

УДК 616.36-008.6-002-092

Гараев Г. Ш., Шахмамедова С. О.

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОХИМИЧЕСКОГО СТАТУСА ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ

Научно-исследовательский центр Азербайджанского медицинского университета, г. Баку, Азербайджан

Объектом исследования послужили 50 белых крыс обоего пола. Все процедуры с животными выполняли в соответствии с международными правилами и нормами (86/09 ЕЕС и LINESCO (Париж), принятыми Европейским обществом биоэтики.). Ишемия печени создавалась путем пережатия сосуда в течение 5,10,15 минут. Реперфузия создавалась путем расслабления лигатуры через 5,10,15 минут. У всех подопытных крыс цитохимическим методом в лимфоцитах периферической крови определяли уровень гликогена, активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и кислой фосфатазы (КФ). Активность СДГ выражали средним числом гранул формазана в одном лимфоците (гр/л) при расчете на 50 клеток, а КФ и Гл использовали средний цитохимический показатель (СЦП). Результаты. При сравнительном анализе цитохимических данных крыс основной группы наибольшей информативностью обладала СДГ. Необходимо отметить, что СДГ, являясь кардинальным цитохимическим показателем лимфоцитов периферической крови и критерием основного энергетического обмена митохондрий, отражает состояние организма в целом. В результате проведенных исследований установлено, цитохимические показатели лимфоцитов являются информативными маркерами, отражающими состояние метаболических процессов в организме при ишемически-реперфузионном поражении печени. Изменения митохондриальной (СДГ) и лизосомальной (КФ) ферментативной активности лимфоцитов имели разнонаправленный и фазовый характер в зависимости от сроков ишемии и времени после реперфузии. Относительно высокие значения гликогена, на фоне которого происходили эти изменения, указывают на внутриклеточную активацию процессов гликогеногенеза.

Ключевые слова: ишемия-реперфузия, печень, сукцинатдегидрогеназа, кислая фосфатаза, гликоген.

Данная работа является фрагментом выполняемой диссертации на соискание ученой степени доктора философии по медицине «Метаболические изменения, происходящие в лимфоцитах, нейтрофилах и тромбоцитах при ишемически-реперфузионном поражении печени».

Введение

Восстановление кровотока в ишемизированной ткани рассматривается как сложный комплекс адаптивных и патологических реакций, результатом взаимодействия которых может быть, как восстановление функции органа, так и ее нарушения разной степени тяжести, вплоть до гибели органа в целом (синдром ишемии-реперфузии). Ключевыми патофизиологическими механизмами в реализации синдрома ишемии-реперфузии печени являются нарушения микроциркуляции и транспорта кислорода, воспаление, некроз и апоптоз [1,2], что в конечном итоге завершается нарушением множества функций печени и развитием печеночной недостаточности. Важным фактором, способствующим развитию реперфузионных повреждений, считается усиление процессов радикалообразования, нарушение баланса между генерацией активных форм кислорода и факторами антиоксидантной защиты, т.е. окислительный стресс [3]. Возникающий в процессе ишемии и последующей реперфузии дисбаланс между потребностью ткани в кислороде и его доставкой создаёт условия для усиленного образования свободных радикалов и активации процессов перекисного окисления липидов, ведущих в конечном счёте к снижению внутриклеточного метаболизма, повреждению клеточных и субклеточных мембранных структур [4,5]. Установлено, что клетки периферической крови как элементы внутренней среды организма принимают участие во всех физиологических и патологических процессах [6]. Поэтому немалый

интерес представляет изучение активности митохондриальных и лизосомальных ферментов и уровень гликогена в лимфоцитах периферической крови при ишемически-реперфузионных поражениях печени.

Цель исследования

Изучение метаболических изменений лимфоцитов при ишемически-реперфузионном поражении печени.

Материал и методы исследования

Объектом исследования послужили 50 белых крыс обоего пола. Все процедуры с животными выполняли в соответствии с международными правилами и нормами (86/09 ЕЕС и LINESCO (Париж), принятым Европейским обществом биоэтики). Под ингаляционным эфирным наркозом при условиях общего обезболивания производился срединный разрез брюшной полости. Накладывалась лигатура на первую ветвь артерии, входящей в печень. Ишемия печени создавалась путем пережатия сосуда в течение 5,10,15 минут. Реперфузия создавалась путем расслабления лигатуры через 5,10,15 минут. В соответствии с целью настоящего исследования подопытные животные были подразделены на основную группу с ишемически-реперфузионным синдромом печени (I, II, III) и контрольную, состоящую из интактных животных. В I-ую основную группу включено 15 животных после 5 минутной, во II-ую - 15 животных после 10 минутной, а в III-ю - 15 животных после 15 минутной ишемии-реперфузии. Каждая груп-

па в зависимости от времени взятия образцов крови (через 5,10,15 дней) подразделена на подгруппы А, В, С.

У всех подопытных крыс цитохимическим методом в лимфоцитах периферической крови определяли уровень гликогена, активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и кислой фосфатазы (КФ). Активность СДГ выражали средним числом гранул формазана в одном лимфоците (гр/л) при расчете на 50 клеток, а КФ и Гл использовали средний цитохимический показатель (СЦП).

При статистической обработке наряду со средним цитохимическим показателем ($Q \pm m$) высчитывали коэффициент вариации (V), асимметрии (A) и эксцесса (E) для определения степени распределения СДГ, КФ и Гл.

Результаты исследования и их обсуждение

Изменения цитохимических показателей

лимфоцитов при ишемически-реперфузионном поражении печени отражены в таблице.

Как видно из таблицы, при сравнении с данными контрольной группы изменения, происходящие в цитохимическом статусе лимфоцитов основных групп (I, II, III) носят разнонаправленный характер. В лимфоцитах 1-ой группы подопытных животных выявлено достоверное увеличение активности СДГ ($p < 0,01$), умеренное повышение содержания Гл ($p > 0,05$) и статистически значимое снижение КФ ($p < 0,01$). Эти изменения в зависимости от длительности ишемии носили фазовый характер. Так, в 1-ой группе после кратковременной ишемии (5 мин), активность СДГ повысилась дважды по сравнению с контролем, а во II-ой и III-й группе - после 10-15' ишемии отмечалась выраженная депрессия вышеуказанного показателя ($p < 0,01$).

Таблица

Цитохимические показатели лимфоцитов белых крыс при ишемически-перфузионном поражении печени ($M \pm m$)

Группы		СДГ, гр/л				КФ, СЦП				Гл, СЦП			
		$Q \pm m$	V	A	E	$Q \pm m$	V	A	E	$Q \pm m$	V	A	E
I, n=15	A, n=5	12,54±1,4*	40,4	0,94	0,74	0,86±0,06	41,4	0,86	0,69	0,38±0,02	42,0	0,82	0,71
	B, n=5	9,2±0,8*	42,0	0,98	0,72	0,62±0,08*	45,0	1,04	0,75	0,44±0,03	44,0	0,98	0,72
	C, n=5	7,8±0,6	44,6	1,05	0,69	0,56±0,06*	48,4	1,10	0,66	0,40±0,02	46,9	1,08	0,69
II, n=15	A, n=5	3,2±0,10*	42,8	1,02	0,68	0,60±0,05*	48,6	1,06	0,65	0,45±0,03	43,6	0,84	0,74
	B, n=5	3,4±0,12*	45,4	1,10	-0,30	0,52±0,04*	49,4	1,19	-0,16	0,48±0,04	45,8	0,99	-0,10
	C, n=5	4,0±0,13*	46,5	1,19	-0,35	0,50±0,04*	52,0	1,21	-0,38	0,51±0,04*	48,6	1,06	-0,18
III, n=15	A, n=5	2,4±0,01**	43,6	1,12	-0,21	0,49±0,03	51,2	1,20	0,77	0,46±0,03	50,4	1,12	0,88
	B, n=5	2,5±0,12**	48,0	1,2	-0,38	0,36±0,02**	54,4	1,28	-0,31	0,52±0,04*	52,5	1,18	-0,20
	C, n=5	2,6±0,12*	50,4	1,28	-0,49	0,27±0,02	58,0	1,39	-0,36	0,61±0,05*	54,2	1,22	-0,26
Контроль		6,2±0,6	31,0	0,58	0,50	1,02±0,05	35,0	0,61	0,59	0,32±0,02	36,0	0,59	0,54

Примечание: статистическая значимость по сравнению с контрольной группой *- $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

Изменение активности КФ имело однонаправленный характер, степень снижения энзиматической активности определялась временем ишемии. Эти изменения в IA подгруппе в динамике еще более усугублялись. Во всех подгруппах (A, B, C) II-ой и III-ей группы отмечалось статистически значимое снижение активности КФ. Выраженная депрессия ферментативной активности установлена в C подгруппе III группы, где значения КФ в 3-4 раза уступали данным контрольной группы.

Изменения в отношении содержания гликогена в лимфоцитах при ишемически-реперфузионном поражении печени имели одинаковый характер во всех 3-х группах. Статистически значимое повышение содержания этого вещества установлено в C подгруппе II-ой группы ($p < 0,01$), а также B и C подгруппах III-ей группы.

Для более совершенного анализа метаболических процессов, происходящих в лимфоцитах при ишемии – реперфузии в экспериментально-цитохимическом материале изучена структура популяционных показателей. (V, A, E). Установлено, что в отличие от среднетипичной активности лимфоцитов, структурные показатели популяции более точно отражают внутриклеточный

метаболизм.

Так, при отсутствии выраженных изменений среднетипичной активности СДГ ($7,8 \pm 0,6$) в C подгруппе при кратковременной ишемии в структурных показателях популяции (вариация (V), асимметрия (A) и эксцесс (E)) выявлены достоверные изменения ($p < 0,01$). Эти изменения указывают на высокую вариабельность ферментативной активности, на преобладание в популяции клеток с низкой, единичных клеток с высокой и дефицит клеток с типичной активностью фермента. С учетом того, что СДГ является маркером митохондрий, полученные результаты могут свидетельствовать об уменьшении количества или же повреждении данных оргanelл клетки, а это ведет к снижению процессов энергетического метаболизма и компрометации резистентности организма.

При индивидуальном анализе выявлено, что через 5 дней после при ишемии-реперфузии у 1-го, через 10 дней – у 2-х, через 15 дней - у 3-х крыс происходят восстановительные процессы в популяционном ядре. При этом необходимо отметить, что последнее сопровождается сменой отрицательных значений коэффициента эксцесса СДГ на положительные и снижением коэффициента асимметрии.

При сравнительном анализе цитохимических данных крыс основной группы наибольшей информативностью обладала СДГ. Необходимо отметить, что СДГ, являясь кардинальным цитохимическим показателем лимфоцитов периферической крови и критерием основного энергетического обмена митохондрий, отражает состояние организма в целом.

Выводы

Таким образом, цитохимические показатели лимфоцитов являются информативными маркерами, отражающими состояние метаболических процессов в организме при ишемически-реперфузионном поражении печени. Изменения митохондриальной (СДГ) и лизосомальной (КФ) ферментативной активности лимфоцитов имели разнонаправленный и фазовый характер в зависимости от сроков ишемии и времени после реперфузии. Относительно высокие значения гликогена, на фоне которого происходили эти изменения, указывают на внутриклеточную активацию процессов гликогеногенеза.

Реферат

ОСОБЛИВОСТІ ЦИТОХІМІЧНОГО СТАТУСУ ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ ПРИ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРFUЗІЙНОМУ УРАЖЕННІ ПЕЧІНКИ

Гараєв Г. Ш., Шахмamedова С. О.

Ключові слова: ішемія-реперфузія, печінка, сукцинатдегідрогеназа, кисла фосфатаза, глікоген.

Об'єктом дослідження послужили 50 білих щурів обох статей. Всі процедури з тваринами виконували відповідно до міжнародних правил і норм (86/09 ЕЕС і LINESCO (Париж), прийнятим Європейським товариством біоетики). Ішемія печінки створювалася шляхом стискання судини протягом 5, 10, 15 хвилин. Реперфузія створювалася шляхом розслаблення лігатури через 5, 10, 15 хвилин. У всіх піддослідних щурів цитохімічним методом в лімфоцитах периферійної крові визначали рівень глікогену, активність сукцинатдегідрогенази і кислої фосфатази (КФ). Активність сукцинатдегідрогенази визначали середнім числом гранул формазану в одному лімфоциті (гр/л) при розрахунку на 50 клітин, а КФ і Гл - використовували середній цитохімічний показник (СЦП). Результати. При порівняльному аналізі цитохімічних даних щурів основної групи найбільшою інформативністю володіла сукцинатдегідрогеназа. Необхідно відзначити, що сукцинатдегідрогеназа, будучи кардинальним цитохімічним показником лімфоцитів периферійної крові і критерієм основного енергетичного обміну митохондрий, відображає стан організму в цілому. В результаті проведених досліджень встановлено, що цитохімічні показники лімфоцитів є інформативними маркерами, що відображають стан метаболических процесів в організмі при ішемічно-реперфузійному ураженні печінки. Зміни митохондриальної (сукцинатдегідрогеназа) і лизосомальної (КФ) ферментативної активності лімфоцитів мали різноспрямований і фазовий характер в залежності від термінів ішемії і часу після реперфузії. Відносно високі значення глікогену, на тлі якого відбувалися ці зміни, вказують на внутрішньоклітинну активацію процесів глікогеногенезу.

Summary

PECULIARITIES OF CYTOCHEMICAL STATUS OF BLOOD LYMPHOCYTES IN ISCHEMIA-REPERFUSION LIVER INJURY

Garayev G. Sh., Shahmamedova S. O.

Key words: ischemia-reperfusion injury, liver, succinate dehydrogenase, acidic phosphatase, glycogen.

The aim of this study was to investigate the metabolic alterations in lymphocytes in ischemia-reperfusion liver injury. The study was carried out on 50 white rats of both sexes. All procedures with animals were performed in accordance with international rules and regulations (86/09 EEC and LINESCO (Paris), adopted by the European Society of Bioethics). Under inhalation ether anaesthesia, a median abdominal incision was performed and live ischemia was induced by occluding the portal inflow vessels (portal vein and artery) with an atraumatic vascular loop for 5, 10, 15 min. Reperfusion was modelled by loosening the loop in 5, 10, 15 min. Peripheral blood of the test animals was taken to investigate glycogen (Gl), succinate dehydrogenase (SDH) and acidic phosphatase (AP) activity by cytochemical methods. The SDH activity was assessed by the counting the average number of formazan granules in a lymphocyte (gr/l) per 50 cells, and the activity of acidic phosphatase (AP) and SDH were calculated by using the mean cytochemical index. When compared with the data of the control group, the changes occurring in the cytochemical status of lymphocytes of the main groups (I, II, III) are multidirectional. In lymphocytes of the 1st group of test animals

Перспективы дальнейших исследований

В дальнейшем планируется изучение метаболических процессов в организме при ишемически-реперфузионном поражении печени.

References

1. Jaeschke H, Woolbright BL. Current strategies to minimize hepatic ischemia-reperfusion injury by targeting reactive oxygen species. *Transplant Rev.* 2012; 26(2): 103-14.
2. Khodosovskyy MN. Korrektsiya oksylytelnykh povrezhdeniy pry syndrome yshemy-reperfuzyy pecheny [Correction of oxidative damage in ischemia-reperfusion liver syndrome]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsynskogo unyversyteta.* 2016; 4: 20-5. [Russian]
3. Zweier JL, Talukder MA. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovascular Research.* 2006; 70(2): 181-90.
4. Weigand K. Ischemia/Reperfusion injury in liver surgery and transplantation: pathophysiology. *HPB Surg.* 2012; 2012 ID 176723: 1-8.
5. Suyavaran A. Preconditioning methods in the management of hepatic ischemia reperfusion-induced injury: Update on molecular and future perspectives. *Hepatol Res.* 2017; 47(1): 31-48.
6. Semenova GF, Komarova EV, Potapov AS, y dr. Ynfornatyvnost osnovnogo energoobmena mytokhondriy lyfotsytov peryferycheskoy krovy u detey s khronycheskymy zaporamy [Informativeness of the main energy exchange of mitochondria of peripheral blood lymphocytes in children with chronic constipation]. *Voprosy sovremennoy pedyatry.* 2007; 6(3): 48-52. [Russian]

there was a significant increase in the SDH activity ($p < 0,01$), a moderate increase in GI ($p < 0,05$) and a statistically significant decrease in AP ($p < 0,01$). These changes depending on the duration of ischemia had a phase character. In the 1st group after short-term ischemia (5 min), the LDH activity doubled compared to the control, while the II and III groups after 10 min and 15 min ischemia demonstrated pronounced lowering of the above-mentioned values ($p < 0,01$). The changes in the AP activity were unidirectional; the decrease in enzymatic activity was determined by the time of ischemia. These changes in the IA subgroup were being aggravated in dynamics. All subgroups (A, B, C), II and III groups showed a statistically significant decrease in the AP activity. Marked depression of enzymatic activity was established in III group, where AP values were 3-4 times lower than those of the control group. In the comparative analysis of cytochemical data of rats of the main group the most informative values were demonstrated by SDH. It should be noted that SDH, being a cardinal cytochemical index of peripheral blood lymphocytes and the criterion of the main energy metabolism of mitochondria, reflects the state of the body as a whole. Thus, the cytochemical parameters of lymphocytes are informative markers reflecting the state of metabolic processes in the body under ischemic reperfusion liver damage. Changes in mitochondrial and lysosomal enzymatic activity of lymphocytes were interrelated and the nature of the phase depended on the duration of ischemia and the duration of reperfusion. Relatively high values of glycogen under which these changes occurred indicate intracellular activation of glyconeogenesis.

УДК 617.55-089.844-025.12:611.95

Драбовський В.С.

ПЛАНУВАННЯ АБДОМІНОПЛАСТИКИ З ТОЧКИ ЗОРУ БІОМЕХАНІЧНИХ ТА МОРФОЛОГІЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК ТКАНИН ПЕРЕДНЬОЇ ЧЕРЕВНОЇ СТІНКИ.

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

Абдомінопластика – один із найпопулярніших методів корекції косметичних дефектів передньої черевної стінки. На результати абдомінопластики мають впливати безліч факторів серед яких і біомеханічні параметри напруження тканин. Метою нашого дослідження було дослідити гістоархітектоніку поверхневих тканин передньої черевної стінки на різних етапах деформації. Для досягнення мети були проаналізовані результати дослідження 62 гістотопографічних препаратів тканин різних шарів передньої черевної стінки гіпогастральної ділянки в межах пластичної деформації та поза її нормальними характеристиками після абдомінопластики. Мікроструктурні зміни поверхневих тканин передньої черевної стінки на різних етапах деформації відображають початковий процес атрофічно-склеротичних змін шкіри, гіподерми зі схильністю до прогресії розвитку змін в залежності від збільшення параметрів напруження тканин. Характер встановлених порушень в межах пластичної деформації свідчить про збереження здатності тканин до репарації та потреби врахування даного морфо-біомеханічного фактору при виборі способів підйому та мобілізації шкірно-жирових клаптів при виконанні абдомінопластики.

Ключові слова: абдомінопластика, біомеханіка шкіри, передня черевна стінка

Вступ

Абдомінопластика (АП) – один із найпопулярніших методів корекції косметичних дефектів передньої черевної стінки (ПЧС) [1,2]. На результати АП впливають безліч чинників: морфологічні, біомеханічні, клінічні та ін., на різних етапах виконання операції, будь-то моменти планування, хірургічні маніпуляції безпосередньо під час втручання або негативні фактори перебігу післяопераційного періоду [1,2,3].

Відомо, що при лінійному розтягненні волокнисті сполучнотканинні структури проходять декілька етапів деформації: початкова деформація, пластична деформація (ПД), позапластична деформація (термінальна деформація, середня критична точка, розрив) [2].

До поверхневих шарів ПЧС відносять шкіру, гіподерму, підшкірно-жирову клітковину (ПЖК), поверхневу фасцію (f. Scarpa) [2]. В пластичній хірургії прийнято виділяти термін поверхнева фасціальна система, до якої входить не тільки

пластинка фасції, а й надскарповський шар (щільна дрібнокомірчаста жирова тканина, з великою кількістю колагенових трабекул, що переходять в retinacula cutis) та підскарповський – пухкий шар жирової тканини менш адаптований до можливостей фіксації [2,4,6].

Власне шкіра, гіподерма, пластинки поверхневої фасції разом із нижчерозташованими структурами ПЧС утворюють єдиний сполучнотканинний каркас. Кожна з цих структур різних топографоанатомічних відділів ПЧС під час впливу деформаційних змін відрізняється певною гістоархітектонікою, якісним та кількісним складом, характером розташування колагенових та еластинових волокон, співвідношенням основної речовини, кількістю фібробластів, тощо [4,7].

В доступній літературі наведено багато досліджень щодо морфологічної картини тканин, які залучені до операційного поля, але недостатньо висвітлені їх біомеханічні аспекти, не повні-