,568±0,101	0,590±0,108
V група	1,734±0,399	0,976±0,193
$P(II \text{ група} - V \text{ група})$	<0,01	<0,01
III група	0,584±0,067	0,552±0,169
VI група	1,218±0,078	0,784±0,194
$P(III \text{ група} - VI \text{ група})$	<0,01	=0,076
IV група	0,554±0,115	0,544±0,166
VII група	0,892±0,086	0,554±0,053
$P(IV \text{ група} - VII \text{ група})$	<0,01	>0,05
$P(V \text{ група} - VI \text{ група})$	<0,01	>0,05
$P(V \text{ група} - VII \text{ група})$	<0,01	<0,01
$P(VI \text{ група} - VII \text{ група})$	<0,01	=0,060

ну NaCl, лактопротеїну з сорбітолом і HAES-LX 5% встановлені зміни показників інтервалу SUB-G0G1 і S-фази клітин аденогіпофізу шурів полягають у їх подальшому зменшенні в усіх трьох досліджуваних групах тварин (табл. 3).

Через 30 діб після опікової травми шкіри найбільші значення показника інтервалу SUB-G0G1 і S-фази, як і у попередній термін дослідження, встановлені у V групі (рис. 7), порівняно з аналогічними показниками VI групи (рис. 8) і VII групи (рис. 9). Встановлено, що показники S-фази у V групі достовірно ($p < 0,05-0,01$) більші, ніж у VI та VII групах, а показники інтервалу SUB-G0G1 у V групі достовірно ($p < 0,01$) більший, ніж у VII групі та має незначну тенденцію ($p = 0,076$) до більших значень, ніж у VI групі (див. табл. 3). Також привертає увагу достовірно ($p < 0,05$) більше значення S-фази у VI групі, ніж у VII групі (див. табл. 3).

При порівнянні показників S-фази між аналогічними групами через 30 діб без опіку та з опіком шкіри в усіх трьох групах достовірно ($p < 0,05-0,01$) більші значення встановлені у шурів після опікової травми шкіри; а при порівнянні показників інтервалу SUB-G0G1 – встановлена лише незначна тенденція ($p = 0,076$) до більших значень в V групі (див. табл. 3).

Отримані через 30 діб експерименту результати засвідчили, що навіть у віддалений період після опікової травми шкіри зберігаються суттєві порушення клітинного циклу в аденогіпофізі на тлі застосування 0,9% розчину NaCl.

Аналіз літератури свідчить, що застосування сучасних методів терапії дозволяє вплинути на порушення гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової вісі зі зменшенням ушкодження внутрішніх органів [9], однак використання інфузійних розчинів для зменшення токсичних ефектів є досить небезпечним відносно гіперволемії та ятрогенних ускладнень, що посилюють негативний вплив термічного ураження [14]. Тому розробка нових безпечних та ефективних методів лікування опікової хвороби з метою зменшення ушкодження гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової вісі залишається актуальним питанням інтенсивної терапії.

Метод проточної ДНК-метрії показав себе ефективним у оцінці цитопротекторної дії гіперосмолярних розчинів не тільки на структуру аденогіпофіза, але і, за даними літератури, тимуса [6] та надниркової залози [7] при опіковій травмі шкіри.

Отримані нами дані підтверджують суттєві порушення функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової

Таблиця 3.

Показники S-фази та інтервалу SUB-G0G1 в клітинах аденогіпофізу при застосуванні 0,9 % розчину NaCl (V група), лактопротеїну з сорбітолом (VI група) і HAES-LX 5% (VII група) через 30 діб після опікової травми шкіри (M±y).

Група / достовірність відмінностей	Показники клітинного циклу (%)	
	S	SUB-G0G1
II група	0,528±0,084	0,568±0,052
V група	1,036±0,093	0,792±0,169
$P(II \text{ група} - V \text{ група})$	<0,01	=0,076
III група	0,544±0,090	0,524±0,117
VI група	0,880±0,085	0,562±0,074
$P(III \text{ група} - VI \text{ група})$	<0,01	>0,05
IV група	0,534±0,097	0,584±0,072
VII група	0,706±0,089	0,512±0,064
$P(IV \text{ група} - VII \text{ група})$	<0,05	>0,05
$P(V \text{ група} - VI \text{ група})$	<0,05	=0,076
$P(V \text{ група} - VII \text{ група})$	<0,01	<0,05
$P(VI \text{ група} - VII \text{ група})$	<0,05	>0,05

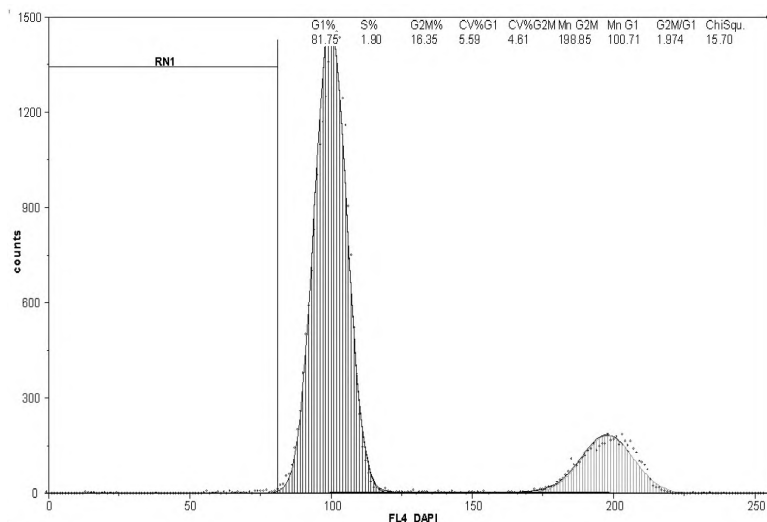


Рис. 4. ДНК-гістограма ядерної суспензії клітин аденогіпофізу щура V групи через 21 добу після опікової травми шкіри. RN1 – інтервал SUB-G0G1 (фрагментація ДНК) = 0,95 %.

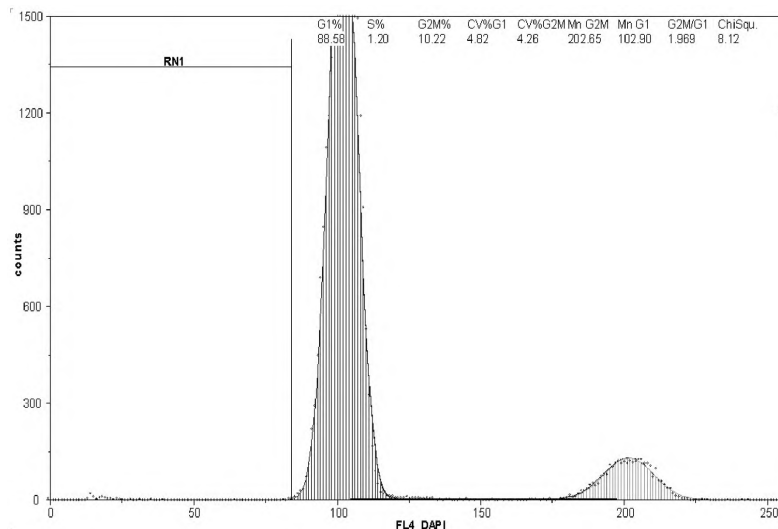


Рис. 5. ДНК-гістограма ядерної суспензії клітин аденогіпофізу щура VI групи через 21 добу після опікової травми шкіри. RN1 – інтервал SUB-G0G1 (фрагментація ДНК) = 0,79 %.

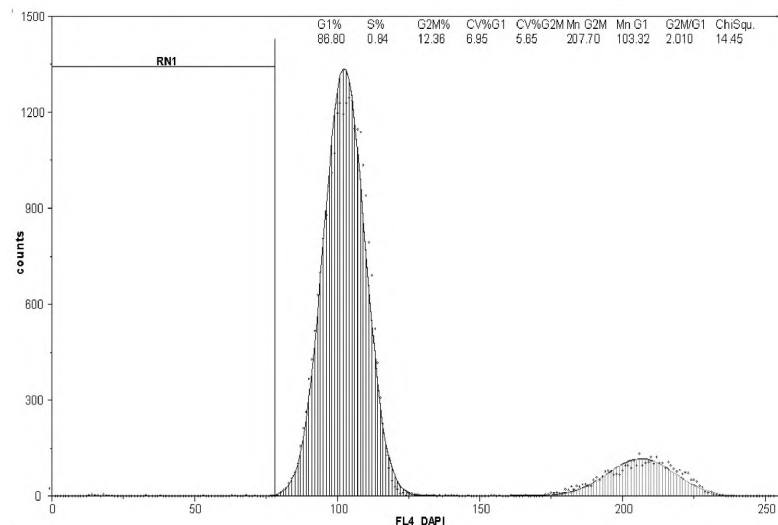


Рис. 6. ДНК-гістограма ядерної суспензії клітин аденогіпофізу щура VII групи через 21 добу після опікової травми шкіри. RN1 – інтервал SUB-G0G1 (фрагментація ДНК) = 0,58 %.

вісі, які спостерігаються як в ранній так і віддалений період опікової хвороби, що проявляється диссоціацією між високим рівнем кортизолу в плазмі та низьким рівнем АКТГ [12]. Існування даних порушень викликане токсичним впливом чинників опікової хвороби на синтез АКТГ, зокрема прозапальних цитокінів і токсинів протягом тривалого часу [11]. Опосередковано про це також свідчить відсутність в сироватці крові нормалізації циркадних змін продукції кортизолу та відновлення рівня гормонів надниркових залоз протягом 3 місяців після опікової травми шкіри [15]. Це відповідно корелює з даними проведеного нами електронномікроскопічного дослідження аденогіпофіза щурів при експериментальній опіковій травмі [4].

Відомо, що зафіксована рання гіперактивація надниркових залоз може бути ушкоджуючим фактором в наступні періоди розвитку опікової хвороби [13], що супроводжується дисрегуляцією гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової вісі протягом тривалого періоду патологічного стану. Припускається, що наступна дисфункція внутрішніх органів розвивається в результаті ендокринних порушень при термічному ушкодженні шкіри у відповідь на підвищення рівня ГКС [12].

Результати проведеного експериментального дослідження свідчать про обґрунтованість використання розчинів лактопротеїну з сорбітолом і НАЕС-LX 5% для покращення показників клітинного циклу в аденогіпофізі та протиапоптозного впливу в умовах негативних наслідків опікової травми шкіри II-III ступеня загальною площею ураження більше 20 % поверхні тіла.

Висновки.

1. Застосування протягом 7 діб 0,9% розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або НАЕС-LX 5% не впливає на показники клітинного циклу та фрагментацію ДНК клітин аденогіпофіза інтактних щурів. На фоні термічного ушкодження шкіри і використання 0,9% розчину NaCl в клітинах аденогіпофіза через 14 діб після опіку шкіри значення показника S-фази на 115,6 % ($p < 0,01$) більше, ніж у тварин контрольної групи. Величина показника S-фази досягає максимуму через 21 добу (на 205,3 %, $p < 0,01$ більше, ніж у контрольній групі), а через 30 діб даний показник знижується, але залишається на 96,2 % ($p < 0,01$) вищим від рівня зафіксованого в контрольній групі щурів.

2. Показники інтервалу SUB-G0G1 досягають пікових значень через 14 діб (на 106,3 %, $p < 0,01$ більше, ніж у контрольній групі).

Через 21 та 30 днів показники поступово зменшуються, не досягаючи рівня, який був встановлений на фоні інфузії 0,9% розчину NaCl у контрольних тварин (відповідно на 65,4%, $p < 0,01$ і 39,4%, $p = 0,076$ більші).

3. Використання розчинів лактопротеїну з сорбітолом або HAES-LX 5% на фоні опікової травми шкіри мають подібну до V групи (опік + 0,9% розчин NaCl) динаміку змін показників S-фази та інтервалу SUB-G0G. Однак амплітуда цих змін протягом усього експерименту значно нижча. Величина показника S-фази через 14 днів на 85,0% ($p < 0,05$) і 29,8% ($p = 0,076$) більша, ніж у контрольних групах; через 21 добу досягає максимуму (на 108,6 і 61,0%, $p < 0,01$ більша, ніж у контрольних групах), а через 30 днів зменшується, але залишається на 61,8% ($p < 0,01$) і 32,2% ($p < 0,05$) вище, ніж у тварин контрольної групи.

4. Показник інтервалу SUB-G0G1 через 14 днів досягає максимуму (71,5 і 51,2%, $p < 0,05$ більші, ніж у контрольних групах); через 21 добу лише в групі із застосуванням лактопротеїну з сорбітолом величина інтервалу SUB-G0G1 на 42,0% ($p = 0,076$) більша, ніж у відповідній контрольній групі, а через 30 днів даний показник в обох групах не відрізняється від рівня контрольних тварин.

5. Результати проведеного експериментального дослідження свідчать про обґрунтованість використання розчинів лактопротеїну з сорбітолом і HAES-LX 5% для покращення показників клітинного циклу в аденогіпофізі та протиапоптозного впливу в умовах негативних наслідків опікової травми шкіри II-III ступеня загальною площею ураження більше 20% поверхні тіла.

Перспектива подальших досліджень є вивчення динаміки змін рівня гормонів аденогіпофізи в крові і порівняння їх з даними проточної цитометрії.

Конфлікт інтересів. Немає ніякого конфлікту інтересів який міг би завдати шкоди неупередженості дослідження.

Дане дослідження не отримало ніякої фінансової підтримки від державної, громадської чи комерційної організації.

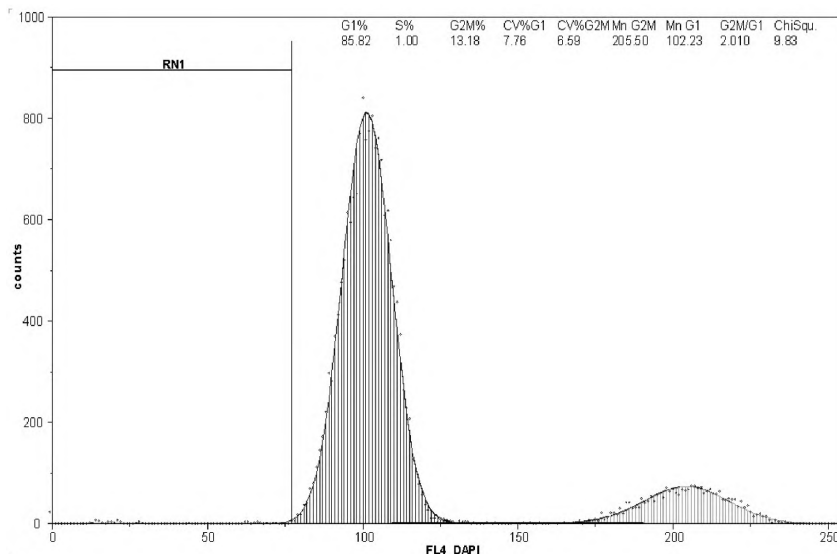


Рис. 7. ДНК-гістограма ядерної суспензії клітин аденогіпофіза щура V групи через 30 днів після опікової травми шкіри. RN1 – інтервал SUB-G0G1 (фрагментація ДНК) = 0,83 %.

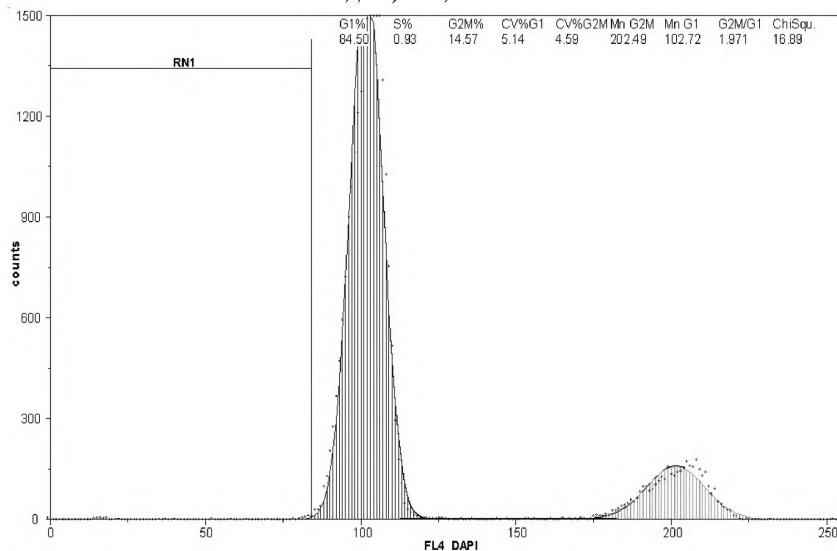


Рис. 8. ДНК-гістограма ядерної суспензії клітин аденогіпофізу щура VI групи через 30 днів після опікової травми шкіри. RN1 – інтервал SUB-G0G1 (фрагментація ДНК) = 0,62 %.

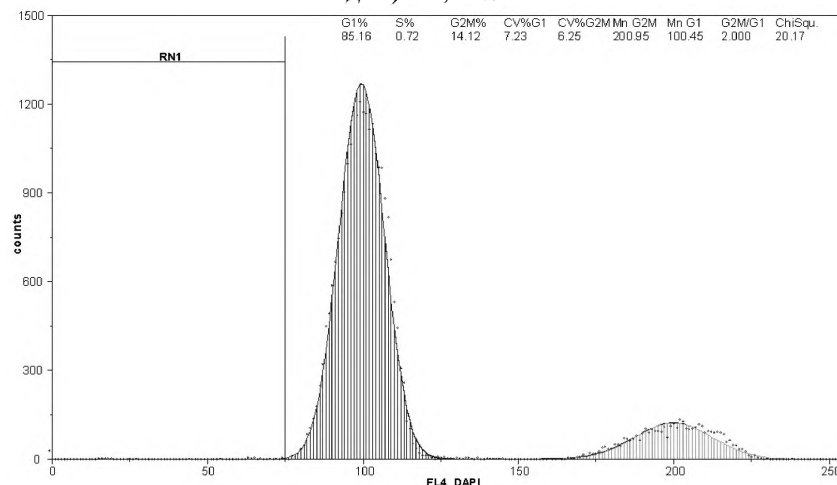


Рис. 9. ДНК-гістограма ядерної суспензії клітин аденогіпофізу щура VII групи через 30 днів після опікової травми шкіри. RN1 – інтервал SUB-G0G1 (фрагментація ДНК) = 0,60 %.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вплив лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX 5% на динаміку деяких показників функціонування печінки при опіковій хворобі у щурів / А.І. Семененко, Б.О. Кондрацький, О.О. Яковлева [та ін.] // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 2. – С. 363-365.

2. Макарова О.І. Особливості ультраструктурних змін в респіраторному відділі легень щурів у віддалений період після термічної травми за умов її корекції колоїдно-гіперосмолярним інфузійним розчином HAES-LX 5% / О.І. Макарова, Ю.Б. Чайковський // Світ медицини та біології. – 2014. – № 4(46). – С. 115-120.

3. Особливості клітинного циклу клітин тимуса щурів після опікового ураження шкіри / Е.В. Черкасов, І.В. Гунас, І.Л. Черешнюк, Д.А. Лисенко // Український морфологічний альманах. – 2012. – Т. 10, № 3. – С. 109-113.

4. Патент 104459, Україна, ПМК 2006.01. Застосування лактопротеїну з сорбітолом як цитопротектора аденогіпофіза при опіковій хворобі / Ковальчук О. І. // Заявка № u201511024; заявл. 11.11.2015; опубл. 25.01.2016, Бюл. № 2. – 6 с.

5. Патологіологічні взаємозв'язки гіпофізарно-тиреоїдної та гіпофізарно-надниркової систем під впливом поляризованого світла в щурів із дозованим опіком відкритим полум'ям [Текст] / Ю.І. Стрельченко, С.В. Зяблицев, В.М. Єльський // Клінічна та експериментальна патологія = Clinical and experimental pathology : наук.-мед. журн. – 2012. – Т. 11, № 3 (ч. 1). – С. 156-158.

6. Черкасов Е. В. Клітинна смерть та клітинний цикл в тимусі при експериментальній опіковій хворобі у щурів за умов її лікування шляхом інфузії комбінованих гіперосмолярних розчинів / Е. В. Черкасов // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2015. – № 2. – С. 68-75.

7. Dzevulska I.V. Monthly rates of cell cycle of rat adrenal cells in administration of 0,9 % NaCl solution < Lactoprotein with sorbitol or HAES-Lx-5% during the first 7 day / I.V. Dzevulska // Biomedical and biosocial anthropolooogy. – 2015. – № 25. – P. 33– 37

8. Evers LH. The biology of burn injury / L.H. Evers, D. Bhavsar, P. Mailänder // Exp Dermatol. – 2010. – Vol. 19, № 9. – P. 777-783.

9. Inflammation and the Host Response to Injury Collaborative Research Program. Morbidity and survival probability in burn patients in modern burn care / M.G. Jeschke, R. Pinto, R. Kraft [et al.] // Crit. Care Med. – 2015. – Vol.43, № 4. – P. 808-815. doi: 10.1097/CCM.0000000000000790. PubMed PMID: 25559438; PubMed Central PMCID: PMC4359665.

10. Jayme A. Farina Jr. Curbing inflammation in burn patients / Jayme A. Farina Jr., Marina Junqueira Rosique, Rodrigo G. Rosique // Int. J. of Inflamm. – 2013. – Article ID 715645. – 9 p.

11. Kortikosteroidinsuffizienz bei kritisch Kranken / J. Briegel, M. Vogeser, D. Keh [et al.] // Der Anaesthetist/ – 2009. – Vol. 58, № 2. – P. 122-133.

12. Palmieri T.L. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to substained stress after major burn injury in children / T.L. Palmieri, S. Levine, N. Schoenfeld-Warden // J. Burn Care Res. – 2006. – № 27. – P. 742-748.

13. Relative adrenal insufficiency in the adult burn intensive care unit: a report of four cases / J. Goverman, M. Garcia-Toca, R.L. Sheridan [et al.] // Burns. – 2008. – Vol. 34, № 3. – P. 421-4.

14. Timmers T.K. Intensive care organisation: Should there be a separate intensive care unit for critically injured patients? / T.K. Timmers, M.H. Verhofstad, L.P. Leenen // World Journal of Critical Care Medicine. – 2015. – Vol. 4, № 3. – P. 240-243.

15. Urinary cortisol and catecholamine excretion after burn injury in children / W.B. Norbury, D.N. Herndon, L.K. Branski [et al.] // Clin Endocrinol. Metab. – 2008. – Vol. 93, № 4. – P. 1270-1275.

REFERENCE

1. Семененко, А.І., Кондрацький, Б.О., Яковлева, О.О. [та ін.] (2010) Вплив лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX 5% на динаміку деяких показників функціонування печінки при опіковій хворобі у щурів. Вісник морфології, Т. 16, № 2, 363-365.

2. Макарова, О.І., Чайковський, Ю.Б. (2014). Особливості ультраструктурних змін в респіраторному відділі легень щурів у віддалений період після термічної травми за умов її корекції колоїдно-гіперосмолярним інфузійним розчином HAES-LX 5%. Світ медицини та біології, 115-120.

3. Черкасов, Е.В., Гунас, І.В., Черешнюк, І.Л., Лисенко, Д.А. (2012) Особливості клітинного циклу клітин тимуса щурів після опікового ураження шкіри. Український морфологічний альманах, Т. 10, № 3, 109-113.

4. Ковальчук, О. І. (2016) Застосування лактопротеїну з сорбітолом як цитопротектора аденогіпофіза при опіковій хворобі. Патент 104459, Україна, Бюл. № 2, 6.

5. Стрельченко, Ю.І., Зяблицев, С.В., Єльський, В.М. (2012) Патологіологічні взаємозв'язки гіпофізарно-тиреоїдної та гіпофізарно-надниркової систем під впливом поляризованого світла в щурів із дозованим опіком відкритим полум'ям. Clinical and experimental pathology, Т. 11, № 3, 156-158.

6. Черкасов, Е.В. (2015) Клітинна смерть та клітинний цикл в тимусі при експериментальній опіковій хворобі у щурів за умов її лікування шляхом інфузії комбінованих гіперосмолярних розчинів. Український науково-медичний молодіжний журнал, № 2, 68-75.

7. Dzevulska, I.V. (2015) Monthly rates of cell cycle of rat adrenal cells in administration of 0,9 % NaCl solution < Lactoprotein with sorbitol or HAES-Lx-5% during the first 7 day, Biomedical and biosocial anthropolooogy, № 25, 33- 37.

8. Evers, L.H. (2010) The biology of burn injury, Exp Dermatol, Vol. 19, № 9, 777-783.

9. Jeschke, M.G., Pinto, R., Kraft, R. (2015) Inflammation and the Host Response to Injury Collaborative Research Program. Morbidity and survival probability in burn patients in modern burn care. Crit. Care Med, Vol. 43, № 4, 808-815.

10. Jayme, A. Farina, Jr. (2013) Curbing inflammation in burn patients Int. J. of Inflamm. Article ID 715645, 9.

11. Briegel, J., Vogeser, M., Keh, D. (2009) Kortikosteroidinsuffizienz bei kritisch Kranken. Der Anaesthetist. 58, 122-133.

12. Palmieri, T.L., Levine, S., Schoenfeld-Warden, N. (2006) Hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to substained stress after major burn injury in children. Burn Care Res. 27, 742-748.

13. Goverman, J., Garcia-Toca, M., Sheridan, R.L. (2008) Relative adrenal insufficiency in the adult burn intensive care unit: a report of four cases. Burns, 34, 421-4.

14. Timmers, T.K., Verhofstad, M.H., Leenen, L.P. (2015) Intensive care organisation: Should there be a separate intensive care unit for critically injured patients? World Journal of Critical Care Medicine, 4, 240-243.

15. Norbury, W.B., Herndon, D.N., Branski, L.K. (2008) Urinary cortisol and catecholamine excretion after burn injury in children. Clin Endocrinol. Metab, 93, 1270-1275.

ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА В АДЕНОГИПОФИЗЕ В ПОЗДНИЕ СРОКИ ПОСЛЕ ОЖГОВОЙ ТРАВМЫ КОЖИ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ОТДЕЛЬНОЙ ИНФУЗИИ В ПЕРВЫЕ 7 ДНЕЙ 0,9% РАСТВОРОМ NaCl, РАСТВОРОВ ЛАКТОПРОТЕИНА С СОРБИТОЛОМ ИЛИ HAES-LX-5%

Ковальчук А. И.

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина

Цель работы - изучить показатели клеточного цикла и фрагментации ДНК клеток аденогипофиза у крыс через 14, 21 и 30 суток после ожоговой травмы кожи на фоне применения 0,9% раствора NaCl, лактопротеина с сорбитолом или HAES-LX-5%.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования на 100 белых крысах-самцах массой 160-180 г. Во время работы с лабораторными животными придерживались правил гуманного отношения к экспериментальным животным. Инфузию раствора 0,9% раствора NaCl, лактопротеина с сорбитолом или HAES-LX-5% проводили в нижнюю полую вену после ее катетеризации в асептических условиях через бедренную вену. Инфузии выполняли раз в сутки в течение первых 7 дней. Содержание ДНК в ядрах клеток аденогипофиза крыс определялся методом проточной цитометрии. У животных после декапитации выделяли аденогипофиз и с его содержания готовили нуклеарную суспензию для проточной цитометрии. Проточный анализ выполнялся на многофункциональном научно-исследовательском проточном цитометре "Partec PAS" (Partec, Германия). Анализ клеточного цикла выполнялся средствами программного обеспечения FloMax (Partec, Германия) в полной цифровой соответствии согласно математической модели. Статистическая обработка полученных результатов была проведена в лицензионном пакете "STATISTICA 6.1" с применением непараметрических методов оценки полученных результатов.

Results. Применение в течение 7 дней 0,9% раствора NaCl, лактопротеина с сорбитолом или HAES-LX-5% не влияет на показатели клеточного цикла и фрагментацию ДНК клеток аденогипофиза интактных крыс. На фоне термического повреждения кожи и использования 0,9% раствора NaCl в клетках аденогипофиза через 14 суток после ожога кожи значение показателя S-фазы на 115,6% ($p < 0,01$) больше, чем у животных контрольной группы. Величина показателя S-фазы достигает максимума через 21 дней (на 205,3%, $p < 0,01$ больше, чем в контрольной группе), а через 30 суток данный показатель снижается, но остается на 96,2% ($p < 0,01$) выше уровня зафиксированного в контрольной группе крыс.

Ключевые слова: клеточный цикл, фрагментация ДНК, аденогипофиз, ожог, крысы, 0,9% раствор NaCl, лактопротеин с сорбитолом, HAES-LX 5%.

INDICATORS CELL CYCLE IN ADENOHYPHYPHYSIS A LATER DATE AFTER BURN INJURY IN RATS FOR SKIN CONDITIONS SEPARATE INFUSION IN THE FIRST 7 DAYS OF 0,9% NaCl SOLUTION, SOLUTIONS LACTOPROTEIN WITH SORBITOL OR HAES-LX-5%

O. I. Kovalchuk

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

The paper is aimed at the comparative analysis of the rates of rat adenohipophysis cell cycle and DNA-fragmentation following the 14, 21 i 30 days after thermal burn in rehabilitation with 0,9 % NaCl solution, lactoprotein with sorbitol and HAES-LX-5%.

Materials and Methods. The experimental study has been made on 100 Wistar white male rats, weighted 160-180 g, provided by the vivarium at the Institute of Pharmacology and Toxicology of NAMS of Ukraine, and carried out on the basis of the Research Laboratory of Functional Morphology and Genetics of Research Center at National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya. Before simulation of pathological state the lateral surfaces of animals' bodies were shaved with shaver and safety razor. The infusion of 0.9% NaCl solution, lactoprotein with sorbitol or HAES-LX-5% was conducted in the lower hollow vein after its catheterization through the femoral vein, made in aseptic conditions. Catheter was sewed subcutaneously, its lumen was filled with heparin titrating solution (0,1 ml heparin per 10 ml 0.9% NaCl solution) after each administration of agents. Infusions were performed once a day during the first 7 days. Catheterization of great vessels and animals decapitation were made under 60 mg/kg intravenous propofol anesthesia. Flow analysis was made on multifunctional research flow cytometer "Partec PAS" (Partec, Germany) in the Research Center at N.I. Pirogov Vinnytsya National Medical University. The analysis of cell cycle was made by means of FloMax (Partec, Germany) software in full digital compliance with mathematical model. Statistical processing of the results was carried out in the STATISTICA 6.1 license package using the nonparametric methods of the evaluation of the obtained results.

Results. Apply within 7 days 0.9% solution of NaCl, Lactoproteinum with sorbitol or HAES-LX 5% does not affect the performance of the cell cycle and DNA fragmentation adenohipophysis cells intact rats. In the context of thermal damage to the skin and using 0.9% NaCl solution adenohipophysis cells 14 days after the skin care values of S-phase at 115.6% ($p < 0.01$) than in the control group animals. The value of S-phase indicator reaches a maximum of 21 days (at 205.3%, $p < 0,01$ bilsha than in the control group), and after 30 days the figure is reduced but remains at 96.2% ($p < 0.01$) higher than the level recorded in the control group rats.

Key words: cell cycle, DNA fragmentation, adenohipophysis, rats, burn injury, 0,9 % NaCl solution, lactoprotein with sorbitol, HAES-LX-5%.