

ТЕОРЕТИЧНА ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

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

Благодаров В. М.,
Черкасов Е. В.

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЕФЕКТІВ ВПЛИВУ ІНФУЗІЙНИХ РОЗЧИНІВ ЛАКТОПРОТЕЇНУ-С ТА НАЕС-LX-5% НА СТРУКТУРУ ТИМУСА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ОПІКОВІЙ ХВОРОБИ У ЩУРІВ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Резюме. В статті наведені дані щодо ефективності протекторних властивостей двох колоїдно-гіперосмолярних розчинів (лактопротеїну-С та НАЕС-LX-5%) при експериментальній опіковій хворобі у щурів. Встановлено, що корекція деструкції клітин тимуса у всі терміни спостереження за умов інфузійної терапії колоїдно-гіперосмолярними розчинами значно переважає таку при інфузії 0,9% розчину NaCl.

Ключові слова: опікова хвороба, інфузійні розчини, тимус, електронна мікроскопія.

Вступ

Проблеми, пов'язані з лікуванням опікової хвороби, були і залишаються актуальними для комбустіологів. На сьогодні доведена [4] ефективність інфузійної терапії опікової хвороби колоїдно-гіперосмолярними розчинами дезінтоксикаційної, реологічної, енергетичної та протишокової дії. Актуальність даного дослідження обумовлена тим, що до цього часу структурні зміни тимуса при опіковій хворобі за умов її лікування шляхом інфузії колоїдно-гіперосмолярних розчинів не були предметом спеціальних досліджень.

Метою даного дослідження стало вивчення структурних змін тимуса при експериментальній опіковій хворобі у щурів за умов її лікування шляхом внутрішньовенної інфузії колоїдно-гіперосмолярних розчинів лактопротеїну – С та НАЕС-LX-5%.

Матеріали 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 пре-

парату – "Лактопротеїн – С") було виконано на 90 щурах-самцях лінії Вістар масою 155–160 грам.

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)".

Тварини були розділені на 7 груп: I – інтактні тварини; II, III, IV – щури без термічної травми, яким проводилась окрема інфузія 0,9% розчину NaCl, НАЕС-LX-5% та лактопротеїну-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 экс-

позиції 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 щури-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 можли-

вим 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.

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 лактопротеїном-С суттєво перешкоджала загибелі тварин упродовж усього спостереження.

Забір матеріалу проводився під наркозом. У тварин після декапітації робили розтин грудної порожнини і вирізали за допомогою леза не-

Таблиця 1

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

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

Таблиця 2

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

Умови досліду	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:

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

ликі шматочки тимуса. Матеріал для морфологічних досліджень обробляли за загальноприйнятною методикою.

Ультратонкі зрізи готували на ультрамікромомі "LKB", і вивчали та фотографували на електронному мікроскопі ПЕМ-125К. Напівтонкі зрізи забарвлювали толудіновим синім, вивчали та фотографували за допомогою світлового мікроскопа Olympus Vx15.

Експеримент був здійснений на базі Науково-дослідного центру (директор – професор І.В.Гунас) Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова. 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

Нами встановлено, що на етапах розвитку опікової хвороби частина клітин тимуса гине шляхом апоптоза, некроза, апонекроза, зрговіння, мітотичної катастрофи та макроавтофагії [1, 2, 5]. З'ясовано також, що введення лактопротеїну – С і НАЕС-LX-5% гальмує структурні прояви клітинної загибелі та чинить вплив на цитоархітектоніку тимуса.

Для тимуса шурів 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 показника летальності) найбільш характерним загальним проявом патоморфологічних змін була альтерація

функціонально різних клітин органа та стінок судин гемомікроциркуляторного русла на тлі виразного міжклітинного та паравазального набряку (рис. 1; рис. 2).

Характерним для зазначених тварин було розширення просвіту артеріол тимуса та поява біля їх стінок мастоцитів (тучних клітин), які мали ознаки дегрануляції і, навіть, руйнації цитоплазми (рис. 1). Реакція розслаблення м'язів судинної стінки описана у науковій літературі, як типова при дії гістаміну мастоцитів [6]. Відомо, що мастоцит продукує також гепарин, протеази, хімази, певні цитокіни, що дає змогу розглядати його у якості мультимодального ефектора і чинника підвищення судинної проникності та розвитку запального процесу.

Просвіт венул тимуса також був розширеним і заповненим великою кількістю варіабельних за формою і різноманітних за щільністю цитоплазматичного матрикса еритроцитів (рис. 2).

У цей період у зонах безпосереднього прилягання мастоцитів до стінки кровоносних капілярів спостерігається набряк ендотеліоцитів, їх парціальний і тотальний некроз, відбувається потоншення та локальна руйнація базальної мембрани (рис. 3). У стінці деяких кровоносних капілярів ендотеліальне покриття стає тонким, в ділянках простих за формою і невеликих за довжиною міжендотеліальних контактів з'являються розширені міжендотеліальні щілини або трансендотеліальні канали, які в зонах відповідних до них локусів руйнації базальної мембрани мають вигляд наскрізних трансмуральних дефектів (рис. 4).

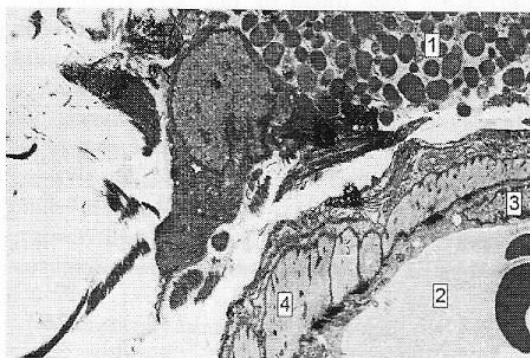


Рис. 1. Дегрануляція мастоцита і розширення просвіту артеріоли тимуса через 3 доби розвитку опікової хвороби за умов введення 0,9% розчину NaCl. 1 – гранули мастоцита; 2 – просвіт артеріоли; 3 – ядро ендотеліоцита; 4 – цитоплазма м'яцита стінки артеріоли. Зб. 6000

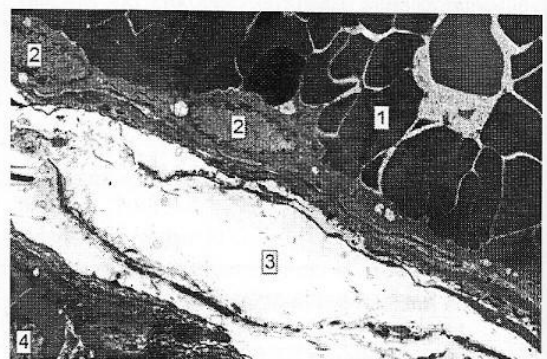


Рис. 2. Стаз еритроцитів у просвіті венули тимуса шура через 3 доби розвитку опікової хвороби за умов введення 0,9% розчину NaCl. 1 – еритроцит у просвіті венули; 2 – ядро ендотеліоцита; 3 – просвітлений матрикс набряклої паравазальної сполучної тканини; 4 – ядро тимоцита. Зб. 6000

Описані трансмуральні дефекти разом з прилеглими і розширеними (у результаті розвитку набряку) міжклітинними просторами часточок тимуса є місцями протікання і внутрішньоорганного проникнення плазми та клітин крові, що призводить до прогресування набряку та до появи крапкових крововиливів і паравазальних зон некрозу клітин (рис. 5). В таких зонах можна спостерігати також скупчення плазмоцитів, що свідчить про суттєве порушення гематотимічного бар'єру [3].

Визначені нами вище особливості розвитку набряку в тимусі 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 міжендотеліальні щілини та трансендотеліальні канали) та сформовані трансмуральні дефекти терміном "протіканнями", а потенційні шляхи міжклітинного внутрішньоорганного розповсюдження плазми крові – терміном "проникнення".

Слід зазначити, що у щурів з опіковою травмою шкіри, яким за схемою експерименту був введений лактопротеїн-С в капсулі та часточках тимуса в значній кількості виявляються мастоци-

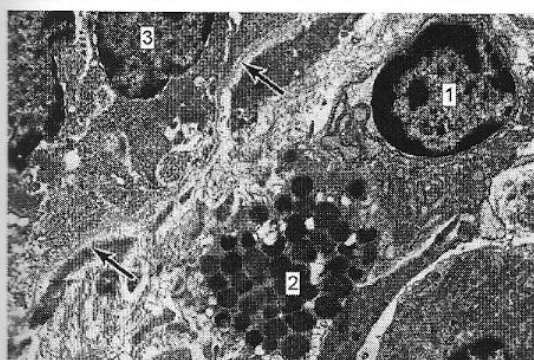


Рис. 3. Утворення та екструзія гранул мастоцита, розташованого біля стінки кровоносного капіляра тимуса щура через 3 доби розвитку опікової хвороби за умов введення 0,9% розчину NaCl. Стрілочками відмічено частково збережена базальна мембрана кровоносного капіляра. 1 – ядро мастоцита; 2 – гранули мастоцита; 3 – ядро ендотеліоцита зі зруйнованою цитоплазмою. $\times 36.000$

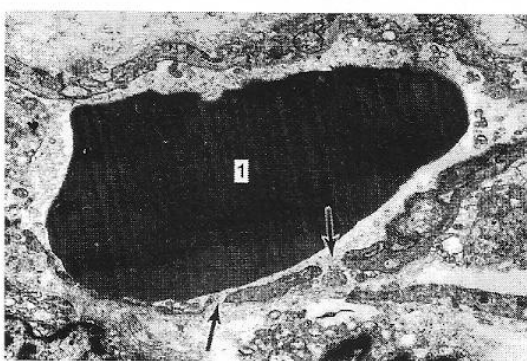


Рис. 4. Утворення наскрізних дефектів (трансендотеліальних каналів та відповідних до них локусів зникнення базальної мембрани) в стінці кровоносного капіляра тимуса щура через 7 днів розвитку опікової хвороби за умов введення 0,9% розчину NaCl. Стрілочками відмічені наскрізні дефекти кровоносного капіляра. 1 – еритроцит у просвіті кровоносного капіляра. $\times 36.000$

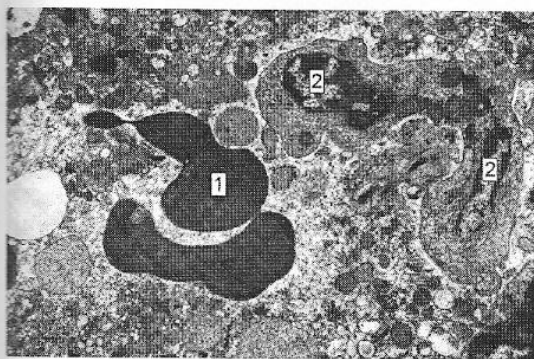


Рис. 5. Крапковий крововилив та зона некроза в тимусі щура через 7 днів розвитку опікової хвороби за умов введення 0,9% розчину NaCl. 1 – структурно збережений еритроцит в осередку клітинного детриту; 2 – ядро двоядерного тимоцита. $\times 36.000$

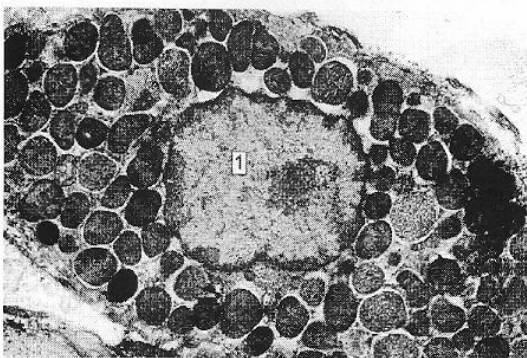


Рис. 6. Мастоцит в тимусі щура через 3 доби розвитку опікової хвороби за умов введення лактопротеїну-С. 1 – ядро мастоцита. $\times 36.000$

ти типової будови (рис. 6). В їх цитоплазмі розташовуються специфічні гранули різноманітної, частіше сферичної форми. Ці гранули оточені мембраною і заповнені дрібнозернистою речовиною, щільність якої варіює в окремих гранулах від помірної до високої. Вміст деяких гранул неоднорідної (включає щільні часточки, занурені у більш світлий матрикс). Мастоцити характеризуються, як правило, непошкодженою плазмолемою. При цьому можна бачити дрібні перигранулярні везикули, які поодинокі (або утворюючи ланцюжки) здійснюють транспорт речовин з мастоцита назовні.

У щурів з опіковою травмою, яким за схемою експерименту були введені гіперосмолярні розчини (VI та VII групи тварин), в тимусі 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 лактопротеїну-С пов'язані з доволі специфічною і до теперішнього часу не описаною мембранопластичною дією цього препарату.

Вже через 3 доби в тимусі тварин з опіковою травмою, яким був введений лактопротеїн-С (VII експериментальна група), навколо кровоносних судин та в зоні базальної мембрани судинної стінки відзначене (рис. 7) 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 електроннограмах відрізняється від розташованого у судинному просвіті лактопротеїну-С, який візуально є гомогенним і аморфним.

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

Складові лактопротеїну-С, що потрапили у

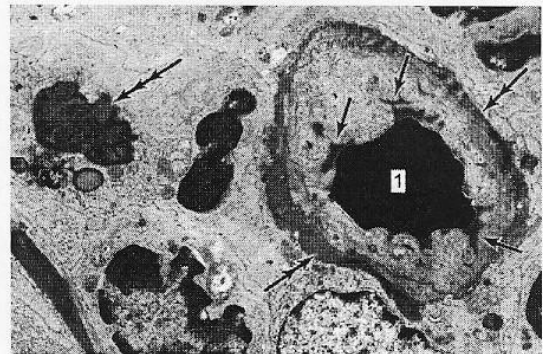


Рис. 7. Розташування електроннощільного вмісту судинного просвіту в заглибинах люмінального контура ендотеліоцитів (відмічене одинарними стрілочками), нерівномірне накопичення гетероморфного електроннощільного матеріалу (відмічене подвійними стрілочками) в зоні базальної мембрани кровоносного капіляра та формування специфічних мембраноподібних структур в тимусі щура через 3 доби розвитку опікової хвороби за умов введення лактопротеїну-С. Потрійною стрілочкою відмічений фагоцитований гетероморфний матеріал в цитоплазмі паравазального макрофага. 1 – еритроцит у просвіті кровоносного капіляра. 36. 10000

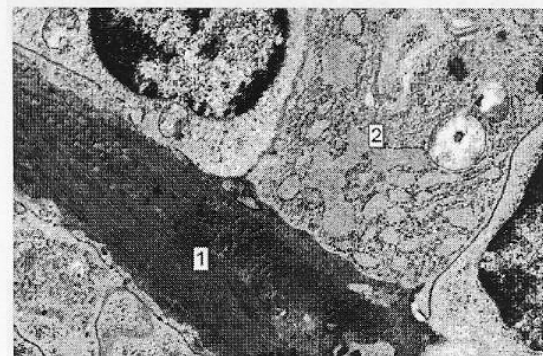


Рис. 8. Формування специфічної мембраноподібної структури тимуса щура через 7 доби розвитку опікової хвороби за умов введення лактопротеїну-С. 1 – специфічна мембраноподібна структура. 2 – розширені каналці гранулярної ендоплазматичної сітки в цитоплазмі епітеліоретикулоцита. 36. 32000

судинну стінку та розповсюдилися через "проникнення" паравазально, частково підлягають фагоцитозу з боку макрофагів (рис. 7), а частково модифікуються за рахунок синтезуючої діяльності прилеглих епітеліоретикулоцитів (рис. 8). Про останнє свідчать ознаки активації органел синтетичного апарату паравазальних епітеліоретикулоцитів (більшою мірою розширення розга-

лужених каналців гранулярної ендоплазматичної сітки та їх заповнення пілоподібним вмістом середньої електронної щільності). Результатом співдружної діяльності ендотеліоцитів, макрофагів та епітеліоретикулоцитів є формування специфічних мембраноподібних структур в тимусі щурів тільки і винятково VII експериментальної групи. Ці специфічні мембраноподібні структури складаються з паралельних пучків фібрил, розмішених в щільному аморфному матриці (рис. 8).

За рахунок міжклітинного просякнення компонентів лактопротеїну-С і утворення мембраноподібних структур судинна стінка деяких кровоносних капілярів стає багатопоровою (рис. 9). З огляду на те, що до стінки кровоносних капілярів тимуса у нормі прилягають навколосудинні епітеліоретикулоцити, можна вважати, що саме вони (разом з ендотеліоцитами та перицитами) перетворюються на інтрамуральний клітинний компонент коллоїдальної мембраноподібної структури. 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 (рис. 10). Не виключено, що у подібних кровоносних капілярів опорна (каркасна) функція переважає транспортну. Зважаючи на практичну відсутність просвіту та можливу ригідність (негнучкість) багатопорової стінки (яка не може забезпечити розширення судинного просвіту), можна припустити, що ці судини (як шляхи коаксiального транспорту та трансмуральної міграції тимоцитів) включаються з кола шляхів рециркуляції тимоцитів.

Специфічні мембраноподібні структури в тимусі не є тимчасовими реактивними утворами в тимусі, що зникають через деякий час після інфузії лактопротеїну-С (остання здійснюється лише упродовж 7 діб). Окремі описані специфічні мембраноподібні структури об'єднуються і відокремлюють групи (кластери) клітин, сприяють їх ізоляції від решти клітин тимуса та, можливо, забезпечують їх захист від шкідливих впливів цитотоксичних чинників. Тимоцити, що об'єднані у кластери (по 3–12 клітин), характеризуються збереженістю структур цитоплазми та ядра (рис. 11).

Через 21 та 30 діб експерименту специфічні мембраноподібні структури в судинній стінці (рис. 12), в кірковій та мозковій речовині часточок тимуса, утворюють розгалужений мембраноподібний комплекс, в комірках якого локалізовані клітини тимуса, що мають типові ознаки морфологічної норми.

Частина відгалужень мембраноподібного комплексу у цей період оточується підково-

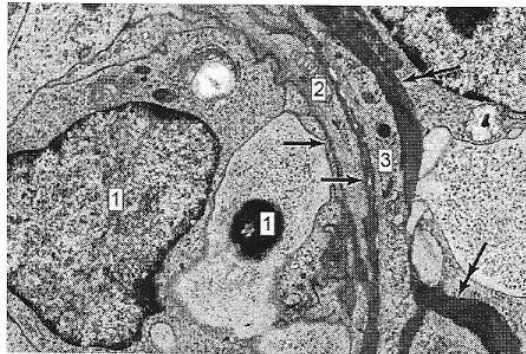


Рис. 9. Утворення мембраноподібних структур (відмічені одинарними стрілочками) і формування багатопорової судинної стінки кровоносного капіляра в тимусі щура через 14 діб розвитку опікової хвороби за умов введення лактопротеїну-С. Подвійними стрілочками відмічені відгалуження мембраноподібних структур і місця їх розподілу поза межами судинної стінки. 1 – ядро ендотеліоцита; 2 – цитоплазма перицита; 3 – цитоплазма епітеліоретикулоцита, долученого до складу судинної стінки. 36. 20000

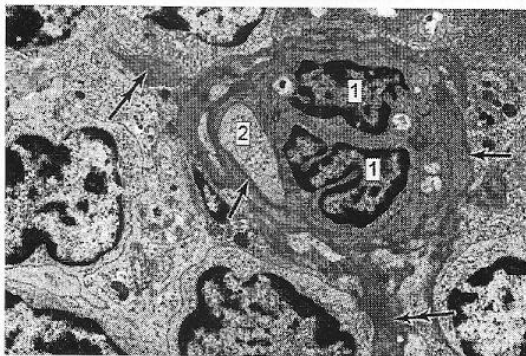


Рис. 10. Кровоносний капіляр зі замкненим судинним просвітом в тимусі щура через 21 діб розвитку опікової хвороби за умов введення лактопротеїну-С. Одинарними стрілочками відмічені мембраноподібні структури судинної стінки; подвійними стрілочками відмічені їх відгалуження. 1 – ядро ендотеліоцита; 2 – цитоплазма епітеліоретикулоцита, долученого до складу судинної стінки. 36. 10000

подібно або колоподібно цитоплазмою окремих епітеліоретикулоцитів, що, іноді, нагадує картину внутрішньоклітинного розташування овальних, полігональних і пластинчастих за формою поперечного перерізу відгалужень (рис. 13). 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 тимуса при опіковій травмі є довоготривалим, але парадоксальним. Парадокс дії лактопротеїну-С полягає у тому, що клітини тимуса в комірках мембраноподібного комплексу упродовж усього терміну після опікової травми залишаються структурно збереженими у той час, коли цитоархітекtonіка тимуса стає істотно іншою.

Між тим, саме упорядковане розташування клітин (цитоархітекtonіка) за усталеною точкою зору [3] забезпечує можливість необхідного для функціонування кожної клітини тимуса молекулярного комунікаційного діалогу. Загальновідомо, що епітеліоретикулоцити виконують функцію "епітеліального каркасу" (кіркова та мозкова клітинні сітки) і є джерелом сигналів для тимоцитів, що реалізуються за рахунок прямих клітинних контактів. 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 "епітеліаль-

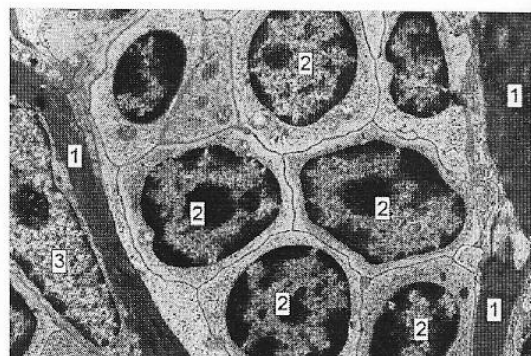


Рис. 11. Кластер тимоцитів, оточений специфічною мембраноподібною структурою, в тимусі щура через 14 діб розвитку опікової хвороби за умов введення лактопротеїну-С. 1 – специфічна мембраноподібна структура. 2 – ядро тимоцита. 3 – ядро епітеліоретикулоцита. 36. 12000

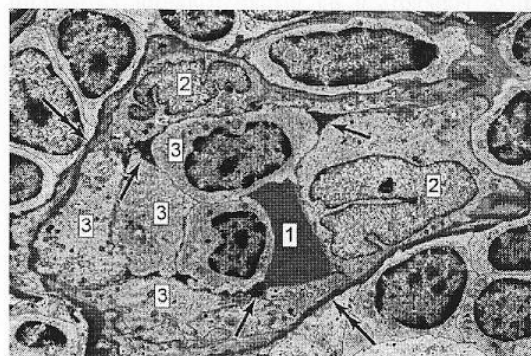


Рис. 12. Специфічна мембраноподібна структура в стінці посткапілярної венули з високим ендотелієм тимуса щура через 21 добу розвитку опікової хвороби за умов введення лактопротеїну-С. Одиначками стрілочками відмічена мембраноподібна структура між високими ендотеліоцитами. Подвійними стрілочками відмічена мембраноподібна структура в зоні базальної мембрани венули. 1 – еритроцит у просвіті венули; 2 – ядро високого ендотеліоцита; 3 – цитоплазма високого ендотеліоцита. 36. 6000

ний 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 підлеглої матриксу для епітеліоретикулоцитів (які повинні налагодити порушені міжклітинні молекулярні взаємодії).

Логічно 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 тимуса є структурно збереженою, а показники летальності (табл. 2) відносно контролю є суттєво зменшеними. У той же час "нова цитоархітекtonіка" тимуса 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 конструкторних елементів) складових, що визначає появу "нової цитоархітекtonіки" тимуса. Цілком логічно буде стверджувати, що цей "каркас" є також своєрідно структурованим "сховищем" запасів нутрієнтів, що забезпечують живлення клітин тимуса за умов притаманного опіковій хворобі гіперметаболізму. У міру необхідності клітини тимуса мають змогу одержати певні порції накопичених у міжклітинних просторах "харчових запасів", що, наприклад, гальмує розвиток макроавтофагії як явища "self-eating and self-killing". Варто підкреслити, що одним з відомих [7] чинників макроавтофагії є нестача поживних речовин і наступне клітинне голодування. Саме у цьому, на нашу думку, полягає особливість біохімічного впливу лактопротеїну-С та HAES-LX-5% як комплексу речовин, що гальмують генералізовану катаболічну реакцію в тимусі і діють як протектори і речовини, що сприяють репарації клітин.

Крім того, застосування вивчених гіперсморлярних розчинів виключає некроз клітин як окремого типу клітинної загибелі і як складової апо-некрозу. Особливо важливим, у цьому сенсі, є збереження структурної цілісності макрофагів і мастоцитів (і тим самим збереження контролю над виділенням ними факторів запалення) та повнення кислотно – лужної рівноваги (постійна підтримка якої забезпечується тривалою персистенцією залужнюючих субстратів, що потрапили до складу "нового сполучнотканинного каркасу").

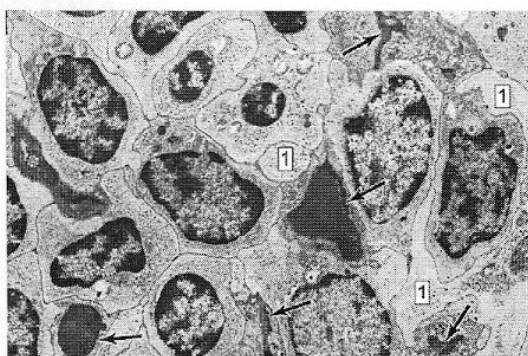


Рис. 13. Відгалуження мембраноподібного комплексу (відмічені одинарними стрілочками), що оточені цитоплазмою епітеліоретикулоцитів, в тимусі щура через 21 добу розвитку опікової хвороби за умов введення лактопротеїну-С. 1 – цитоплазматичні відростки дендритних клітин. Зб. 10000

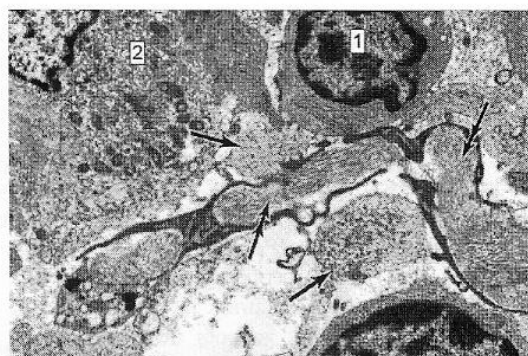


Рис. 14. Ремодельовання міжклітинного матриксу в тимусі щура через 14 днів розвитку опікової хвороби за умов введення HAES-LX- 5%. Одинарними стрілочками відмічені вільні "складні" скупчення у міжклітинному матриксу; подвійними стрілочками відмічено "складні" скупчення, що оточені відростками епітеліоретикулоцитів. 1 – ядро тимоцита; 2 – цитоплазма епітеліоретикулоцита. Зб. 30000

Слід підкреслити, що за умов застосування лактопротеїну-С нам вдалось найкращим чином візуалізувати і дослідити зазначені процеси, але є морфологічно засвідчені підстави вважати, що дія HAES-LX-5% реалізується за таким же сценарієм.

Складові HAES-LX-5% визначаються в тканині тимуса як дифузний дрібно гранулярний матеріал середньої електронної щільності, що іноді утворює міжклітинні скупчення. У деяких випадках ці скупчення є "складними": мають вигляд

розташованих у аморфній речовині дрібних, але різноманітних за розмірами та електронною щільністю, гранул та дрібних фібрил. Деколи ці "складні" скупчення оточуються відростками епітеліоретикулоцитів (рис. 14). Відростки епітеліоретикулоцитів майже повністю вкривають "складні" міжклітинні скупчення і формують навколо них ажурну обгортку. Сімбіотичні взаємодії між трансформованим (описаним чинном) підлеглим позаклітинним матриксом та епітеліоретикулоцитами, ймовірно, віддзеркалюють процеси, що забезпечують підтримку гомеостазу в тимусі. У цьому випадку, бар'єрна функція епітеліоретикулоцитів спрямована на ізоляцію матеріалу позатимусного походження.

Якщо розглядати описані структурні зміни тимуса при опіковій хворобі за умов дії застосованих колоїдно-гіперосмолярних розчинів як прояви довготривалої адаптації, то слід визнати наявність її двох чітко окреслених фаз: 1) функціональної адаптації (1 – 3 доба експерименту), під час якої відбувається тільки протекція, деструкція та репарація клітин; 2) трофопластичної адаптації (7 – 30 доба експерименту), під час якої відбувається формування "нового сполучнотканинного каркасу" та "нової цитоархітекtonіки" тимуса.

Узагальнюючи можна сказати, що терапевтична дія застосованих гіперосмолярних розчинів в умовах появи зон "протікання" та "проникнення" в тимусі при опіковій хворобі не обмежується ефектами (дезінтоксикаційним, реологічним, протишоковим) їх власне інфузійного впливу, але й проявляється їх цитопротекторним та ангіопротекторним ефектами, що обумовлені можливостями залучення компонентів розчинів для репаративних (а в широкому сенсі: трофопластичних) потреб органу.

Висновки

1. Загальним проявом патоморфологічних змін в тимусі при опіковій хворобі є альтерація функціонально різних клітин органа та стінок судин гемомікроциркуляторного русла на тлі виразного паравазального та міжклітинного набряку. Суттєвим чинником розвитку набряку в тимусі при опіковій хворобі є утворення наскрізних трансмуральних дефектів у стінці крово-

носних судин ("протікань") і відповідних внутрішньоорганичних міжклітинних розширень ("проникнень"), маркером яких є електроннощільний лактопротеїн-С. Лактопротеїн-С та HAES-LX-5% при опіковій хворобі проявляють цито- та ангіопротекторні властивості, гальмують розвиток набряку, попереджають альтерацію клітин тимуса і сприяють репарації органу.

2. 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. Ці структури відрізняються гетерогенністю і гетероморфністю, і є результатом активної переробки та/або модифікації компонентів лактопротеїну-С за рахунок синтезуючої активності клітин судинної стінки і епітеліоретикулоцитів, а також за рахунок фагоцитарної активності макрофагів.
3. Поява при опіковій хворобі системи мембраноподібних структур в тимусі (за умов застосування інфузії лактопротеїну-С) призводить до розвитку "нового сполучнотканинного каркасу" та появи "нової цитоархітекtonіки" тимуса (конформативних змін стінки судин гемомікроциркуляторного русла, відокремлення та ізоляції кластерів клітин тимуса).
4. Динамічні морфологічні часові та просторові зміни описаного "нового сполучнотканинного каркасу" не тільки визначають цитоархітекtonічне ремоделювання тимуса при опіковій хворобі за умов інфузії лактопротеїну-С та HAES-LX-5%, але й свідчать про його значення як структурованого (у вигляді "істивного дерева") сховища запасів нутрієнтів, що забезпечують тривале (понад 3 тижні) живлення клітин і гальмують макроавтофагію та некроз, які пов'язані з клітинним голодуванням.

Перспектива 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.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭФФЕКТОВ ВЛИЯНИЯ ИНФУЗИОННЫХ РАСТВОРОВ ЛАКТОПРОТЕИНА-С И НАЕС-LX- 5% НА СТРУКТУРУ ТИМУСА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЖОГОВОЙ БОЛЕЗНИ У КРЫС

Благодаров В. Н., Черкасов Э.В.
Национальный медицинский университет имени А.А.Богомольца

Резюме. В статье приведены данные об эффективности протекторных свойств двух коллоидно-гиперосмолярных растворов (лактопротеина-С и НАЕС-LX- 5%) при экспериментальной ожоговой болезни у крыс. Выяснено, что коррекция деструкции клеток тимуса во все сроки наблюдения при инфузионной терапии коллоидно-гиперосмолярными растворами значительно превосходит такую при инфузии 0,9% раствора NaCl.

Ключевые слова: ожоговая болезнь, инфузионные растворы, тимус, электронная микроскопия.

COMPARATIVE EFFECTS OF INFUSION SOLUTIONS LACTOPROTEIN-S AND HAES-LX-5% ON THE THYMIC STRUCTURE DURING EXPERIMENTAL BURN DISEASE IN RAT

Blagodarov V. N., Cherkasov E.V.
O.O. Bohomolets National Medical University

Abstract. The article presents data in relation to the effectiveness of protective characteristics of two colloid-hyperosmolar solutions (lactoprotein-S and HAES-LX-5%) during experimental burn disease in rat. It was shown that the correction of thymic cells destruction in all terms of observation under the condition of infusion therapy by colloid-hyperosmolar solutions was much superior than under the condition of infusion therapy by 0,9% solution of NaCl.

Key words: burn disease, infusion solutions, thymus, electronic microscopy.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Благодаров В. М. Типи клітинної смерті в тимусі шурів при опіковій хворобі та її терапевтичному лікуванні / В. М. Благодаров, Е. В. Черкасов, О. В. Благодарова // Biomedical and Biosocial Anthropology. - 2011. - №16. - С. 64-68
2. Благодаров В.М. Автофагія у динаміці клітинної смерті в тимусі при опіковій хворобі та її лікуванні в експерименті / В.М. Благодаров, Е.В. Черкасов, О.В. Благодаров // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. - 2011. - Т. 10, №2 - С. 47 - 50.
3. Кветной И.М. Нейроиммуноэндокринология тимуса / И.М. Кветной, А.А. Ярыгин, В.О. Полякова, И.В. Князькин. - СПб: Издательство ДЕАН, 2005. - 160 с.
4. 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.
5. Черкасов Е.В. Апонекроз в тимусі шурів при опіковій хворобі та її терапевтичному лікуванні / Е.В. Черкасов // Науковий вісник Ужгородського університету, серія "Медицина". - 2011. - випуск 40. - С. 170 - 174.
6. Pejler G. Mast cell proteases: multifaceted regulators of inflammatory disease / G. Pejler, E. Ronnberg, I. Waern, S. Wernersson // Blood. - 2010. - Vol. 115. - P. 4981-4990.
7. Jang Z. Eaten alive: a history of macroautophagy / Z. Jang, D.J. Klionsky // Nat. Cell. Biol. - 2010. - Vol. 12 - P. 814 - 822.