

© Нестерук С.В.

УДК: 617.7-001.17+599.325.1-001.5

Нестерук С.В.

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України" (майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001, Україна)

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ РОГІВКИ ПРИ НЕПРОНИКАЮЧІЙ МЕХАНІЧНІЙ ТРАВМИ ЗА УМОВ КОРЕКЦІЇ

Резюме. В роботі представлені результати дослідження морфологічних змін рогівки при непроникаючій механічній її травмі на фоні лікування препаратом "Солкосерил" та низькомолекулярним пептидом "Ефіаль". В результаті дослідження виявлено, що "Ефіаль" більш ефективно, ніж "Солкосерил" оновлює передній епітелій рогівки, передню пограничну пластинку, покращує структурну організацію власної речовини.

Ключові слова: рогівка, експериментальна механічна травма, низькомолекулярний пептид.

Вступ

Відновлення ушкодженої поверхні рогівки, її цілісності та прозорості залишається актуальною проблемою, оскільки в результаті лікування не завжди вдається зберегти її фізіологічні властивості [2, 9]. Безуспішність лікування при непроникаючих ушкодженнях рогівки часто пов'язана з порушенням її репаративно-регенеративних процесів [3]. Репаративні процеси рогівки вивчені та описані в чисельних дослідженнях [12, 10]. Ключовою задачею лікувальної корекції ушкоджень рогівки повинно бути її морфо-функціональне об'єднання [4].

Консервативне лікування при непроникаючих ушкодженнях рогівки обов'язково включає лікувальні засоби стимулюючі регенерацію рогівки: очний гель "Солкосерил", "Корнерегель", "Сенсевіт" тощо. Перспективним стає застосування пептидних біорегуляторів [1], які мають специфічний вплив на рівні клітинних популяцій - перенесення міжклітинної інформації в багатоклітинному організмі, регуляція його захисних систем [6, 7]. Таким являється препарат фармакологічної групи стимуляторів тканинної регенерації на основі концентрату депротейнізованого дермального шару шкіри свиней - "Ефіаль" [1, 8], розроблений на ВАТ "Фармак". Лікарська форма спрею включає пептидні комплекси шкіри свиней і фосфатидилхолін. В експерименті встановлено, що запропонований препарат не проявляє алергенних властивостей та місцево подразнювальної дії на шкіру та слизові оболонки піддослідних тварин [5]. Показаними до його застосування являються не заживаючі рани, опіки [1].

Мета дослідження - вивчити морфо-функціональні зміни рогівки кроля, ефективність застосування очного гелю "Солкосерил" та препарату "Ефіаль" при її непроникаючих ушкодженнях в експерименті.

Матеріали та методи

Досліди проведені на статевозрілих кролях породи "Шиншила" масою тіла 2,5 - 3 кг, у відповідності з Женевською конвенцією "International Guiding principles for Biochemical research involving animals" (Geneva, 1990) та згідно із загальними принципами експериментів на тваринах, схваленими на Національному конгресі з біо-

тики (Київ, Україна, 2001). Тварин утримували на стандартному раціоні віварію.

Тварини були розділені на 4 групи: група №1 - інтактні тварини; група №2 - дослідні тварини через 3, 7, 10, 14 діб після непроникаючої механічної травми рогівки; група №3 - дослідні тварини через 3, 7, 10, 14 діб після непроникаючої механічної травми за умов її корекції препаратом "Солкосерил"; група №4 - дослідні тварини через 3, 7, 10, 14 діб після непроникаючої механічної травми за умов корекції препаратом "Ефіаль". Групу інтактних кролів склали 6 тварин, дослідні групи - по 4 тварини на кожну добу спостереження.

Механічну травму моделювали шляхом нанесення концентричної епітеліальної насічки трепаном діаметром 7 мм у верхній половині рогівки, в межах якої одноразовим офтальмологічним скальпелем видаляли епітелій разом з переднім шаром строми рогівки (викроювали клапоть товщиною до 0,2 мм). Контроль відтворення ерозії здійснювали методом фарбування рогівки 0,5% розчином флюоресцеїну. Експериментальна модель пошкодження рогівки відтворювалась на обох очах кроля під місцевою епібульбарною анестезією 0,5% розчином алкаїну та ретробульбарною анестезією 2% розчином лідокаїну 1,0 мл.

Для проведення гістологічних досліджень забирали шматочки рогівки кроля, фіксували їх у 10% нейтральному формаліні. Подальшу обробку матеріалу з наступною заливкою в парафінові блоки здійснювали згідно загальноприйнятих методик. Отримані на санному мікроскопі зрізи товщиною 5-6 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозином.

Гістологічні препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа SEO SCAN та фотодокументували за допомогою відеокамери Vision CCD Camera з системою виводу зображення з гістологічних препаратів.

Результати. Обговорення

Мікроскопічні дослідження рогівки очей кролів третьої експериментальної групи, проведені через 3 доби після механічної травми за умов її корекції препаратом "Солкосерил" показали, що центральна ділянка рани не мала переднього епітелію. Власна речовина рогівки у

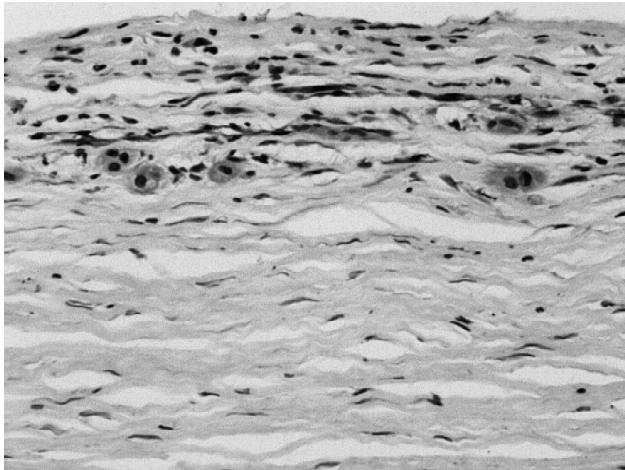


Рис. 1. Гістологічний стан рогівки кроля через 3 доби після експериментальної механічної травми за умов корекції препаратом "Солкосерил". Гематоксилін-еозин. x200.

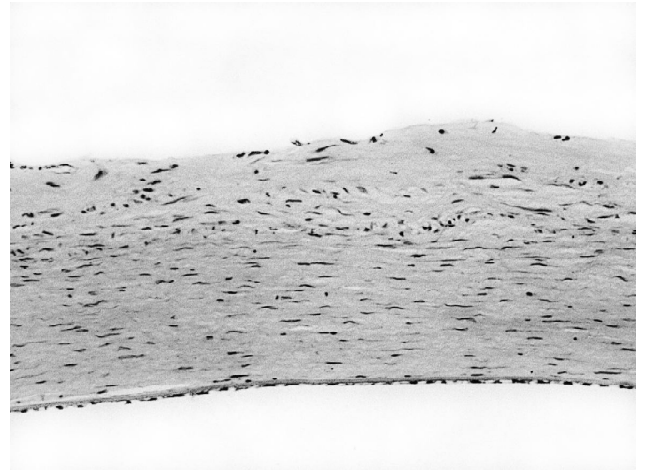


Рис. 2. Гістологічний стан рогівки кроля через 3 доби після експериментальної механічної травми за умов корекції препаратом "Солкосерил". Гематоксилін-еозин. x200.

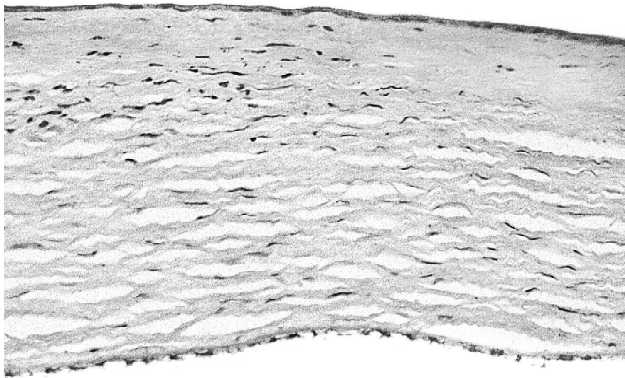


Рис. 3. Гістологічний стан рогівки кроля через 3 доби після експериментальної механічної травми за умов корекції препаратом "Ефіаль". Гематоксилін-еозин. x100.

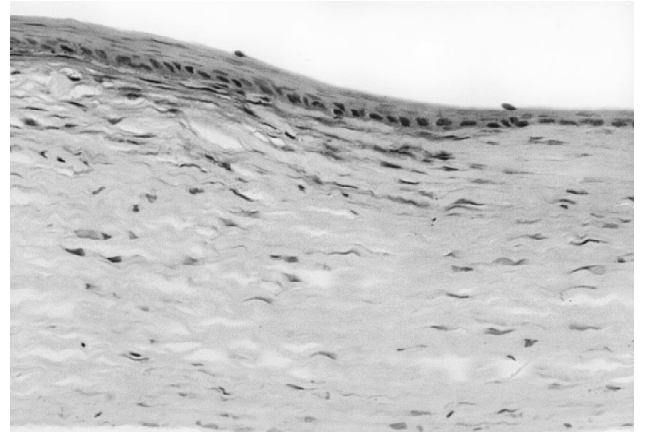


Рис. 4. Гістологічний стан рогівки кроля через 7 днів після експериментальної механічної травми за умов корекції препаратом "Солкосерил". Гематоксилін-еозин. x200.

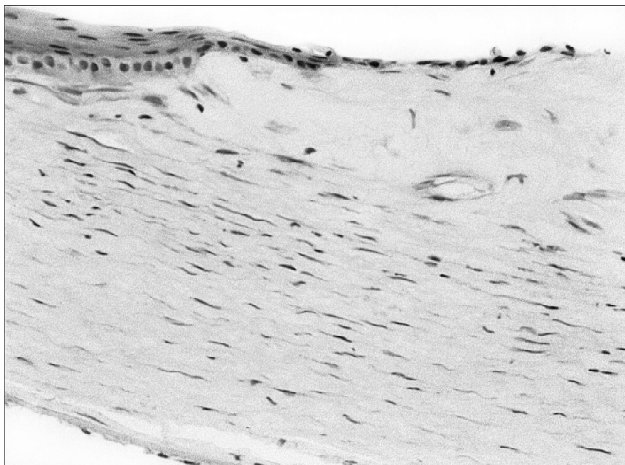


Рис. 5. Гістологічний стан рогівки кроля через 7 днів після експериментальної механічної травми за умов корекції препаратом "Ефіаль". Гематоксилін-еозин. x200.

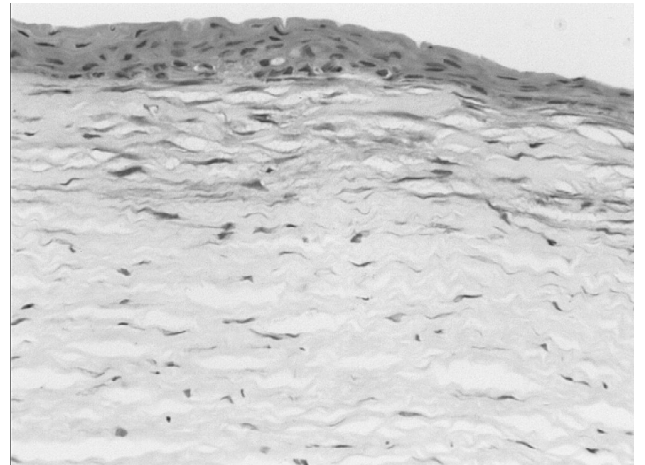


Рис. 6. Гістологічний стан рогівки кроля через 10 днів після експериментальної механічної травми за умов корекції препаратом "Солкосерил". Гематоксилін-еозин. x200.

поверхневій ділянці мала пошкоджені сполучнотканинні

пластинки, які витончені, їх колагенові волокна погано

структуровані. Проте, на відміну від рогівок очей тварин другої групи, спостерігались фібробласти збільшені за розмірами, з потовщеними відростками, крупними ядрами, що характеризує їх активність. Наявна виразна лейкоцитарна інфільтрація та крупні макрофаги в цієї зоні.

Нижче розташована ділянка власної речовини рогівки спостерігався набряк з утворенням подовгастої форми порожнин різних розмірів, проте він був меншим ніж у тварин з не корегованою механічною травмою. Між пластинками власної речовини відмічались фіброцити (рис. 1). У задньому епітелії спостерігалися незначні деструктивні зміни, задня погранична пластинка місцями потовщена, нечітко контурована.

Крайова ділянка рани в цей термін досліджу мала мікроскопічні зміни подібні рогівці ока тварин другої групи. Передній епітелій втрачав упорядковане розташування епітеліоцитів, плазмолемні клітин були нечіткими, каріоплазма ядер базофільна і не включала ядерець. Наявна лейкоцитарна інфільтрація власної речовини рогівки, набряк її не такий значний. Передня погранична пластинка нечітко оконтурована (рис. 2).

Проведені гістологічні дослідження рогівки очей кролів четвертої експериментальної групи через 3 доби після механічної травми за умов корекції "Ефіаль" встановили, що в центральній ділянці відсутній передній епітелій, а власна речовина менше ушкоджена ніж у третьої групи експериментальних тварин. Краще збережені сполучнотканинні пластинки, набряк помірний як і лейкоцитарна інфільтрація. Багато фібробластів чітко орієнтованих, частин їх гіпертрофовані, що сприяє регенерації, загоєнню дефекту. Задній епітелій був збережений, а задня погранична пластинка чітко оконтурована (рис. 3).

Мікроскопічні дослідження рогівки очей кролів третьої експериментальної групи, проведені через 7 діб після механічної травми за умов її корекції препаратом "Солкосерил" показали, що від збереженого переднього епітелію крайової ділянки на рану насуваються молоді епітеліоцити. Регенерат представлений невеликими клітинами з округлими або подовгастої форми ядрами забарвленими базофільно. Під епітелієм ще виявляються набряклі ділянки власної речовини, що включають тонкі пластинки з лізованими волокнами. Проте під новоствореним епітелієм спостерігаються типові фібробласти, що оновлюють пластинки власної речовини. У нижче розташованій ділянці власної речовини, на відміну від рогівок очей тварин другої групи, набряк та лейкоцитарна інфільтрація менш виразні (рис. 4).

За умов корекції механічної травми рогівки препаратом "Ефіаль" у цей термін досліджу відмічається, що структурна організація рогівки подібна третьої групи (корекція "Солкосерил"). Проте, передній епітелій крайової ділянки більш сформований, а від базальних клітин на травмовану ділянку насувається тонкий пласт молодих невеликих епітеліоцитів. Набряк та лейкоцитарна інфільтрація власної речовини рогівки незначні. Вияв-

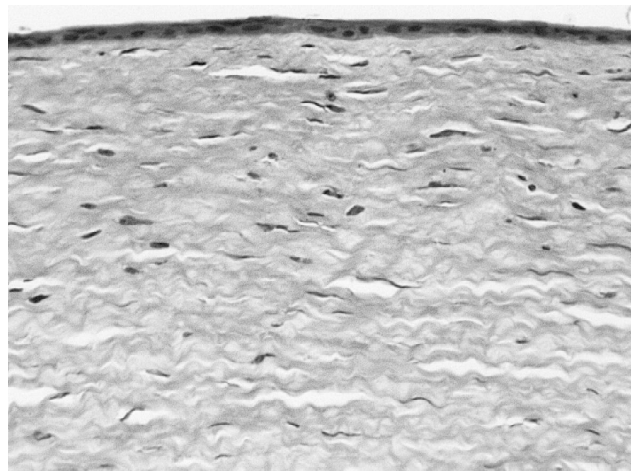


Рис. 7. Гістологічний стан рогівки кроля через 14 діб після експериментальної механічної травми за умов корекції препаратом "Солкосерил". Гематоксилін-еозин. x200.

ляється багато невеликих молодих та більших гіпертрофованих фібробластів. Задня погранична пластинка чітко оконтурована, задній епітелій був збережений (рис. 5).

Проведені мікроскопічні дослідження рогівки очей кролів третьої експериментальної групи у віддалені терміни (10-а, 14-а доби) після механічної травми за умов її корекції препаратом "Солкосерил" показали, що у крайовій ділянці під епітелієм спостерігаються невеликі набряклі ділянки власної речовини, що включають тонкі пластинки та подовгастої форми світлі проміжки. Наявні гіпертрофовані фібробласти, що оновлюють пошкоджену власну речовину (рис. 6).

Центральна пошкоджена механічною травмою ділянка рогівки вкрита тонким епітеліальним шаром клітин, що утворився внаслідок регенерації - мітотичного поділу базальних клітин та насування їх на пошкоджену ділянку. Регенерат формує передній епітелій рогівки, проте він неповноцінний, складається переважно з двох шарів епітеліоцитів. Це невеликі, чітко оконтуровані клітини з базофільними ядрами. Власна речовина рогівки у ділянці дефекту, ще не до кінця оновлена, зберігається набряк та частково пошкоджені сполучнотканинні пластинки (рис. 7).

Мікроскопічні дослідження рогівки очей кролів четвертої експериментальної групи у віддалені терміни (10-а, 14-а доби) після механічної травми за умов її корекції препаратом "Ефіаль" показали, що вся поверхня дефекту вкрита шаром епітеліоцитів. Оновлений передній епітелій складають 2-3 шари клітин з ознаками їх диференціювання на більші - базальні, невеликі - проміжні та плоскі - поверхневі. Епітелій розташований на сформованій передній пограничній пластинці.

Структурна організація власної речовини рогівки за умов застосування препарату "Ефіаль" у кінцеві терміни досліджу також значно покращується. Спостерігається помірний набряк, сполучнотканинні пластинки чітко орієнтовані як і фібробласти подовгастої форми з довгими вузькими відростками (рис. 8, 9).

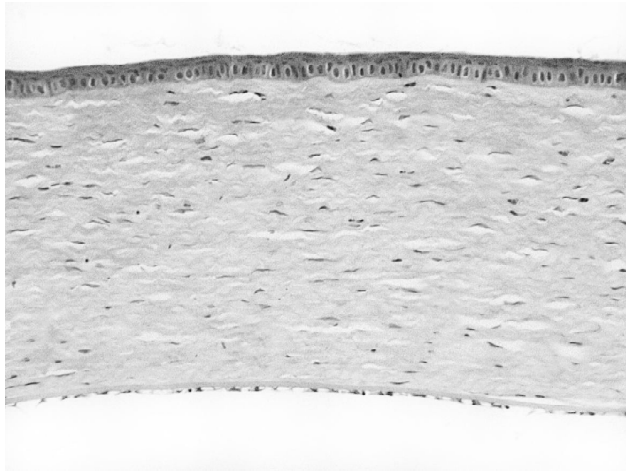


Рис. 8. Гістологічний стан рогівки кроля через 10 днів після експериментальної механічної травми за умов корекції препаратом "Ефіаль". Гематоксилін-еозин. x100.

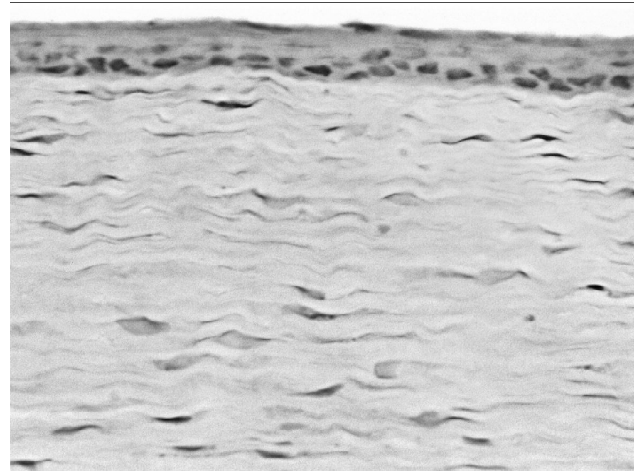


Рис. 9. Гістологічний стан рогівки кроля через 14 днів після експериментальної механічної травми за умов корекції препаратом "Ефіаль". Гематоксилін-еозин. x200.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Застосування препаратів "Солкосерил" та "Ефіаль" вже в ранні терміни (3-я, 7-а доби) експерименту позитивно впливає на стан структурних компонентів рогівки, активізує регенераторні процеси.

2. У пізні терміни (10-а, 14-а доби) "Ефіаль" більш ефективно, ніж "Солкосерил" оновлює пе-

редній епітелій рогівки, передню пограничну пластинку, покращує структурну організацію власної речовини.

Застосування препарату "Ефіаль" пришвидшує регенераторні процеси в структурах рогівки після механічної травми, він може бути рекомендованим для застосування у клінічній офтальмологічній практиці та подальших дослідженнях його дії.

Список літератури

1. Борщевський Г.І. Ранозагоювальна дія препарату "Ефіаль" / Г.І. Борщевський, М.І. Борщевська, Н.Є. Лісничук // Фарм. часопис. - 2013. - №3. - С.29-34.
2. Гундорова Р.А. Пріоритетні напрямки в проблемі очного травматизму / Р.А. Гундорова // Вісник офтальмології. - 2004. - №1. - С.12-15.
3. Егоров Е.А. Клинические лекции по офтальмологии / Е.А. Егоров, С.Н. Басинский. - М.: "ГЭОТАР-МЕД", 2007. - С.70-85.
4. Канюков В.Н. Особенности морфофункциональной реорганизации тканей конъюнктивы и роговицы при экспериментальном моделировании дефекта и замещении его различными видами аллотрансплантатов / В.Н. Канюков, А.А. Стадников, А.А. Горбунов // Актуальные проблемы учения о тканях: материалы науч совещ. - СПб, 2006. - С.50-51.
5. Коваленко В.М. Безпечність препарату Ефіаль, спреї виробництва ВАТ "ФАРМАК" / В.М. Коваленко, Г.І. Борщевський, А.К. Вороніна // Український біофармацевтичний журнал. - 2013. - №6(29). - С.31-36.
6. Максакова О.В. Терапевтична ефективність поліпептидних препаратів у комплексній терапії травматичних пошкоджень рогової оболонки: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Максакова О.В. - Одеса, 2003. - 21с.
7. Маргасюк Д.В. Исследование физико-химических свойств и биологической активности регуляторного белка, выделенного из роговицы глаза быка: автореферат дисс. на соискание учен. степени кандидата биологических наук: 03.00.02, 03.00.25 / Дмитрий Викторович Маргасюк. - Москва, 2007. - 9 07-3/2375 9 07-4/2019.
8. Патент 101235, Україна А 61 К 9/127, А 61 31/56, А 61 Р 17/06. Спосіб отримання фармацевтичної композиції ранозагоючої та регенеруючої дії на основі пептидів термального шару шкіри свиней / Ф.І. Жебровська, Г.І. Борщевський, М.І. Борщевська, В.В. Бігуняк, № а201107335; заявл.10.06.2011; опубл.11.03.2013, Бюл. №5.
9. Репаративная регенерация многослойного эпителия роговицы: биотехнологический потенциал / В.В. Гололобов, И.В. Гайворонский, Р.В. Деев // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. - 2008. - Т.3, №4. - С.55-59.
10. Шипунова А.В. Медико-биологические аспекты конструирования биокератопротезного комплекса с использованием культивированных фибробластов: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.В. Шипунова. - М., 2012. - 25с.
11. Lee Y.C. Immunohistochemical study of subepithelial haze after phototherapeutic keratectomy / Y.C. Lee, I.J. Wang, F.R. Hu, W.W. Kao // J. Refract. Surg. - 2001. - Vol.17, №M3. - P.334-341.
12. Schwab I. Successful transplantation of bioengineered tissue replacements in patients with ocular surface disease / I. Schwab, M. Reyes, R.R. Isseroff // Cornea. - 2000. - Vol.343. - P.421-426.

Нестерук С.В.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ РОГОВИЦЫ ПРИ НЕПРОНИКАЮЩЕЙ МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ ПРИ КОРРЕКЦИИ

Резюме. В работе представлены результаты исследования морфологических изменений роговицы при непроникающей механической ее травме на фоне лечения препаратом "Солкосерил" и низкомолекулярным пептидом "Ефиаль". В резуль-

тате исследования выявлено, что "Ефиаль" более эффективно, чем "Солкосерил" обновляет передний эпителий роговицы, передней пограничную пластинку, улучшает структурную организацию собственной вещества.

Ключевые слова: роговица, экспериментальная механическая травма, низкомолекулярный пептид.

Nesteruk S.V.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE CORNEA BY IMPENETRABLE MECHANICAL TRAUMA OF CONDITIONS AND CORRECTION

Summary. The paper presents the results study of morphological changes in the cornea by impenetrable of mechanical injury during treatment with low molecular weight peptides and "Solcoseryl" "Efial". The study found that "Efial" better than "Solcoseryl" update forward epithelium of the cornea, the front plate boundary, improves the structural organization of their own material.

Key words: cornea, experimental mechanical trauma, low molecular weight peptides.

Рецензент - д.б.н., проф. Волков К.С.

Стаття надійшла 20.12.2016р.

Нестерук Світлана Володимирівна - пошукач кафедри патологічної фізіології ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України"; +38(097)9097398; nesteruk.82@ukr.net

© Апихтіна О.Л.

УДК: [546.48'131+221.1-168]:[612.12:559.323.4]:57.084

Апихтіна О.Л.

ДУ "Інститут медицини праці НАМН України" (вул. Саксаганського, 75, м. Київ, 01033, Україна)

ЗМІНИ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН ПІСЛЯ ЕКСПОЗИЦІЇ ХЛОРИДОМ КАДМІЮ ТА НАНОЧАСТИНКАМИ СУЛЬФІДУ КАДМІЮ РІЗНОГО РОЗМІРУ

Резюме. У статті представлено результати дослідження змін біохімічних показників в сироватці крові щурів лінії Вістар після 30 та 60 внутрішньоочеревинних введень CdCl₂ та наночастинок CdS розміром 4-6 і 9-11 нм у дозі 0,08 мг/кг/добу у перерахунку на кадмій та через 1,5 місяці після припинення експозиції. Виявлені зміни свідчать про порушення білкового, ліпідного та вуглеводного обміну, токсичне ураження печінки, нирок та серця після експозиції досліджуваними сполуками кадмію.

Ключові слова: кадмій, наночастинки, біохімічні показники.

Вступ

Кадмій та його сполуки є глобальними забруднювачами навколишнього середовища [7]. У разі надлишкового надходження в організм в умовах гострої експозиції кадмій спричиняє ураження легень, нирок, печінки, репродуктивних органів, в умовах хронічної експозиції проявляє переважно нефротоксичну, імунотоксичну та остеотоксичну дію [4, 6]. Загалом, сполуки кадмію належить до високотоксичних речовин, характеризуються мутагенною та генотоксичною дією, мають високі кумулятивні властивості, проявляють канцерогенні ефекти [1, 5].

Інтенсивний розвиток нанотехнологій сприяє застосуванню наночастинок (НЧ) у різних галузях промисловості. Кадмієвмісні наноматеріали широко використовуються в електроніці, зокрема у напівпровідникових лазерах, при виготовленні фотоелементів, сонячних батарей, фото- і світло діодів; квантові точки на основі сполук кадмію застосовуються у якості біологічних міток [2, 3]. Впровадження НЧ сполук кадмію у виробництво обумовлює необхідність вивчення механізму їх дії як на клітинному рівні, так і на рівні органів і систем, визначення біомаркерів їх впливу, особливо у порівнянні із іонною формою.

Метою дослідження була порівняльна оцінка змін

біохімічних показників сироватки крові експериментальних тварин після експозиції хлоридом кадмію та НЧ сульфід кадмію різного розміру.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на щурах-самцях статевого віку лінії Вістар вагою 160-180 гр. Утримувались тварини в умовах віварію на стандартизованому харчовому раціоні із вільним доступом до питної водогінної води. Щури були розподілені на 3 дослідні групи та контрольну по 30 тварин у кожній групі. 1-й дослідній групі вводили НЧ CdS розміром 4-6 нм, 2-й - НЧ CdS розміром 9-11 нм, 3-й - CdCl₂; контрольній групі - фізіологічний розчин. Досліджувані сполуки вводили внутрішньоочеревинно щоденно 5 разів на тиждень (моделювання робочого тижня) у дозі 0,08 мг/кг у перерахунку на кадмій. Токсичні ефекти оцінювали після 30 введень (1,5 місяці), 60 введень (3 місяці) та через 1,5 місяці після припинення експозиції. По закінченню дослідного періоду тварин знеживлювали методом декапітації. Одразу відбирали кров для отримання сироватки. Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до положень "Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та