

спостерігалася повна відсутність сперматогоній, окрім стовбурових. Канальці виглядали такими, що запустили через зменшення кількості клітин, просвіти збільшені, в них можна побачити тільки скупчення білкового детриту. На 22-й день виявилася повна відсутність сперматогоній, що диференціюються і диференційованих, навіть при збереженні інших шарів епітелію, а в деяких канальцях сперматогоній епітелій повністю відсутній. Проте на 32-й день відбулося практично повне відновлення сперматогенного епітелію.

Рівень тестостерону в сироватці крові у самців I групи на 12-й день після останньої ін'єкції адрибластину був 100 нмоль/л, що становило 61 % відносно контролю, і прогресивно зменшувався в кожній досліджуваній строк: на 22-й день до 95 нмоль/л, на 32-й день до 76,7 нмоль/л (58 % та 46 % відповідно відносно контролю).

Можна помітити, що для I групи, де для покриття самок використовувались інтактні самці,  $I_p$  та середня кількість плодів в посліді майже не відрізнялися від таких контрольної групи. В цей самий час, у II групі ці показники фертильної функції були значно менше ніж у контролі. Це свідчить про те, що у самців, які підлягали впливові адрибластину, спостерігається зниження здатності до відновлення. Підтвердженням даної думки є результати вимірювання рівня тестостерону: прогресивне зменшення протягом місяця спостережень. Якщо зіставити вищенаведені дані з результатами морфологічних досліджень, що ми їх проводили, то вириковується чітка картина морфофункціональної неспроможності репродуктивної системи самців за умов впливу адрибластину. Відомо, що адрибластин діє на клітини, де відбувається активний процес синтезу РНК [6]. В умовах токсичної дії зовнішніх факторів стовбурові сперматогонії починають активний поділ. Тому на 32-й день експерименту спостерігаються ознаки майже повної регенерації сперматогенного епітелію, хоча рівень тестостерону залишається дуже низьким, тобто повного відновлення морфофункціонального стану яєчок не відбувається. Слід зазначити, що виразних змін в здатності до запліднення та плодючості самок після введення адрибластину не було. Це підтверджує існуючі дані про більшу стійкість гамет са-

мок до зовнішніх подразників порівняно з самцями [3]. Швидше за все, це явище обумовлене більшою щільністю та меншим проникненням гематофолікулярного бар'єру.

#### Висновки і перспективи подальших досліджень

1. Здатність до запліднення та кількість плодів у самок після спарювання з самцями, що отримували адрибластин в сумарній дозі 2 мг/кг, виявлялися меншими порівняно з контролем.

2. Здатність до запліднення та кількість плодів у самок, що отримували адрибластин в сумарній дозі 2 мг/кг, після спарювання з інтактними самцями майже не відрізнялися від таких в контролі.

3. Морфологічна картина, що ми її спостерігаємо в гонадах самців після введення адрибластину, корелює з виявленими порушеннями репродуктивної функції.

4. Зміни морфофункціонального стану репродуктивної системи самців мишей після ураження адрибластином показують можливість використання даного препарату для моделювання вторинного гіпогонадізму у самців експериментальних тварин.

Подальші роботи дозволять виявити можливість корекції виявлених змін за допомогою протекторних та метаболічних препаратів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. Т.2. – 14-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: ООО "Издательство новая Волна", 2000. – 608 с.
2. Райцина С.С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции. М.: Наука, 1985. – 206 с.
3. Светлов П.Г. Физиология (механика) развития: В 2-х т. Т.II. Внутренние и внешние факторы развития / Ленинград «Наука», 1978. – 263 с.
4. Холодкова Е.Л., Пыхтеев Д.М., Щербатюк А.Л. Создание у крыс патогенетически обоснованной модели кардиомиопатии // Патология, 2005. - Т.2. - №.2. – С.76-78.
5. Grudzinskas J.G., Yovich J.L. Gametes – the spermatozoon // Cambridge University Press, 1995. – 307 p.
6. Kraus-Berthier L. et al. Histology and sensitivity to anticancer drugs of two human non-small cell lung carcinomas implanted in the pleural cavity of nude mice // Clin. Cancer Res. – 2005. – P. 297-304.
7. Zaporozhan V.N., Kholodkova E.L., Pykhteyev D.M., Perepelyuk N.N. Influence of G-CSF on the state of visceral organs in acute toxic affection // The International Journal of Artificial Organs. – 2005. – Vol. 28, № 9. – P. 935.

Сафин Р.Я.

### ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ ТРУПНОЙ КРОВИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДАВНОСТИ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ

Челябинская государственная медицинская академия

ЗАСТОСУВАННЯ ІМУНОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ЛЕЙКОЦИТІВ ТРУПНОЇ КРОВІ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ДАВНОСТІ НАСТАННЯ СМЕРТІ – Вивчена динаміка зміни фагоцитарної функції нейтрофільних лейкоцитів трупної крові, забраної із порожнин серця шурів, в перші 3 доби після настання смерті. Проаналізована залежність швидкості зміни фагоцитарної функції нейтрофілів трупної крові.

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ ТРУПНОЙ КРОВИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДАВНОСТИ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ – Изучена динамика изменения фагоцитарной функции нейтрофильных лейкоцитов трупной крови, забранной из полостей сердца крыс, в первые 3 суток после наступления смерти. Проанализирована зависимость скорости изменения фагоцитарной функции и температуры среды, при которой находились трупы крыс. После наступления смерти происходит постепенное снижение показателей фагоцитоза. В ходе исследования выявлено влияние температуры среды на скорость изменения фагоцитарной функции нейтрофилов трупной крови.

USE OF IMMUNOLOGICAL RESEARCH METHODS OF NEUTROPHIL LEUCOCYTES OF CADAVERIC BLOOD FOR ESTIMATING THE TIME OF DEATH – The dynamics of phagocytic function change of neutrophil leucocytes of cadaveric blood

taken from the cavities of the rat hearts in first three days after the death was studied. The dependence between speed of phagocytic function change and temperature of environment was analyzed. After death gradual lowering of phagocytosis values occurred. In investigation we revealed the influence of environment temperature on speed of phagocytic function change in neutrophil leucocytes of the cadaveric blood.

**Ключові слова:** давність настання смерті, діагностика, нейтрофільні лейкоцити.

**Ключевые слова:** давность наступления смерти, диагностика, нейтрофильные лейкоциты.

**Key words:** time of death, diagnosis, neutrophil leucocytes.

**Актуальность проблемы** Организм представляет собой систему, элементами которой являются клетки. Одним из свойств этой системы является ее смерть. Смерть организма – постепенно протекающий процесс, который имеет как свои особенности при различной патологии, так и некоторые общие закономерности. На современном этапе разви-

тия науки пришло понимание, что организм как целое перестает существовать раньше прекращения жизнедеятельности каждой из своих частей. Таким образом, биологическая система гибнет как система раньше, чем полностью истощаются материальные ресурсы ее составных элементов [6].

Установление давности наступления смерти входит в число самых актуальных проблем судебной медицины. Оценка состояния клеток после смерти организма возможна как по качественным показателям (структурные изменения), так и количественным (изменения активности тех или иных функций клеток).

**Анализ последних исследований и публикаций**

Достаточно большое количество работ посвящено исследованию структурно-функциональных изменений в клетках крови, в частности нейтрофильных лейкоцитах, так как они обладают высокой функциональной активностью и обязательно реагируют на экзогенные и эндогенные изменения параметров среды [1, 2, 3, 4, 5, 7, 8]. Известно, что в периоде агонии и после смерти происходит нарушение гомеостаза (изменяются концентрации газов и многих химических элементов крови), в этих условиях нейтрофилы реагируют изменением своей активности [9]. Однако, в работах, посвященных исследованию процессов происходящих в нейтрофильных лейкоцитах после наступления смерти организма, нет данных о зависимости изменения различных функций нейтрофилов в зависимости от давности наступления смерти при различных температурных условиях окружающей среды, в которой находится труп.

**Цель работы** С учетом выше описанного, нам представляется интересным изложить результаты проведенного исследования по определению зависимости изменения фагоцитарной функции нейтрофильных лейкоцитов крови от давности наступления смерти организма и температуры среды, в которой находится труп.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ** Исследования были выполнены на белых нелинейных лабораторных крысах обоего пола весом 170-220 грамм. Эвтаназия осуществлялась путем погружения животных в глубокий медикаментозный наркоз с последующей декапитацией. Трупы 59 крыс находились при температуре 16-21 °С и по 25 трупов крыс – при температуре 4 °С и 37 °С. Кровь забирали шприцем из полостей сердца. Забор осуществляли сразу и через 3, 6, 18, 24, 48, 72 часа поле гибели животного. Сразу после забора к

100 мкл крови добавляли 50 мкл взвеси стандартных частиц полистирольного монодисперсного латекса диаметром 1,7 мкм (получен из НИИ синтетического каучука, Санкт-Петербург) в концентрации 10<sup>8</sup> частиц/мл, далее пробирки инкубировались в течение 30 минут при 37 °С, после чего готовились мазки. Мазки высушивались, фиксировались в 96 % этаноле и окрашивались по Романовскому-Гимзе. В мазке подсчитывались 100 нейтрофилов и количество поглощенных ими частичек латекса, поле чего определялись следующие показатели: активность фагоцитоза нейтрофилов – процент активных клеток из общего количества подсчитанных нейтрофилов, интенсивность фагоцитоза – среднее количество фагоцитированных частиц латекса одним нейтрофилом.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Исследования показали, что показатели активности и интенсивности фагоцитоза постепенно снижаются по мере увеличения сроков, прошедших после наступления смерти, вне зависимости от стационарных температурных условий нахождения трупов крыс. В таблицах 1.1 и 1.2 представлены средние значения и стандартные отклонения показателей активности и интенсивности фагоцитоза нейтрофильных лейкоцитов в зависимости от давности наступления смерти и температуры нахождения трупного материала.

На втором этапе исследования полученные данные подвергли статистической обработке с использованием пакета статистических программ "Statistica, version 6.0" компании StatSoft, Inc. Для статистического анализа параметров выбрали непараметрические методы исследования. Показатели первичного исследования и исследований через 3, 6, 18, 24, 48 часов после наступления смерти крыс, распределенные по группам в зависимости от температурных условий нахождения трупного материала, сравнивали путём использования критерия Крускала-Уоллиса. Полученные результаты, представленные в таблице 1.3, позволяют сделать вывод, что между исследуемыми группами в первые шесть часов с момента наступления смерти статистически значимых различий не выявлено, а через 18 и 24 часа от момента наступления смерти выявляются статистически значимые различия. К концу вторых суток, во всех группах, поглощение латекса нейтрофильными лейкоцитами не определялись, за исключени-

**Таблица 1.1. Средние значения и стандартные отклонения активности фагоцитоза нейтрофилов крови (Кровь забрана из полостей сердца трупов крыс, находившихся при различных стационарных температурных условиях внешней среды)**

Температура окруж. среды	Сразу после наступления смерти (Н.С.)	Через 3 часа после Н.С.	Через 6 часов после Н.С.	Через 18 часов после Н.С.
4° С	44,28±8,67% (n-25)	33,91±10,15% (n-11)	24,42±6,32% (n-12)	7,40±2,99% (n-10)
16-21° С	40,29±7,97% (n-58)	29,76±4,62% (n-17)	23,07±5,67% (n-14)	6,81±2,23% (n-16)
37° С	40,76±8,10% (n-25)	28,00±4,11% (n-10)	20,20±3,82% (n-10)	4,00±1,33% (n-10)
	Через 24 часа после Н.С.	Через 48 часов после Н.С.	Через 72 часа после Н.С.	
4° С	3,09±0,83% (n-11)	0,33±0,49% (n-12)	0,00±0,00% (n-5)	
16-21° С	2,85±0,97% (n-26)	0,00±0,00% (n-5)	0,00±0,00% (n-2)	
37° С	0,20±0,63% (n-10)	0,00±0,00% (n-5)	-	

**Таблица 1.2. Средние значения и стандартные отклонения интенсивности фагоцитоза нейтрофилов крови (Кровь забрана из полостей сердца трупов крыс, находившихся при различных стационарных температурных условиях внешней среды)**

Температура окруж. среды	Сразу после Н.С.	Через 3 часа после Н.С.	Через 6 часов после Н.С.	Через 18 часов после Н.С.
4° С	1,36±0,50 ед. (n-25)	0,97±0,42 ед. (n-11)	0,51±0,21 ед. (n-12)	0,13±0,07 ед.(n-10)
16-21°С	1,29±0,41 ед. (n-58)	0,72±0,20 ед. (n-17)	0,56±0,17 ед. (n-14)	0,10±0,04 ед.(n-16)
37° С	1,25±0,51 ед. (n-25)	0,70±0,15 ед. (n-10)	0,45±0,10 ед. (n-10)	0,04±0,01 ед.(n-10)
	Через 24 часа после Н.С.	Через 48 часов после Н.С.	Через 72 часа после Н.С.	
4° С	0,04±0,01 ед. (n-11)	0,003±0,005 ед. (n-12)	0,00±0,00 ед. (n-5)	
16-21°С	0,04±0,02 ед.(n-26)	0,00±0,00 ед. (n-5)	0,00±0,00 ед. (n-2)	
37° С	0,00±0,01 ед.(n-10)	0,00±0,00 ед. (n-5)	-	

**Таблица 1.3. Данные статистического анализа. Критерий Крускала-Уоллиса (критическое значение критерия Крускала-Уоллиса – 5,991, для p=0,05, число степеней свободы, v – 2)**

Критерий Крускала-Уоллиса, Н	Сразу после Н.С.	Через 3 часа после Н.С.	Через 6 часов после Н.С.
Для активности фагоцитоза нейтрофильных лейкоцитов	4,513 (n= 108) p>0,05	2,585 (n= 38) p>0,05	2,859 (n= 36) p>0,05
Для интенсивности фагоцитоза нейтрофильных лейкоцитов	0,209 (n= 108) p>0,05	2,397 (n= 38) p>0,05	2,576 (n= 36) p>0,05
	Через 18 часов после Н.С.	Через 24 часа после Н.С.	Через 48 часов после Н.С.
Для активности фагоцитоза нейтрофильных лейкоцитов	10,998 (n= 36) p<0,05	23,565 (n= 47) p<0,05	3,889 (n= 22) p>0,05
Для интенсивности фагоцитоза нейтрофильных лейкоцитов	15,379 (n= 36) p<0,05	22,536 (n= 47) p<0,05	3,889 (n= 22) p>0,05

ем нескольких случаев в группе, где тушки крыс находились при температуре 4° С.

Проведенные исследования позволили получить ряд сведений о происходящих изменениях в иммунной системе после наступления биологической смерти. Они показали, что с увеличением срока после смерти происходит постепенное и планомерное снижение фагоцитарной функции нейтрофильных лейкоцитов крови. Отмечается некоторая зависимость скорости изменения исследуемой функции нейтрофильных лейкоцитов и температуры среды, при которой содержится труп. Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод, что данный метод может быть применен в совокупности с другими для определения давности наступления смерти в первые трое суток. Методика исследования проста, не требует дорогостоящей аппаратуры и может быть использована в лаборатории любого бюро судебно-медицинской экспертизы. Однако, для внедрения в практику необходимо проведение подобных исследований на нейтрофильных лейкоцитах трупной крови человека.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Авакян А.А., Алавердян М.И. Морфологическая картина белой крови и фагоцитарная активность лейкоцитов у трупов. – В кн.: Сборник

трудов кафедры судебной медицины I Ленинградского медицинского института № 2. – Л., 1958. – С. 83-86.

2. Кадиев Б.Б. Установление давности наступления смерти по динамике посмертных изменений в форменных элементах крови // Судебно-медицинская экспертиза. – 1987. – №1. – С. 14-17.

3. Кадиев Б.Б., Кононенко В.И. Применение гистохимических методов при исследовании степени альтерации лейкоцитов трупной крови / / Диагностика давности процессов в объектах судебно-медицинской экспертизы. – Кишинев: Штиница, 1986. – С. 14-15.

4. Казарновская М.Л. Репродукция лимфоцитов трупной крови. Судебно-медицинские и биологические аспекты. – Кишинев: Штиница, 1983. – 104 с.

5. Костылев В.И. Иммунологический метод и давность наступления смерти // Диагностика давности процессов в объектах судебно-медицинской экспертизы. – Кишинев: Штиница, 1986. – С. 20-21.

6. Лушников Е.Ф., Абросимов А.Ю. Гибель клетки (Апоптоз). – М.: Медицина, 2001.

7. Мельников Ю.Л., Жаров В.В. Судебно-медицинское определение времени наступления смерти. – М.: Медицина, 1978.

8. Науменко В.Г., Митяева Н.Л. Гистологический и цитологический методы исследования в судебной медицине. – М.: Медицина, 1980.

9. Пальцын А.А., Захарова О.А., Каем Р.И., Бадикова А.К., Червонская Н.В. Электронно-радиографическое исследование жизнеспособности клеток человека после смерти. Посмертная активация синтеза РНК в нейтрофилах // Бюл. экспериментальной биологии и медицины. – 1991, Т. 111, №2. – С. 199-201.

**Чорнописький О.Я., Волков К.С.**

**МОРФОЛОГІЧНІ І КІЛЬКІСНІ ЗМІНИ ЛЕЙКОЦИТІВ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ОПІКАХ І ВИКОРИСТАННІ ЛІОФІЛІЗОВАНИХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТІВ**

**Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського**

МОРФОЛОГІЧНІ І КІЛЬКІСНІ ЗМІНИ ЛЕЙКОЦИТІВ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ОПІКАХ І ВИКОРИСТАННІ ЛІОФІЛІЗОВАНИХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТІВ – В експерименті, на морських свинках, вивчені зміни лейкоцитів у периферійній крові при глибоких опіках і закриття ран ліофілізованими ксенодермотрансплантатами. Встановлено позитивний вплив ксенопластики, після ранньої некретомії, на морфологічний стан лейкоцитів, їх кількісні співвідношення.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОЖОГАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЛИОФИЛИЗОВАННЫХ КСЕНОДЕРМОТРАНСПЛАНТАТОВ – В эксперименте, на морских свинках, изучены изменения лейкоцитов в периферической крови при глубоких ожогах и закрытия ран ксенокожей. Установлено положительное влияние ксенопластики, после ранней некретомии, на морфологическое состояние лейкоцитов, их количественное соотношение.

MORPHOLOGICAL AND QUANTITATIVE LEUCOCYTE CHANGES IN PERIPHERAL BLOOD DURING EXPERIMENTAL THERMAL INJURIES WITH LYOPHILIZED XENOGRAFTS USAGE – Changes in the leucocytes of peripheral blood at deep burns and lyophilized xenografts usage were investigated in experiment on guinea pigs. Positive influence of xenoplasty and early necrectomy on morphological condition of leucocytes is proved.

**Ключові слова:** ліофілізовані ксенодермотрансплантати, опік, лейкоцити, лейкоцитарна формула.

**Ключевые слова:** лиофилизированные ксенодермотрансплантаты, ожог, лейкоциты, лейкоцитарная формула.

**Key words:** lyophilized xenografts, burn, leucocytes, leucogram.

**ВСТУП** Опікова хвороба і її ускладнення є однією з найбільш актуальних проблем сучасної медицини. Актуальність її визначається частотою (від 5,8 до 10 %) [1], ступенем тяжкості ураження, складністю і довготривалістю лікування, високою летальністю потерпілих при значних опіках.

Результати і тактика лікування обпечених хворих залежать від площі і глибини опікових ран, комплексу патологічних змін в організмі. Вищевказане і зумовлює розвиток, перебіг та наслідки опікової хвороби.

Корекція різноманітних порушень, що виникають в тканинах і органах потерпілих, неможлива без відновлення шкірного покриву у короткі терміни, коли регенераторні властивості організму ще збережені і хворі не винажені тривалим перебігом захворювання. Саме тому тут знайшли своє застосування ліофілізовані кріоксенодермотрансплантати [2].